مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس *Sequoia sempervirens* حاصل از کشت بافت با پایه اصلی

فاطمه سفیدکن[1]، سعیده مشکی‌زاده[2] و شکوفه شهرزاد[3]

چکیده

سکویا درختی بسیار بزرگ و همیشه سبز است که ارتفاعی بین ٤٥ تا ٩٠ متر دارد. این درخت بومی سواحل اقیانوس آرام است که در ایران نیز کاشته شده است.

سرشاخه‌های انتهایی مورد آزمایش از یکی از پایه‌های سکویا در نهالستان رضوانشهر در شهریورماه، جمع‌آوری شده است. ارتفاع این نمونه حدود ٤٠ متر و سن آن حدود ٣٠ سال بوده است.

به منظور تهیه و تکثیر سرشاخه‌های حاصل از کشت بافت، بخش انتهایی سرشاخه‌ها در اندازه‌های یک تا دو سانتیمتر، مورد کشت قرار گرفت.

از برگهای جمع‌آوری شده از پایه اصلی و همچنین برگهای نمونه حاصل از کشت بافت، به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری به‌عمل آمده است. بعد ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس‌ها با استفاده از کروماتوگرافی گازی تجزیه‌ای (Analytical GC) و گاز کروماتوگرافی کوپل شده با طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد شناسایی قرار گرفت.

تعداد ٧٢ ترکیب در اسانس برگ سکویا، نمونه رویشگاه و تعداد ٣٧ ترکیب در اسانس نمونه حاصل از کشت بافت، شناسایی شد. ترکیبهای عمده اسانس برگ نمونه رویشگاه، بتا- فلاندرن و لیمونن (١٣/٣٠٪)، آلفا- پینن (٦/٨٣٪)، ترپینن- ٤- ال (٦/٤٧٪)، گاما- ترپینن (٥/٤٤٪) و جرماکرن بی (٤/١٤٪) بود در حالی که در اسانس

١- عضو هیأت علمی بخش گیاهان دارویی

٢- کارشناس بخش گیاهان دارویی

٣- کارشناس بخش ژنتیک و فیزیولوژی

برگ نمونه حاصل از کشت بافت ترکیبهای آلفا- پینن (۲٦/۳۰٪)، آلفا- ترپینیل استات (۱٤/٤۰٪)، سابینن (۱۳/٦۰٪)، گاما- ترپینن (۷/۱۰٪)، جرماکرن‌دی (٦/۹۰٪)، بتا- فلاندرن و لیمونن (٦/٦۰٪) و پارا سیمن (۵/۰۰٪) اجزای اصلی اسانس بود. با وجود اینکه این ترکیبها در هر دو اسانس وجود دارد، ولی درصد بالاتر برخی ترکیبهای مفید در اسانس نمونه کشت بافت، خواص مفیدتری به این اسانس می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی

سکویا (*Sequoia sempervirens*)، اسانس، آلفا- پینن، لیمونن، آلفا- ترپینیل استات، سابینن

مقدمه

جنس *Sequoia* از خانواده *Taxodiaceae* (سوزنی برگان) است که به درخت سرخ چوب کالیفرنیا Californian redwood نیز شهرت دارد. درختی است یک پایه و دو جنسی که نباید آن را با سرخ چوب اروپا *Pinus sylvestris* اشتباه گرفت. درختی است همیشه سبز که از سواحل مرطوب جنوب غربی اورگان تا جنوب کالیفرنیا و از سواحل دریا تا ارتفاع ۱۰۰۰ متر انتشار دارد و در این منطقه به سایر سوزنی برگان غلبه دارد (جوانشیر،۱۳٦٦).

این جنس دارای دو گونه *Sequoia sempervirens* و *Sequoia gigantea* می‌باشد که گونه مورد آزمایش ما *Sequoia sempervirens* است.

نامهای مترادف آن *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) Buchholz. و *Sequoia wellingtonia* Seem. است و نامهای انگلیسی آن red wood، Bastard cadar، Costal redwood و California redwood است (مظفریان، ۱۳۷۵).

سکویا درخت بسیار بزرگی است که ارتفاع آن از صد متر تجاوز می‌کند. ارتفاع این درخت اغلب بین ٤٥ تا ۹۰ متر و قطر آن بین ۲/۵ تا ۸/٤۰ متر تغییر می‌کند. درختان جوان، مخروطی و درختان مسن دارای تاج باریک است. پوست قرمز قهوه‌ای فیبردار، اسفنج مانند به ضخامت ۱۵ الی ۳۰ سانتیمتر است که عمیقاً شیاردار می‌باشد. پوست داخلی نازک است. شاخه‌ها برافراشته و شاخه‌های کوچک خزان‌کننده است. شاخه‌های جوان بدون کرک، ابتدا سبز و بعد قهوه‌ای می‌شود. در شکل شماره ۱ تصویری از درخت سکویا دیده می‌شود.

برگهای درخت سکویا دو نوع است:

۱- روی شاخه‌های کوچک فرعی به صورت شانه‌ای قرار دارد و این امر به علت پیچیدگی که در قاعده برگها وجود دارد حاصل می‌شود. این برگها به طول ٦ تا ۲۵ میلیمتر و به عرض ۲/٤ میلیمتر و در انتها دارای نوک تیز و کوتاه می‌باشد و سطح روی برگ سبز تیره و به طور خفیف شیاردار است. سطح زیر دارای دو نوار سفید کاملاً مشخص در دو طرف رگبرگ وسط است.

۲- در شاخه‌های مسن و بلند در چند ردیف به حالت فشرده و یا پراکنده است. طول این برگها در حدود ٦ میلیمتر و دارای نوک تیز خمیده و خار مانند است. سطح روی این برگها سبز با خطوط نامنظم است، ولی سطح زیر همانند برگهای شماره یک است.

در شکل شماره ۲ تصویری از برگهای سکویا دیده می‌شود.

چوب این گونه دارای کانالهای مشخص رزین است. مصارف عمده آن در ساختمان، کارهای مختلف نجاری، جعبه‌سازی، مبل‌سازی، تخته‌سازی، تهیه تراورس، تیرهای سیم، چوبهای مخصوص کف جاده‌ها، لوله‌های آب و غیره است. دوام چوب این گونه خیلی زیاد است. این گونه به علت رشد سریع و چوب مرغوب بسیار مورد توجه است و کاربرد چوب آن نیز روزبه‌روز بیشتر می‌شود. عطری که از برگهای این

درخت حاصل می‌شود مورد توجه مردم و به خصوص توریست‌ها می‌باشد (جوانشیر، ۱۳٦٦). این عطر ناشی از وجود ترکیبهای فرار (روغن اسانسی) در برگ این درخت می‌باشد.

این درخت طالب آب و هوایی ملایم است. نهالهای حاصل از بذر سکویا از سایه گریزان است، بنابراین باید بذرکاری در نوحی کاملاً روشن و آفتابگیر صورت گیرد. شاید یکی از دلایل وجود اسانس بالا در برگهای این گیاه ناشی از نور آفتاب باشد. تحقیقات (Guenther، ۱۹٤۸) نشان داده که در شرایط یکسان، نور آفتاب میزان تولید اسانس را در گیاه بالا می‌برد.

عمر این درختان گاهی از ۱۰۰۰ سال نیز متجاوز است. اغلب این درختان در مناطق رشد خود ٤۰۰ الی ۸۰۰ سال عمر می‌کند. حداکثر سنی که تا به حال برای این درخت گزارش شده ۲۰۰۰ سال است. این درخت در غالب کشورهای اروپا، آسیا، استرالیا و افریقا کاشته شده و نتیجه رضایت‌بخشی داده است. پایه‌هایی از آن در شمال کشور در باغ اکولوژی نوشهر، شلمان و رضوانشهر و همچنین تعدادی در نهالستان پشت شهر نوشهر وجود دارد که سالانه مقدار زیادی بذر تولید می‌کند (جوانشیر، ۱۳٦٦).

سرشاخه‌های نمونه مورد آزمایش در این تحقیق، از پایه‌ای در نهالستان رضوانشهر،به ارتفاع حدود ٤۰ متر و سن ۳۰ سال در شهریورماه سال ۱۳۸۰ برداشت شده است.

از آنجا که یکی از راههای افزایش مواد مؤثره در گیاهان اسانس‌دار، تکثیر این گیاهان از طریق کشت بافت است، این تحقیق با هدف بررسی تغییرات اسانس در سرشاخه‌های حاصل از کشت بافت و سرشاخه‌های طبیعی صورت گرفته است.

در مطالعه‌ای که درمورد وجود منوترپنهای فرار در گونه‌های جنگلی امریکا از جمله سکویا انجام شده است مشخص گردیده که از میان ۱٤ ترکیب منوترپنی که در اسانس این نوع درختان مشترک و معمول است یعنی آلفا و بتا پینن، دلتا ۳- کارن، لیمونن،

کامفن، میرسن، آلفا ترپینن، بتا فلاندرن،سابینن، سیمن، اوسیمن، آلفا توژن، ترپینولن و گاما ترپینن، ٦ ترکیب اول فراوانی بیشتری دارد (Geron، ۲۰۰۰).

بررسی تأثیر کشت بافت در افزایش میزان یا تغییر کیفیت اسانس گیاهان معطر موضوع تحقیقات فراوانی بوده است. بررسی تولید اسانس و ترکیبهای پلی‌فنلی در بابونه رومی (*Anthemis nobilis*) حاصل از کشت بافت نشان داده که اسانس سرشاخه این گیاه مقدار کمی ژرانیل ایزووالرات و اسانس ریشه این گیاه دارای مقدار بسیار زیادی ژرانیل ایزووالرات بوده، در حالی که در اسانس بابونه رومی کاشته شده در مزرعه این ترکیب مشاهده نشده است (Omoto، ۲۰۰۰).

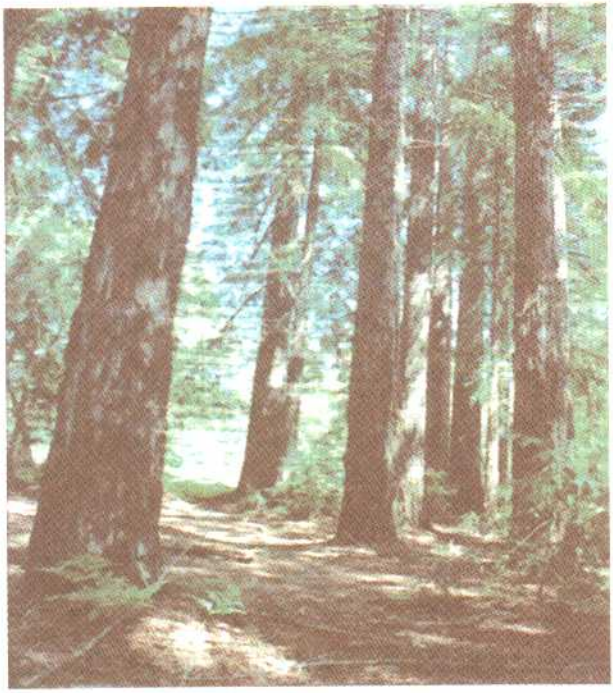
در تحقیق دیگری، تأثیر غلظت BA و NAA بر روی رشد سرشاخه و تشکیل ریشه *Lavandula officinalis* به وسیله کشت کالوس بررسی شده است همچنین نشان داده شده است که میزان و ترکیب اسانس گیاه حاصل از کشت بافت با نمونه کشت شده در مزرعه متفاوت است (Badawy و همکاران، ۱۹۹۱).

در طی نمو جنین در کشتهای هویج (Charlwood، ۱۹۹۲)، افزایش قابل توجهی در میزان اسانس صورت گرفته است. کشت اولیه هیچ گونه اسانسی تولید نکرده است. در حالی که جنین‌های کروی شکل مقداری بتا پینن و جنینهای قلبی شکل علاوه بر بتا پینن، آلفا پینن، بتا کورکومن و بتا کاریوفیلن و در مرحله اژدری شکل آلفا پینن، میرسن، بتا بیسابولن تولید می‌کند و در گیاهچه‌های حاصل تولید اسانس با گیاهان کاملاً مشابه است.

بررسیهایی که در مورد تولید اسانس در کشت بافت زیره انجام شده است نشان داده که اگر چه اسانس در گیاه کامل زیره در بخش کاملاً تمایز یافته‌ای مثل بذر وجود دارد، اما در کشت بافت و کالوسهای موجود در محیط کشت مصنوعی هم تولید می‌شود. در این بررسی که از محیط کشت پایه MS و هورمونهای NAA و Kin استفاده شده به نظر می رسد که برای تشکیل اسانس تمایز مورفولوژیکی لازم

نمی‌باشد. بلکه تمایز مورفولوژیکی برای نگهداری و ذخیره‌سازی اسانس تولید شده لازم است. بنابراین میزان اسانس موجود در کالوسها بسیار کم است (شریفی، ۱۳۷٤).

بررسی و مقایسه میزان اسانس و ترکیبهای تشکیل دهنده آن درگیاه اکالیپتوس کامالدولنسیس در شرایط مزرعه‌ای و کشت بافت نشان داده که مقدار اسانس تولید شده در کالوس بسیار کم است. اما اسانس کالوس غنی از اسپاتولنول و پارا سیمن، است در حالی که مقدار اسانس تولید شده در گیاهان سازگار شده با خاک، قابل مقایسه با اکالیپتوس‌های رویده در شرایط مزرعه‌ای بود و ۵٦/۸٪ نیز ۱ و ۸ سینئول داشت (آقایی، ۱۳۸۱).



شکل شماره ۲- تصویر برگ درخت سکویا

مواد و روشها

تهیه نمونه گیاهی و استخراج اسانس

سرشاخه‌های نمونه مورد آزمایش در این تحقیق، از پایه‌ای در نهالستان رضوانشهر، به ارتفاع حدود ٤٠ متر و سن ۳۰ سال در شهریور ماه سال ۱۳۸۰ برداشت شده است.

به منظور تهیه و تکثیر سرشاخه‌های حاصل از کشت بافت، بخش انتهایی سرشاخه‌ها در اندازه‌های یک تا دو سانتیمتر، مورد کشت قرار گرفت.

برای تهیه اسانس مقدار ٦٠گرم از برگهای تازه سکویا به روش تقطیر با آب توسط دستگاهی از نوع کلونجر مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. پس از ٤ ساعت اسانس‌گیری، اسانس بدست آمده از روی آب تقطیر جمع‌آوری و با سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد و پس از تعیین وزن دقیق اسانس، بازده اسانس بر حسب وزن گیاه خشک محاسبه گردید. اسانس تا زمان تجزیه و تحلیل در شیشه در بسته در دمای پایین نگهداری شد.

برای تعیین درصد رطوبت نمونه، در هر نوبت اسانس‌گیری، مقدار ۵ گرم از گیاه در دمای ۵۵ درجه خشک گردید. مقدار رطوبت نمونه‌ها در زمان اسانس‌گیری بین ۳۰ تا ٤۰ درصد بوده است.

تجزیه دستگاهی

دستگاه GC

گاز کروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) سری 9A

ستون DB-1 به طول ٦۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون معمولاً از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد بوده که پس از ۵ الی ۱۰ دقیقه توقف در دمای اولیه، به‌تدریج دما با سرعت ٤ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۵۰ درجه سانتیگراد رسیده است. دمای محفظه تزریق و دتکتور حدود ۱۰ درجه از آخرین دمای ستون بالاتر نگه داشته شده است. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل استفاده شده است که با سرعت ۳۲ سانتیمتر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است.

دستگاه GC/MS

گاز کروماتوگراف واریان ۳٤۰۰ کوپل شده با طیف‌سنج جرمی از نوع تله یونی.

ستون DB-1 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است.

ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است.

برنامه‌ریزی حرارتی ستون معمولاً شبیه به برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بوده است. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شده است. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتیمتر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ٤٠ تا ٣٤٠ بوده است.

شناسایی ترکیبهای تشکیل د هنده اسانس

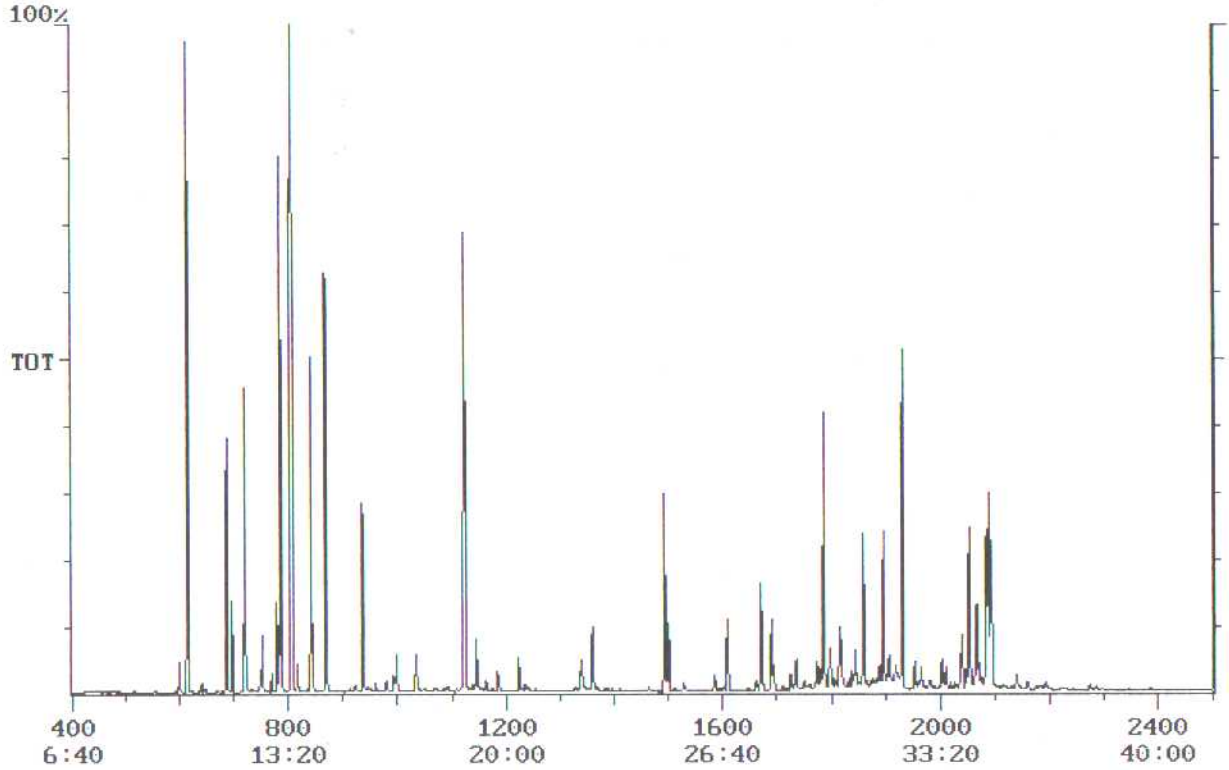
پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانسهای بدست آمده با دی‌کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق شده و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوط بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، اندیس بازداری کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیبهای استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس‌ها، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت.

نتایج

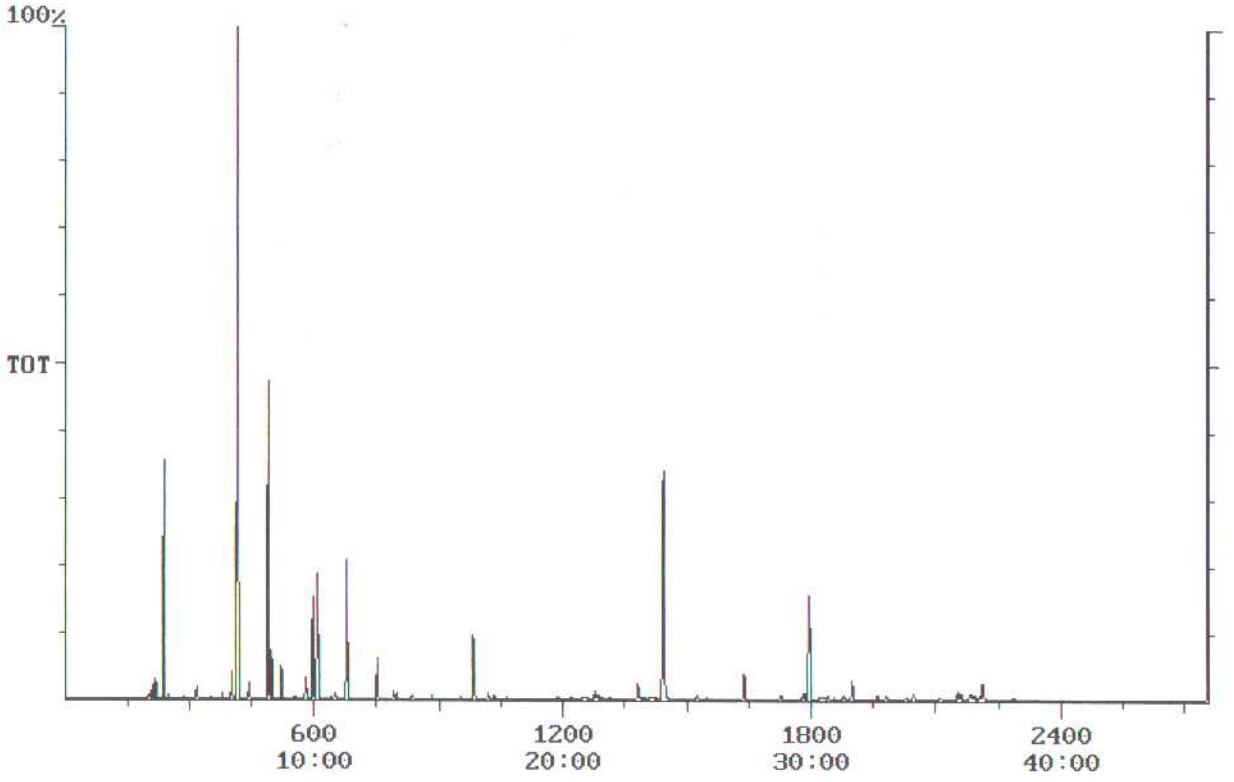
بازده اسانس حاصل از نمونه طبیعی ۱/۲٪ و نمونه کشت بافت ۲/۸٦٪ نسبت به وزن گیاه خشک بدست آمد. شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده این اسانسها با استفاده از مطالعه طیف‌های جرمی و محاسبه اندیس‌های بازداری از طریق تزریق هیدروکربنهای نرمال، وجود ۷۲ ترکیب مختلف را در اسانس نمونه برداشت شده از رویشگاه و تعداد ۳۷ ترکیب را در اسانس نمونه حاصل از کشت بافت نشان داد. طیف کروماتوگرام اسانس حاصل از نمونه طبیعی در شکل شماره ۳ و نمونه حاصل از کشت بافت در شکل شماره ٤ و همچنین کلیه ترکیبهای شناسایی شده در این دو اسانس به همراه زمان

بازداری و اندیس کواتس هر ترکیب بر روی ستون DB-1 و نیز درصد هر ترکیب، در جدول شماره ۱ دیده می‌شوند.

ترکیبهای عمده اسانس برگ نمونه رویشگاه بتا- فلاندرن و لیمونن (۱۳/۳۰٪)، آلفا- پینن (٦/۸۳٪)، ترپینن- ٤- ال (٦/٤٧٪)، گاما- ترپینن (٥/٤٤٪) و جرماکرن بی (٤/١٤٪) بود در حالی که در اسانس برگ نمونه حاصل از کشت بافت ترکیبهای آلفا- پینن (٢٦/٣٪)، آلفا- ترپینیل استات (١٤/٤٠٪)، سابینن (١٣/٦٪)، گاما- ترپینن (٧/١٠٪)، جرماکرن‌دی (٦/٩٠٪)، بتا- فلاندرن و لیمونن (٦/٦٠٪) و پارا- سیمن (٥/٠٪) اجزای اصلی اسانس بود.



شکل شماره ۳- کروماتوگرام اسانس سکویا (نمونه‌طبیعی)



شکل شماره ٤- کروماتوگرام اسانس سکویا (نمونه حاصل از کشت بافت)

جدول شماره ۱- مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس *Sequoia* از نمونه طبیعی و نمونه کشت بافت

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری	نمونه رویشگاه (٪)	نمونه کشت بافت (٪)
۱	Tricyclene	۹۳۳	جزیی	۰/۲
۲	α- thujene	۹۳۵	۰/۳۰	۱/۰
۳	α- Pinene	۹۴۲	٦/۸۳	۲٦/۳
٤	Camphene	۹۵۲	۰/۰۸	۰/٦
٥	Dimethyl- bicyclo (3-1) Hepta-2(8), 3- diene (6,6)	۹٥٥	جزیی	-
٦	Sabinene	۹٦۳	۲/۷۰	۱۳/٦
۷	β- Pinene	۹۷٥	۰/۹۲	۱/۲
۸	Myrcene	۹۸٤	۳/۷۹	۱/٤
۹	Octanal	۹۹۱	جزیی	-
۱۰	α- phellandrene	۹۹۸	۰/٦۷	جزیی
۱۱	δ- 3- carene	۱۰۰٥	۰/۲۲	جزیی
۱۲	α- terpinene	۱۰۱۰	۱/۰۲	۱/۰
۱۳	ρ- cymene	۱۰۱۳	۷/۰۱	٥/۰
۱٤	β- Phellandrene+ Limonene	۱۰۲۱	۱۳/۳۰	٦/٦
۱٥	(Z)- β – ocimene	۱۰۲٤	۰/۳۱	-
۱٦	(E)- β- ocimene	۱۰۳٦	۳/۷٤	۰/۳
۱۷	γ- terpinene	۱۰٤۷	٥/٤٤	۷/۱
۱۸	(Z)- linalool oxide	۱۰٦٥	جزیی	-
۱۹	2.5- dimethyl styrene	۱۰۷۰	جزیی	
۲۰	Terpinolene	۱۰۷٥	۲/٤۲	۲/۰

ادامه جدول شماره ۱- مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس *Sequoia* از نمونه طبیعی و نمونه کشت بافت

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری	نمونه رویشگاه (٪)	نمونه کشت بافت (٪)
۲۱	Linalool	۱۰۸۱	جزیی	۰/۵
۲۲	Isopentyl isovalerate	۱۰۸٦	۰/۱۰	–
۲۳	Fenchol (exo)	۱۰۹٤	۰/۱۲	–
۲٤	α- campholenal	۱۱۰۰	۰/۲٦	–
۲۵	(Z)- Limonene oxide	۱۱۰۲	۰/٦۱	–
۲٦	Cis- ρ- menth- 2,8- iene-1- 01	۱۱۱۸	۰/٦۸	۰/۲
۲۷	(Z)- verbenol	۱۱۲۵	جزیی	جزیی
۲۸	Borneol	۱۱٤۳	جزیی	–
۲۹	Terpinen- 4- ol	۱۱۵۵	٦/٤۷	۳/۷
۳۰	Myrtenal	۱۱٦٤	جزیی	جزیی
۳۱	α- terpineol	۱۱٦٦	۰/۷۱	۰/۳
۳۲	(Z)- piperitol	۱۱۷٦	۰/۱٦	جزیی
۳۳	(E)- piperitol	۱۱۸٤	۰/۲۸	–
۳٤	Octyl acetate	۱۲۰۲	۰/۱۵	–
۳۵	Cuminyl aldehyde	۱۲۰٦	جزیی	–
۳٦	(E)- anethole	۱۲۵٤	۰/۵۰	–
۳۷	Bornyl acetate	۱۲٦۳	۰/۸۰	۰/۳
۳۸	α- terpinenyl acetate	۱۳۲٦	۲/۷۷	۱٤/٤
۳۹	δ- elemene	۱۳۳۰	۰/۹٤	–
٤۰	α- cubebene	۱۳٤۳	۰/۱۷	–

ادامه جدول شماره ۱- مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس *Sequoia* از نمونه طبیعی و نمونه کشت بافت

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری	نمونه رویشگاه (٪)	نمونه کشت بافت (٪)
٤١	α- copaene	١٣٧٠	٠/٢٢	–
٤٢	β- elemene	١٣٨٢	١/٠٥	–
٤٣	β- cedrene	١٤٠٨	٠/٢٠	–
٤٤	β- caryophyllene	١٤١٢	١/٥٨	١/٦
٤٥	Thujopsene	١٤٢٤	٠/٣٨	–
٤٦	(Z)- β- Farnesene	١٤٣٩	٠/٢٦	–
٤٧	α- humulene	١٤٤٦	٠/٢٤	جزیی
٤٨	Valencene	١٤٦٤	٠/٤٧	–
٤٩	Longifolene	١٤٦٧	٠/٢٩	–
٥٠	Germacrene D isomer # 3	١٤٦٨	–	٠/٣
٥١	Germacrene D	١٤٧١	٣/٤٢	٦/٩
٥٢	β- selinene	١٤٧٦	٠/٦٨	–
٥٣	Virdiflorene	١٤٨٦	١/٣٢	–
٥٤	β- bisabolene	١٤٩٤	٠/٠٩	–
٥٥	γ- cadinene	١٥٠٠	٠/٥٤	جزیی
٥٦	δ- cadinene	١٥٠٩	٢/١٢	١/١
٥٧	Elimicine	١٥٢٤	٠/٢٠	–
٥٨	Elemol	١٥٢٧	٢/١١	جزیی
٥٩	(E)- nerolidol	١٥٣٩	٠/٣٠	–
٦٠	Germacrene B	١٥٤٦	٤/١٤	جزیی

ادامه جدول شماره ۱- مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس *Sequoia* از نمونه طبیعی و نمونه کشت بافت

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری	نمونه رویشگاه (٪)	نمونه کشت بافت (٪)
٦١	Spathulenol	١٥٥٧	٠/٤٥	–
٦٢	Caryophyllene oxide	١٥٦٣	٠/٣٢	٠/٤
٦٣	Viridiflorol	١٥٨٤	٠/٥١	–
٦٤	Humulene oxide	١٦٠٤	٠/٩٤	–
٦٥	Cubenol	١٦٠٩	٠/٢٩	–
٦٦	γ- eudesmol	١٦١١	٢/٢٢	–
٦٧	T-cadinol	١٦٢٠	١/٧٠	٠/٥
٦٨	Torreyol	١٦٢٢	١/٣٠	جزیی
٦٩	β- eudesmol	١٦٢٩	٢/٢٩	جزیی
٧٠	T- muurolol	١٦٣١	٣/١١	–
٧١	α- eudesmol	١٦٣٣	١/٩٥	١/٢
٧٢	α- santalol	١٦٦٠	٠/١٣	–
٧٣	Manoyl oxide	١٩٧٧	٠/١٩	–

بحث

مقایسه بازده اسانس حاصل از نمونه طبیعی (۱/۲٪) با نمونه کشت بافت (۲/۸٦٪) نشان داد که در مورد این نمونه گیاهی کشت بافت باعث بالا رفتن میزان اسانس می‌شود.

تنوع ترکیبهای موجود در اسانس نمونه طبیعی (۷۲ ترکیب) و نمونه حاصل از کشت بافت (۳۷ ترکیب) نیز تفاوت زیادی نشان می‌دهد. وجود ترکیبهای متعددی مثل لیمونن اکسید، دلتا و بتا المن، والنسن، ویردیفلورن، ویردیفلورول، هومولن اکسید، گاما اودسمول، مورولول که از میزان به نسبت قابل ملاحظه‌ای برخوردار است به علاوه تعداد زیاد دیگری از ترکیبها با درصد پایین‌تر در اسانس نمونه طبیعی، آن را به طور آشکاری متمایز از نمونه کشت بافت می‌کند. از طرفی وجود برخی ترکیبها در اسانس نمونه کشت بافت مثل جرماکرن دی ایزومر ۳، و عدم حضور آن در اسانس نمونه طبیعی این باور را تقویت می‌کند که شیوه تکثیر تأثیرات عمیقی بر نحوه و یا مکانسیم تشکیل ترکیبهای ترپنی در گیاه می‌گذارد.

همچنین مقایسه ترکیبهای عمده اسانس این دو نمونه بیانگر تفاوت زیاد در این اجزا و در نتیجه تفاوت در رنگ، عطر و اثرات و کاربردهای اصلی این دو اسانس می‌باشد.

در حالی که عمده‌ترین جزء اسانس نمونه رویشگاه بتا فلاندرن و لیمونن به مقدار ۱۳/۳۰٪ می‌باشد این اجزا فقط به میزان ٦/٦۰٪ در اسانس نمونه حاصل از کشت بافت موجود است. از طرفی آلفا پینن که حدود ۲٦ درصد از اسانس نمونه کشت بافت را تشکیل می‌دهد در اسانس نمونه رویشگاه به میزان ٦/۸٪ یافت می‌شود. همچنین آلفا ترپینیل استات و سابینن که به‌ترتیب ۱٤/٤٪ و ۱۳/٦٪ از اسانس نمونه کشت بافت را به‌خود اختصاص داده است در اسانس نمونه رویشگاه از هر کدام فقط در حدود ۳ درصد یافت شد.

به طور کلی می‌توان گفت که تنوع در اجزای نمونه طبیعی بسیار بیشتر است، بنابراین درصد ترکیبهای اصلی نیز پایین است از طرفی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس نمونه حاصل از کشت بافت از نظر تعداد کمتر، ولی از نظر میزان در اسانس قابل ملاحظه است.

با توجه به کاربردهای مختلفی که ترکیبهای عمده این اسانسها دارد از هر یک از این اسانسها می‌توان در موارد خاصی بهره‌برداری کرد. (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵)

سپاسگزاری

از کلیه همکاران عزیز و مسئولان محترمی که همکاری و حمایت آنها از این تحقیق منجر به ارائه این مقاله گردید صمیمانه سپاسگزاریم. همچنین از آقای دکتر میرزا جهت تهیه طیف‌های GC/MS کمال تشکر را داریم.

منابع

۱- آقایی جوبنی، کیوان، ۱۳۸۱. بررسی و مقایسه میزان اسانس و ترکیبات متشکله آن در گیاهان اکالیپتوس کامالدولنسیس در شرایط مزرعه‌ای و کشت بافت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، ۱۷۷ صفحه.

۲- جوانشیر، کریم، ۱۳٦٦. سوزنی برگان. جلد دوم. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۲۲۰ صفحه.

۳- شریفی، مظفر، ۱۳۷٤. بررسی مقایسه‌ای اسانسها در بذر زیره‌های سیاه و سبز و قطعات جدا کشت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران، ۳۳۵ صفحه.

٤- مظفریان، ولی‌اله، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، ٦۷۱ صفحه.

۵- میرزا، مهدی، فاطمه سفیدکن و لطیفه احمدی، ۱۳۷۵. اسانسهای طبیعی، استخراج،شناسایی کمی و کیفی، کاربرد، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.

6- Badaway, E. M; Moris, H. A; Sakr, S. S and El- Sharnouby, M. E. (1991). Production of the essential oil obtained from callus of different organs of Chamomile plant (Chamomilla recutita, L) in vitro. Bulletin of faculty of Agriculture university of cairo, 42.4 suppl. 11485-1499.

7- Charlwood, B. V. and molina- Torres, J. (1992). Properties of plant cell cultures, organised cultures. Proc. Phtochemistry. Soc. Eur. 30, 167-200.

8- Geron, C; Rasmussen, R; Arnts, RR. And Guenther, A. (2000). A review and synthesis of monoterpene speciation from forests in the Unoted States. Atmospheric environment, 34 (11): 1761-1781.

9- Guenther, E. (1948). The essential oils Vol: 1.

10- Omoto, t. San- Ei Gen F. F. I. (2000). Inc. 1- 1- 11, Sanwa- cho, Toyonaka, Osaka 561-8588, Japan.

Comparison between Oil Composition of *Sequoia sempervirens* from Tissue Culture and main sample

F. Sefidkon, S. Meshkizadeh and S. Shahrzad

Abstract

Sequoia is a very big and ever green tree with 45-90 meter height. It is native to the side of Atlantic Ocean, Which is also cultivated in Iran.

The plant materials were collected from one of the Sequoia trees from Rezvanshahr Garden in August. The height to this tree was 40 meter and it was 30 years old.

For preparation of tissue culture samples, the end part of shoots in 1-2 centimeter length have been cultivated.

The leaves from main tree and also tissue culture sample were hydro-distilled for their essential oils. The oils were analyzed by combination of capillary GC and GC/MS.

72 Compounds were identified in the leaf oil of main tree and 37 compounds were characterized in the leaf oil of tissue culture sample. The main components of the oil from main tree were β- phellandrene and limonene (13.30%), α- pinene (6.83%), terpinene –4-ol (6.47%), γ-teroubebe *5.44%) and germacrene B (4.17%), while the major components of the oil from tissue culture sample were α- pinene (26.30%), α- terpinenyl acetate (14.40%), sabinene (13.60%), γ- terpinene (7.10%), germacrene D (6.90%), β-phellandrene and limonene (6.60 %) and p-cymene (5.00%). Althoug these components were found in both oils, but the higher percentage of some useful compounds in the oil of tissue culture sample, gave it more effective character.

Key words:

Sequoia sempervirens, essential oil, α- pinene, limonene, α- terpineneyl acetate, sabinene.