ارزیابی برخی جمعیت‌های گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) با استفاده از خصوصیات آگرومورفولوژیکی و ترکیبات غالب اسانس

Evaluation of Some Population of *Hypericum perforatum* L. Using Agro-Morphological Traits and Most Components of Essential Oil

علی عبادی[۱]، محمدرضا مرشدلو[۲*]، محمدرضا فتاحی مقدم[۳] و داراب یزدانی[۴]

چکیده

گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) مهم‌ترین گونه‌ی جنس *Hypericum* می‌باشد و به‌دلیل تاثیر مثبت و شناخته شده‌ای که در درمان افسردگی دارد یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در سطح جهان به‌شمار می‌رود. این آزمایش به‌منظور ارزیابی ده جمعیت گیاه گل راعی با استفاده از خصوصیات آگرومورفولوژیکی و ترکیبات غالب اسانس و با هدف شناخت بهتر برخی از ویژگی‌های این گونه به‌منظور کاربرد آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی آتی صورت گرفت. آلفا پینن، ۲- متیل اکتان، دلتا کادینن و گاما کادینن ترکیبات اصلی اسانس در اکثر جمعیت‌ها را تشکیل می‌دادند. نتایج تجزیه همبستگی ساده صفات در بسیاری از موارد همبستگی معنی‌داری را در بین صفات مورد بررسی نشان داد. از آن جمله می‌توان به همبستگی‌های مثبت بین سطح برگ با فاصله میان‌گره در بخش گل‌دهنده (r=۰/۷۷۱)، عرض گیاه با طول گل آذین (r=۰/۸۹۴) و دلتا کادینن با کاریوفیلن (r=۰/۷۳۹) اشاره نمود. علاوه بر این همبستگی منفی بالایی بین نسبت طول به عرض کپسول با تعداد گل در گل آذین اصلی (r=-۰/۸) و تعداد شاخه‌ی گل‌دهنده‌ی فرعی (r=-۰/۸۸۲) مشاهده شد. نتایج تجزیه به عامل‌ها نشان داد که ۷ عامل اصلی و مستقل در مجموع ۹۵/۴۷ درصد از واریانس کل را توجیه می‌کنند و صفاتی هم‌چون، طول گل آذین اصلی، تعداد گل در گل آذین اصلی، سطح برگ و طول گیاه از جمله صفات تشکیل دهنده‌ی عوامل اصلی بودند. در بین جمعیت‌های مورد بررسی جمعیت آزادشهر و گلوگاه دارای بیش‌ترین تعداد گل بودند. تجزیه خوشه‌ای نیز توانست جمعیت‌ها را از یکدیگر تفکیک کرده و آن‌ها را در سه گروه قرار داد.

واژه‌های کلیدی: *Hypericum perforatum* L.، اسانس، تجزیه کلاستر، تنوع ژنتیکی، همبستگی

Archive of SID

۱. استاد، گروه علوم باغبانی،دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳. دانشیار،گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴. استادیار، گروه پژوهشی فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، تهران

*: نویسنده مسئول E-mail: Morshedloo@ut.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

جنس *Hypericum* متعلق به خانواده Hypericaceae بوده و بر اساس گزارش *کروکت*[1] و همکاران (2010) و آزادی (1999) بیش از ۴۶۹ گونه در سراسر جهان دارد که تاکنون ۱۹ گونه‌ی آن از ایران گزارش شده است. *کوسوش*[2] و همکاران (2003) و *دلتیتو و بایر*[3] (1998) نوشته‌اند که گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) مهم‌ترین گونه این جنس است و به‌دلیل توانایی سازگاری بالا با شرایط محیطی دارای پراکنش وسیعی در آسیا و اروپا و شمال آمریکا می‌باشد. این گونه گیاهی چندساله، مقاوم به یخبندان و هم‌چنین آهک دوست و نور پسند بوده و در زیستگاه‌هایی هم‌چون کنار جاده‌ها، علفزارها و مراتع رشد می‌کند. *برتولی*[4] و همکاران (2011)؛ *زانولی*[5] (2004)؛ *گارتنر*[6] و همکاران (2005)؛ *کوبین*[7] و همکاران (2005) و *گلایسیک*[8] و همکاران (2006) نوشته‌اند که گیاه گل راعی حاوی دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه هم‌چون فلاونوئیدها، پروانتوسیانیدین‌ها، نفتودیانترون‌ها (هایپریسین و سودوهایپریسین)، آسیل فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین) می‌باشد و تاکنون خواص درمانی بالایی برای این گیاه دارویی گزارش شده است که بیش‌ترین تاثیر و کاربرد آن تاکنون در درمان افسردگی است. علاوه بر این، عصاره‌ی این گیاه خاصیت ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد ویروسی بالایی دارد.

تاکنون مطالعات زیادی در رابطه ویژگی‌های مورفولوژیکی و ترکیبات اسانس گیاه گل راعی صورت گرفته و نتایج متفاوتی به‌دست آمده است. بر اساس گزارش‌های *پلوهار*[9] و همکاران (2000) و *اسکوب*[10] و همکاران (2006) این اختلافات می‌تواند به‌دلیل عواملی هم‌چون جمع‌آوری گیاه در مراحل فنولوژیکی مختلف و یا جمع آوری از مناطقی با شرایط آب و هوایی مختلف باشد. از سویی دیگر، خصوصیات ژنتیکی گیاه، نحوه‌ی فراوری و عناصر غذایی، خاک و شرایط آب و هوایی می‌توانند کمیت و کیفیت گیاهان دارویی را تحت تاثیر قرار دهند. مطابق نظر *سیراک*[11] و همکاران (2007) و *ویسینگ*[12] و همکاران (2005) بررسی تنوع مورفولوژیکی یک روش ساده و مستقیم به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین جمعیت‌ها به‌منظور بررسی اختلافات مورفولوژیکی می‌باشد که برای شناسایی و طبقه‌بندی گیاهان در گذشته و حال مورد استفاده قرار می‌گیرد.

برگونیز[13] و همکاران (2001) نوشتند که اختلاف در ترکیبات شیمیایی برگ‌ها در جمعیت‌های مختلف گیاه گل راعی نیز می‌تواند به‌عنوان یک عامل موثر در خواص دارویی عصاره‌ی حاصل از آن‌ها عمل کند. علاوه بر این اختلاف در ترکیب شیمیایی می‌تواند دلیلی بر اختلاف ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه باشد. به هر حال بررسی اختلاف شیمیایی به تنهایی عامل کافی و معتبر در ارزیابی جمعیت‌ها نمی‌باشد، زیرا همان‌طور که اشاره شد عواملی هم‌چون شرایط محیطی و مرحله نموی می‌توانند ترکیبات موثره را تحت تاثیر قرار دهند.

سیراک و همکاران (2007) در پژوهشی که بر روی ترکیبات شیمیایی و چهار صفت مورفولوژیکی (تعداد غدد تیره‌ی برگ، سطح برگ، نسبت طول به عرض برگ و ارتفاع گیاه) جمعیت‌های گیاه گل راعی در ترکیه انجام دادند، اختلاف معنی‌داری را از نظر این صفات در بین جمعیت‌های مختلف گزارش کردند، هم‌چنین در این مطالعه هایپریسین به‌عنوان اصلی‌ترین ترکیب شیمیایی عصاره با تعداد غدد تیره‌ی برگی همبستگی مثبت معنی‌دار و با سطح برگ همبستگی منفی نشان‌داد. به‌هر حال بین سایر صفات مورفولوژیکی و ترکیبات شیمیایی همبستگی مشاهده نشد. در بررسی دیگری که *مگی*[14] و همکاران (2004) در بخش مرکزی ایتالیا به‌عمل آوردند، مشخص گردید که ویژگی‌های مورفولوژیکی، هیستولوژیکی و فیتوشیمیایی جنس *Hypericum* اختلاف معنی‌داری از نظر اندازه و شکل برگ‌ها وگل‌ها و هم‌چنین اندازه و توزیع ساختارهای ثانویه در قسمت‌های مختلف با یکدیگر داشتند. تاکنون گزارش‌های زیادی از ترکیبات اسانس گیاه گل راعی صورت گرفته است که از آن‌جمله می‌توان به مطالعات صورت گرفته بر روی ترکیبات اسانس در کشورهای هند، ترکیه و صربستان اشاره نمود که آلفا پینن به‌عنوان جز اصلی اسانس در این مطالعات گزارش شده است. در پژوهشی که توسط *رادوسیان*[15] و همکاران (2005) و *اسکوب* و همکاران (2006) در مورد

1. Crockett *et al.*
2. Kosuth *et al.*
3. Deltito and Bayer
4. Bertuli *et al.*
5. Zanoli
6. Gartner *et al.*
7. Kubin *et al.*
8. Glisic *et al.*
9. Pluhar *et al.*
10. Schwob *et al.*
11. Cirak *et al.*
12. Weising *et al.*
13. Bergonzi *et al.*
14. Maggia *et al.*
15. Radusienea *et al.*

Archive of SID
www.SID.ir

ترکیبات اسانس *H. perforatum* var. *perforatum* در مراحل مختلف رشدی صورت گرفت، کاریوفیلن اکساید، بتا کاریوفیلن، اسپاتولنول و ۱-تترادکانول ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل می‌دادند و گزارش شد که با توسعه مراحل نموی این گیاه تعداد ترکیبات اسانس آن افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر به خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (ترکیبات غالب اسانس) توده‌های این گونه دارویی در محدوده پراکنش آن در بخش‌هایی از ایران پرداخته شد تا با مشخص نمودن صفات موثر در تفکیک جمعیت‌ها از آن‌ها در تعیین قرابت و فواصل ژنتیکی جمعیت‌ها (دوری یا نزدیکی جمعیت‌ها) بهره جست.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و صفات مورد ارزیابی

مطالعه حاضر در مرداد ماه سال ۱۳۹۰ روی جمعیت‌های وحشی گیاه گل راعی جمع‌آوری شده از شمال و شمال-شرق ایران که شامل استان‌های گلستان (آزادشهر، گلوگاه و توسکستان)، مازندران (تنکابن، نور و جواهرده)، گیلان (لاهیجان) و خراسان رضوی (مشهد، دررود و خرو) بودند، صورت گرفت. جمع‌آوری به گونه‌ای صورت گرفت که تا حد ممکن نمونه‌ها از نظر فنولوژیکی در یک مرحله رشدی باشند (ابتدا جمعیت‌های مشهد و خرو و درود از استان خراسان و در مرحله بعدی جمعیت‌های استان گلستان و سپس جمعت-های استان‌های مازندران و گیلان جمع‌آوری شد). ویژگی‌های رویشگاهی این مناطق در جدول شماره یک آمده است. نمونه‌های هرباریومی هر جمعیت در هرباریوم گروه علوم باغبانی دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران (کرج) نگهداری شدند. این گیاهان در طی این مطالعه با شماره هرباریمی، ۶۳۹۸، ۶۳۹۴، ۶۴۰۲، ۶۳۹۷، ۶۴۰۳، ۶۳۹۵، ۶۳۹۶، ۶۴۰۰، ۶۴۰۴ و ۶۳۹۳ به‌ترتیب برای گیاهان جمع‌آوری شده از مناطق آزادشهر، گلوگاه، توسکستان، تنکابن، نور، جواهرده، لاهیجان، مشهد، دررود و خرو مشخص شدند. در این مطالعه ۱۵ تک بوته از هر جمعیت که به فاصله حداقل ۵۰ متر از یکدیگر جمع‌آوری شده بودند و به‌عنوان نماینده هر جمعیت از لحاظ ۲۵ صفت کمی و ۱۰ ترکیب حاصل از آنالیز اسانس مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۲).

جدول ۱: مناطق جغرافیایی و شرایط آب و هوایی جمعیت‌های گیاه گل راعی

Table 1: The geographical origins and climatic conditions of *Hypericum perforatum* L. populations

Longitude	Latitude	Altitude from the see (m)	Average annual temperature (°C)	Average annual rainfall (mm)	Grows condition	Areas of sample collection	No
59° 30´	36° 39´	1550	8	550	Common-spring border	Khorasan razavi-Neyshaboor- Kharw	1
59° 06´	36° 08´	1580	9	435	Rocky- river border	Khorasan razavi-Neyshaboor- Darrod	2
59° 37´	36° 31´	1334	5-14	241	Common-gardens border	Khorasan razavi-Mashhad	3
55° 17´	37° 08´	143	18	500	Common-spring border	Golestan- Azadshahr	4
53° 82´	36° 72´	25	14	515	Common-woodland	Golestan-Galogah	5
54° 34´	36° 46´	280	15	570	Common-woodland	Golestan-Toskestan	6
50° 88´	36° 80´	8	21	1200	Common-farmes border	Mazandaran-Tonekabon	7
52° 28´	36° 46´	4	16	2122	saline-coastal	Mazandaran-Noor	8
49° 99´	37° 19´	35	16	1359	Common-woodland	Gilan-Lahijan	9
50° 46´	36° 85´	1863	18	1320	Common-woodland	Mazandaran-Javaherdeh	10

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲: صفات مورد بررسی، میزان تغییرات، میانگین و ضریب تغییرات آن‌ها در بین جمعیت‌های مورد مطالعه

Table 2: Traits, the changes, averages and coefficient of variation among the populations studied

Coefficient of variation	Standard deviation	maximum	avarage	Minimum	Unit	Abbreviation marks	Traits	Number
26.57	25.31	136.24 (KH**)	95.25	54.39 (J)	mm	IL	Length of main inflorescence	1
9.37	0.71	8.53 (M)	7.59	6.30(N)	mm	PL	Peduncle length of the terminal	2
43.69	4.18	18.84 (KH)	9.57	6.43 (J)	mm	PDL	Length of the first axis of inflorescence	3
23.04	6.78	39.42 (M)	29.45	19.47 (J)	mm	INL	Internode length	4
18.39	2.29	14.73 (D)	12.46	9.22 (L)	mm	LL	Leaf length in the main branch	5
16.39	0.79	5.80 (TS)	4.79	3.37 (L)	mm	LW	Leaf width	6
7.94	0.21	3.09 (KH)	2.70	2.34 (T)	Ratio	LWR	Length to width ratio of leaves	7
15.19	0.56	4.35 (M)	3.69	2.61 (N)	mm	CL	Sepal length	8
14.57	0.19	1.54 (T)	1.29	0.88 (N)	mm	CW	Sepal width	9
25.27	0.79	4.02 (G)	3.14	1.67 (J)	mm	CD	Crown diameter	10
23.57	34.87	207.57 (KH)	147.96	100 (N)	mm	PW	Plant width	11
29.77	204.40	983.50 (A)	686.63	348.11 (J)	mm	PH	Plant height	12
21.74	1.07	7.01 (D)	4.94	3.11 (KH)	Ratio	WHR	Length to width ratio of plant	13
67.30	49.98	160.76 (A)	74.27	27.36 (D)	Number	FN	The number of flowers in the main inflorescence	14
80.86	26.72	96.13 (T)	33.05	8.50 (D)	Number	SIFN	flowers in the Subsidiary inflorescence	15
24.70	2.27	12.32 (T)	9.17	5.52 (N)	mm	PL	Petal Length	16
38.01	3.15	13.29 (KH)	8.30	3.85 (J)	Number	FSN	Number of sub-branched inflorescence	17
21.59	4.64	26.55 (J)	21.49	15.22 (A)	mm	INLF	Internode distance between the flowering part	18
21.98	16.11	98.10 (TS)	73.30	50.80 (J)	mm	SSL	Length side branches	19
27.36	35.70	170.60 (G)	130.49	64.86 (N)	mm	SFSL	Length side flowering branches	20
9.51	0.53	6.33 (M)	5.58	4.69 (N)	mm	FL	Capsule length	21
10.10	0.32	3.63 (M)	3.21	2.51 (N)	mm	FD	Capsule diameter	22
11.17	0.20	2.15 (M)	1.82	1.57 (A)	mm^2	LDR	Length to width ratio of capsule	23
42.46	12.73	55.90 (J)	29.98	11.20 (L)	Ratio	LA	Leaf area	24
-	-	36.07 (A)	13.81	6.25 (M)	٪	2-MO	2-Methyl- Octan	25
-	-	25.15 (TS)	7.27	1.75 (M)	٪	N	Nonane	26
-	-	26.03 (KH)	16.41	5.54 (G)	٪	A-P	α- pinene	27
-	-	10.13 (A)	4.51	0.36 (KH)	٪	5-MH	5-methyl- 3- Heptanone	28
-	-	11.56 (KH)	1.55	0.00 (L, M, N)	٪	B-P	β- pinene	29
-	-	12.35 (L)	2.48	0.00 (TS, G, L)	٪	B-F	β-funebrene	30
-	-	12.23 (N)	3.23	0.00 (KH)	٪	CA	Caryophyllene(e)	31
-	-	11.26 (N)	3.32	0.10 (A)	٪	A-H	α-humulene	32
-	-	16.92 (M)	4.05	0.0 (J, KH, D,G)	٪	G-C	Cadinene(gamma)	33
-	-	22.58 (N)	6.72	0.04 (A)	٪	D-C	Cadinene(delta)	34

** خرو (KH)، درود (D)، مشهد (M)، آزادشهر (A)، گلوگاه (G)، لاهیجان (L)، جواهرده (J)، توسکستان (TS)، تنکابن (T)، نور (N)

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج و آنالیز اسانس

استخراج اسانس از اندام‌های تازه (پیکره‌ی رویشی به همراه سرشاخه‌ی گلدار که از ۲۰ بوته از هر جمعیت جمع-آوری شده بودند) به روش تقطیر با آب توسط کلونجر و به مدت ۴ ساعت صورت گرفت و بلافاصله توسط سولفات سدیم خشک آبگیری شده و در محل تاریک با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. اسانس گیاه مورد نظر پس از آماده سازی، به دستگاه گازکروماتوگرافی جرمی (GC/MS) تزریق گردید تا نوع ترکیبات آن مشخص گردد. دستگاه GC مورد استفاده از نوع Agilent 6890 با ستون HP-5MS به‌طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه دمایی ستون به-صورت زیر تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به‌مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، سپس افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما را داشتیم. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاد گردید.

طیف‌نگار جرمی (MS) مورد استفاده مدل Agilent 5673 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن طیف‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ نانومتر تنظیم شد. نرم-افزار مورد استفاده چمستیشن[1] بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع آدامز[2] (2001) و با استفاده از طیف-های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

آنالیز داده‌ها

داده‌های حاصل از صفات مورد بررسی ابتدا در نرم-افزار Excel ثبت گردیدند و سپس برای انجام تجزیه‌های آماری شامل ضرایب همبستگی، انحراف از معیار، ضریب تنوع، حداقل و حدااکثر میانگین از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۹ استفاده شد. هم‌چنین، تجزیه‌ی عامل‌ها با استفاده از تکنیک چرخش عامل‌ها و به روش واریمکس انجام شد و آنالیز کلاستر با استفاده از روش وارد[3] صورت گرفت.

1. Chemstation
2. Adams
3. WARD

به‌منظور انجام این آنالیزها و نیز ترسیم دندروگرام و تری‌پلات نیز از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵٪ توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج توصیفی داده‌ها

نتایج تجزیه آماری مربوط به توصیف صفات جمعیت-های مختلف گیاه گل راعی شامل حداقل و حداکثر، میانگین و ضریب تنوع برای ۳۵ صفت مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (ترکیبات غالب اسانس) در جدول ۲ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر کم‌ترین و بیش‌ترین طول گلبرگ به‌ترتیب مربوط به جمعیت‌های نور و تنکابن بود. هم‌چنین حداقل طول گل آذین مربوط به جمعیت جواهرده (۵۴/۴ میلی‌متر) و حداکثر طول گل آذین مربوط به جمعیت خرو (۱۳۶/۲۴ میلی‌متر) با میانگین ۹۵/۲۵ و انحراف ۲۵/۳۰ میلی‌متر بود. هم‌چنین جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر تعداد گل در گل-آذین اصلی که یکی از مهم‌ترین صفات تاثیر گذار بر میزان متابولیت‌ها در گیاه گل راعی می‌باشد نیز اختلاف معنی‌داری با هم داشتند که در این بین جمعیت آزادشهر با ۱۶۰/۷۶ و جمعیت درود با ۲۷/۳۶ میانگین تعداد گل دارای بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد گل در گل‌آذین اصلی بودند. نتایج نشان داد که جمعیت‌های آزادشهر و گلوگاه دارای بیش‌ترین مقادیر تعداد گل و ارتفاع گیاه بودند. هم‌چنین این دو جمعیت از نظر صفات طول گلبرگ، طول گل‌آذین اصلی، عرض برگ، نسبت طول به عرض برگ، تعداد گل در گل‌آذین فرعی، تعداد شاخه گل‌دهنده فرعی و قطر طوقه در گروه a (جدول ۳) قرار داشتند. با وجود این صفات مطلوب در هر دو جمعیت، جمعیت گلوگاه طول برگ و سطح برگ بالاتری را نسبت به جمعیت آزادشهر دارا بود. بر اساس مطالعات *جیانی* و *رناتو*[4] (2009) گل‌ها و برگ‌های گیاه گل راعی از نظر دارویی (محلی جهت سنتز و ذخیره اسانس، آسیل-فلوروگلوکسینول‌ها و ...) ارزشمند می‌باشند. لذا جمعیت گلوگاه را می‌توان به‌عنوان یک جمعیت مناسب جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی معرفی نمود.

لباسچی و همکاران (2004) در مطالعه‌ای که روی ۴ جمعیت گیاه گل راعی در زیستگاه‌های طبیعی ایران انجام دادند مشاهده کردند که در بین زیستگاه‌های طبیعی گرگان، نوشهر، سیاه‌کال و خلخال بلندترین گیاهان مربوط به

4. Renato and Gianni

Archive of SID
www.SID.ir

جمعیت‌های گرگان و سیاه‌کال بودند. در این مطالعه نیز جمعیت آزادشهر (استان گرگان) دارای بیش‌ترین ارتفاع گیاهان بود و با مطالعه فوق مطابقت داشت. در مطالعه حاضر تغییرات بالایی در ترکیبات اسانس مورد بررسی مشاهده شد و بالاترین مقدار مربوط به بتا- فونبرن، دلتا- کادینن، کاریوفیلن و آلفا- همولن بود. هم‌چنین در میان صفات مورفولوژیکی مورد بررسی بیش‌ترین ضریب تنوع‌ها به‌ترتیب مربوط به تعداد گل در گل‌آذین اصلی فرعی و اصلی، طول اولین محور گل‌آذین، سطح برگ، تعداد ساقه گل‌دهنده فرعی در ساقه، ارتفاع گیاه و قطر ساقه بود. مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی در بین جمعیت‌های مورد مطالعه تفاوت‌های معنی‌داری در بین صفات مورد ارزیابی نشان داد (جدول ۳). در مطالعه‌ای که *روبلک*[1] و همکاران (2008) روی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گل راعی تحت شرایط ارتفاع و شدت‌های متفاوت نور فرابنفش انجام دادند به این نتیجه رسیدند که با افزایش ارتفاع از سطح دریا؛ ارتفاع گیاهان کاهش می‌یابد و به تناسب آن طول میان‌گره‌ای ساقه کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعات ما در مورد جمعیت جواهرده که در ارتفاع بالاتری (۱۸۶۳ متر) از سطح دریا نسبت به سایر جمعیت‌های جمع‌آوری شده قرار داشت مطابقت داشت به‌طوری‌که فاصله میان‌گره و ارتفاع در این جمعیت به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر جمعیت‌ها بود. در واقع این کاهش ارتفاع گیاه همراه با افزایش ارتفاع یک مکانیسم دفاعی جهت غلبه بر آسیب نور فرابنفش در ارتفاعات می‌باشد. مطالعات دیگری که روی این گیاه صورت گرفته بیان‌گر این است که جمعیت‌های مختلف گیاه گل راعی از نظر ارتفاع، تعداد و میان‌گره‌های ساقه، ابعاد برگ، تعداد گل و دیگر صفات متفاوت می‌باشند. ریاضی و همکاران (2011) بیان نمودند که شرایط محیطی رشد گیاهان گل راعی را در مناطق مختلف تحت تاثیر قرار می‌دهند. حسینی و دوری (2005) گزارش کردند که ارتفاع گیاهان جمع‌آوری شده از منطقه گرمدشت تقریبا دو برابر جمعیت درازنو بودند آن‌ها شرح دادند که کاهش ارتفاع گیاهان درازنو ممکن است که منشا ژنتیکی داشته یا ناشی از خوگیری گیاهان گل راعی به ارتفاعات بالای منطقه درازنو باشد و در هر دو این مناطق ارتباط معنی‌داری بین ارتفاع گیاهان با تعداد شاخه‌های گل‌دهنده مشاهده نشد. *دونالد* و *گاونووسکی*[2] (2001) در مطالعه‌ای به‌منظور بررسی تاثیر نور بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و تعداد غدد تیره برگی در برگ‌های گیاه گل راعی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که نور به‌عنوان یک عامل محیطی تاثیر بالایی بر این صفات دارد. نتایج ما نیز با توجه به شرایط مختلف اقلیمی که گیاهان جمع‌آوری شدند مطابق با نتایج *دونالد* بود. بر اساس مطالعه صورت گرفته در این پژوهش و دیگر بررسی‌ها مشخص می‌شود که شرایط اقلیمی متفاوت صفات مورفولوژیکی و فیتوشمیایی در گیاه گل راعی را به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر قرار می‌دهند.

بررسی ترکیبات غالب اسانس

نتایج آنالیز اسانس اختلافاتی را از نظر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در بین جمعیت‌های مختلف نشان داد (جدول ۴). با این وجود مونوترپن اکسیژنه‌ی آلفاپینن در تمامی جمعیت‌های مورد مطالعه دارای مقادیر بالاتر از ۶٪ بود هم‌چنین در جمعیت‌های لاهیجان، توسکستان، تنکابن، خرو و درورد ترکیب غالب اسانس را تشکیل می‌داد. هم‌چنین ۲-متیل اکتان و الفاپینن به‌ترتیب ترکیبات غالب اسانس در جمعیت آزادشهر را تشکیل می‌دادند. در پژوهشی که روی ترکیبات اسانس این گیاه در جنوب فرانسه توسط *اسکوب*[3] و همکاران (2007) و در ترکیه توسط *کاکیر*[4] و همکاران (1997) صورت گرفت مونوترپن‌های هیدروژنه (آلفاپینن) به عنوان مهم‌ترین ترکیبات اسانس شناسایی شدند که با نتایج گزارش شده از جمعیت‌های فوق مطابقت داشت. ولی ترکیب اصلی اسانس در جمعیت مشهد را گاما-کادینن و در جمعیت نور را دلتا-کادینن تشکیل می‌داد. بررسی ترکیبات اسانس گیاه گل راعی توسط *گودزیک*[5] و همکاران (2001) در یوگسلاوی نشان داد که بتا-کاریوفیلن و ۲-متیل اکتان ترکیبات غالب اسانس را تشکیل می‌دهند. ولی در تحقیقی که *رادوسیان* و همکاران (2005) در لیتوانی بر روی ارقام مختلف گیاه گل راعی انجام دادند مشاهده کردند که سزکویی ترپن‌های اکسیژنه (مانند کاریوفیلن اکساید در برگ‌ها (۵/۲۹-۷/۷٪) و گل‌ها (۹/۲۵-۹/۳٪) ترکیبات غالب اسانس در تمامی جمعیت‌ها را تشکیل می‌دادند و تعداد کمی از مونوترپن‌های اکسیژنه در اسانس آن‌ها گزارش شد (حداکثر مقدار آلفاپینن گزارش شده ۱/۵٪ بود).

1. Roblek
2. Donald and Gawienowski
3. Schwob *et al.*
4. Cakir
5. Gudzic

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های صفات کمی رویشی و زایشی گیاه گل راعی

Table 3: Comparison of vegetative and reproductive quantitative traits averages in *H. perforatum*

Traits **													
Plant width (mm)	Crown diameter (mm)	Sepal width (mm)	Sepal length (mm)	Length to width ratio of leaves (ratio)	Leaf width (mm)	Leaf length in the main branch (mm)	Internode length (mm)	Length of the first axis of inflorescence (mm)	Peduncle length of the terminal (mm)	Petal length (mm)	Length of main inflorescence (mm)	populations	No
207.57	2.81	4.01	1.23	4.18	3.09	4.82	14.54	37.98	18.84	11.38	136.24	Kharw	1
145.50	2.67	3.54	1.26	4.35	2.72	5.50	14.63	39.42	15.34	11.37	97.72	Mashhad	2
122.27	1.95	2.64	1.25	3.93	2.90	5.20	14.73	32.39	6.98	11.16	70.75	Darrod	3
183.76	2.70	4.00	1.47	3.83	2.53	4.47	11.05	24.72	7.32	8.42	103.69	Azadshahr	4
183.76	2.70	4.00	1.47	3.83	2.53	4.47	11.05	24.72	7.32	8.10	103.69	Galogah	5
178.85	2.66	4.02	1.37	3.67	2.68	5.25	13.96	31.59	7.64	8.53	102.19	Toskestan	6
163.30	2.22	3.36	1.46	3.95	2.59	5.80	14.44	32.57	8.15	12.32	117.33	Tonekabon	7
144.67	2.06	3.10	1.54	4.09	2.34	4.53	10.31	31.40	8.08	5.52	114.26	Nor	8
100.08	1.77	2.43	0.88	2.61	2.54	3.69	9.33	22.27	6.73	8.29	66.93	Lahijan	9
118.60	1.71	2.62	1.24	3.30	2.75	3.37	9.22	21.67	10.18	6.65	89.06	Javaherdeh	10
30.24	0.43	0.67	0.24	0.36	0.44	0.73	1.68	5.30	2.41	3.37	18.95	least significant difference	

**: Within each column means with the least significant difference (LSD test at 5% level) haven't significantly different from each other.

Continue of table 3: ادامه جدول ۳:

Traits**													
Leaf area (mm2)	Length to width ratio of capsule (ratio)	Capsule diameter (mm)	Capsule length (mm)	Length side flowering branches (mm)	Length side branches (mm)	Internode distance between the flowering part (mm)	Number of sub-branched inflorescence (number)	Flowers in the Subsidiary inflorescence (number)	The number of flowers in the main inflorescence (number)	Length to width ratio of plant (ratio)	Plant height (mm)	populations	No
40.78	1.76	3.49	6.10	168.38	73.98	26.50	9.40	34.33	97.22	4.39	873.33	Kharw	1
32.96	2.15	3.63	6.33	131.42	97.94	25.72	6.40	17.25	40.50	5.02	713.00	Mashhad	2
31.85	1.85	3.34	6.07	82.60	59.08	23.75	5.36	8.50	27.36	7.01	749.29	Darrod	3
23.15	1.57	3.33	5.15	126.27	74.78	15.22	13.29	49.00	160.76	5.40	983.50	Azadshahr	4
36.89	1.59	3.33	5.09	170.60	79.05	20.75	12.00	48.31	144.54	5.40	918.40	Galogah	5
22.04	1.61	3.38	5.37	131.71	98.10	18.45	10.40	34.50	110.50	4.00	610.00	Toskestan	6
26.83	1.75	3.11	5.36	141.47	77.11	25.44	10.13	96.13	33.15	4.84	660.00	Tonekabon	7
18.24	1.92	2.51	4.69	64.86	66.28	15.96	6.15	18.76	49.92	5.85	567.69	Nor	8
11.20	1.90	3.12	5.75	169.60	55.84	16.52	6.00	11.68	48.43	4.40	443.00	Lahijan	9
55.90	2.10	2.88	5.90	118.00	50.80	26.55	3.85	12.00	30.28	3.11	348.11	Javaherdeh	10
5.56	1.93	0.95	65.55	20.66	7.16	3.42	3.37	14.12	23.92	0.98	87.41	least significant difference	

**: Within each column means with the least significant difference (LSD test at 5% level) haven't significantly different from each other.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴: بررسی ۱۰ ترکیب غالب در اسانس گیاه گل راعی در جمعیت‌های مناطق مورد مطالعه

Table 4: Evolution of 10 most compounds of essential oil from different populations of *H. perforatum*

No	Essential oil components	populations									
		Noor	Mashhad	Darrod	Kharw	Javaherdeh	Tonekabon	Azadshahr	Galogah	Toskestan	Lahijan
1	2-Methyl- Octan	7.38	6.25	9.84	15.02	15.01	9.13	36.07	10.86	13.52	15.14
2	Nonane	3.4	1.75	2.30	5.10	11.06	9.77	4.55	5.32	5.15	4.65
3	α- pinene	8.98	6.23	14.38	26.03	8.72	21.88	23.55	5.56	23.06	25.69
4	5-methyl- 3-Heptanone	2.03	3.87	8.05	0.36	4.01	5.13	10.13	2.88	5.73	2.94
5	β- pinene	0	0	0.67	11.56	0.47	1.44	0.00	0.31	1.02	0.00
6	β-funebrene	0	2.37	0	1.99	6.69	1.37	0.04	0	0	12.35
7	Caryophyllene(e)	12.23	0.08	2.29	0	0.13	3.01	0.12	9.9	3.51	1
8	α-humulene	11.26	1.05	5.2	3.19	4.26	0.24	0.1	7.11	0.61	0.2
9	Cadinene(gamma)	0	16.92	0	0	0	0.21	0.05	0	8.72	14.6
10	Cadinene(delta)	22.58	2.78	8.62	10.22	8.02	0.41	0.04	11.58	2.35	0.55

همان‌طور که مشاهده شد تفاوت‌هایی بین ترکیبات اسانس مورد بررسی در این مطالعه و پژوهش‌های انجام شده در سایر کشورها وجود دارد که این اختلافات بین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس می‌تواند به‌دلیل جمع‌آوری گیاه در مراحل فنولوژیکی مختلف (گزارش سایر مناطق) و یا جمع-آوری گیاهان گل راعی از مناطقی با شرایط مختلف محیطی-ادافیکی باشد. از سویی دیگر مطالعات *اسکوب* و همکاران (2006) نشان داد که خصوصیات ژنتیکی گیاه، نحوه‌ی فراوری و تغییرات فصلی نیز از جمله عوامل دیگری هستند که می‌توانند بر نوع ترکیبات اسانس موثر باشند. همان‌طور که در جدول ۱ اشاره شد گیاهان گل راعی در مطالعه‌ی حاضر از مناطقی با شرایط ارتفاعی و در واقع رویشگاهی مختلف جمع‌آوری شدند به‌عنوان مثال جمعیت منطقه نور از نواحی ساحلی با خاک شور و ارتفاع حدود ۳ متر از سطح دریا جمع‌آوری شدند که از نظر ترکیب غالب با بقیه جمعیت‌ها متفاوت بود. و یا جمعیت آزادشهر که در منطقه خشک‌تری نسبت به سایر جمعیت‌های شمال ایران رشد می-کرد دارای مقادیر بالاتری از ۲- متیل اکتان نسبت به سایر جمعیت‌ها بود. لذا با توجه به‌نوع ترکیب مورد نظر در امور اصلاحی مربوط به اسانس این گیاه می‌توان به انتخاب جمعیت مناسب اقدام نمود.

ضرایب همبستگی صفات

در این مطالعه به‌منظور بررسی چگونگی همبستگی صفات از ضرایب همبستگی ساده صفات (پیرسون) استفاده شد. نتایج حاصل از ضرایب همبستگی ساده در اکثر موارد همبستگی مثبتی را بین صفات مورد مطالعه نشان دادند که در این بین بالاترین ضرایب همبستگی مربوط به قطر طوقه با قطر ساقه (r=+۰/۹۹۷) و هم‌چنین بین قطر کپسول با طول کاسبرگ (r=+۰/۹۱۸) بود. علاوه بر این همبستگی‌های بالا و معنی‌داری بین بسیاری از صفات مشاهده شد، که از آن‌جمله می‌توان به همبستگی مثبت در بین صفاتی هم‌چون طول برگ با عرض برگ (r=۰/۸۷۹)، قطر یقه با طول گل‌آذین اصلی (۰/۸۲۷)، عرض گیاه با طول گل آذین (r=۰/۸۹۴)، طول گلبرگ با فاصله میان‌گره (r=۰/۷۷۹)، هم‌چنین سطح برگ با تعداد گل در گل آذین فرعی و تعداد گل در گل آذین اصلی با تعداد شاخه گل‌دهنده فرعی در ساقه، اشاره نمود. علاوه بر این همبستگی منفی بالایی بین نسبت طول به عرض کپسول با تعداد گل در گل‌آذین اصلی (r=-۰/۸) و هم-چنین نسبت طول به عرض کپسول با تعداد شاخه‌ی گل-دهنده‌ی فرعی در ساقه (r=-۰/۸۸۲) مشاهده شد (جدول ۵). ریاضی و همکاران (2011) گزارش کردند که همبستگی منفی و معنی‌داری بین طول گلبرگ و کاسبرگ با تعداد شاخه‌های غیر گل‌دهنده و طول و عرض کپسول با قطر گل وجود دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 5: ضرایب همبستگی ساده میان صفات مورد مطالعه

Table 5: The simple correlation Coefficients among studied traits

	IL	INL	LL	LW	CL	CW	CD	PW	PH	FN	PL	SFSL	LA	MO	A-P	MH	B-P	B-F	A-H	D-C
Length of main inflorescence	1																			
Internodes length	0.648*	1																		
Leaf length in the main branch	0.28	0.757*	1																	
Leaf width	0.167	0.584	0.879**	1																
Sepal length	0.727*	0.867**	0.615	0.523	1															
Sepal width	0.576	0.304	0.215	0.401	0.670*	1														
Crown diameter	0.827**	0.634*	0.373	0.219	0.686*	0.482	1													
Plant width	0.849**	0.571	0.472	0.349	0.658*	0.552	0.894**	1												
Plant height	0.576	0.531	0.378	0.204	0.58	0.367	0.886**	0.782**	1											
The number of flowers in the main inflorescence	0.517	0.087	0.167	0.143	0.199	0.401	0.760*	.764*	0.705*	1										
Petal Length	0.564	0.779**	0.42	0.294	0.885**	0.505	0.413	0.392	0.382	–0.184	1									
Number of sub-branched flowering	0.656*	0.276	0.13	0.042	0.421	0.519	0.522	0.621	0.217	0.39	0.304	1								
Leaf area	–0.156	0.119	0.148	0.182	0.537	0.6	0.072	0.004	–0.129	0.176	–0.014	0.072	1							
2-Methyl- Octan	0.169	0.002	–0.138	–0.335	–0.192	–0.144	0.035	0.38	0.31	0.429	0.378	0.156	–0.093	1						
α- pinene	0.582	0.093	0.233	–0.002	–0.219	–0.31	0.295	0.425	0.244	0.374	0.101	0.369	–0.424	0.483	1					
5-methyl- 3-Heptanone	–0.126	–0.012	–0.514	–0.124	0.026	0.203	0.236	0.513	0.062	0.013	0.274	–0.324	–0.168	0.571	0.166	1				
β- pinene	0.606	0.352	.747*	0.475	0.339	0.064	0.354	–0.026	0.373	0.607	0.306	0.376	0.314	0.014	0.435	–0.479	1			
β-funebrene	–0.256	0.001	0.108	–0.458	–0.408	–0.448	–0.319	–0.151	–0.47	–0.373	–0.654*	0.379	–0.075	0.01	0.214	–0.3	–0.079	1		
α-humulene	–0.497	–0.377	–0.274	–0.223	–0.055	–0.148	–0.622	–0.752	–0.272	–0.343	–0.038	–0.523	0.152	–0.397	–0.624	–0.374	–0.049	–0.313	1	
Cadinene(delta)	–0.382	–0.356	–0.101	–0.151	–0.034	–0.169	–0.585	–.807**	–0.228	–0.265	–0.039	–0.489	0.156	–0.398	–0.519	–0.491	0.134	–0.306	0.973**	1

* and **: p< 0.05 and p< 0.01, respective

www.SID.ir

جدول ۶: ضرایب عاملی صفات مورد مطالعه هفت عامل اصلی

Table 6: Principal components analysis using morphological traits of *H. perforatum* L. populations

Factor 7	Factor 6	Factor 5	Factor 4	Factor 3	Factor 2	Factor 1	Traits	No
مقدار واریانس (٪)								
8.49	8.94	9.01	13.41	15.73	16.66	23.22		
واریانس تجمعی (٪)								
95.47	86.98	78.04	69.03	55.62	39.88	23.22		
0.191	0.308	–0.102	–0.011	0.572	0.272	0.655	Length of main inflorescence	1
0.356	–0.366	0.209	0.341	0.506	0.377	0.300	Peduncle length of the terminal	2
0.280	–0.229	–0.085	0.096	0.870	0.120	0.119	Length of the first axis of inflorescence	3
0.336	0.162	0.291	0.546	0.628	0.133	0.245	Internode length	4
0.117	–0.239	0.143	0.843	0.276	.077	0.216	Leaf length in the main branch	5
0.082	0.032	–0.035	0.944	–0.045	0.142	0.149	Leaf width	6
–0.189	–0.759	–0.059	0.277	00.511	–0.019	–0.106	Length to width ratio of leaves	7
0.241	0.204	.255	0.415	0.463	0.574	0.345	Sepal length	8
–0.007	0.440	–0.125	0.224	–0.085	0.702	0.451	Sepal width	9
0.251	0.097	0.155	0.113	0.339	0.117	0.860	Crown diameter	10
–0.050	0.011	–0.105	0.228	0.410	0.205	0.850	Plant width	11
–0.060	0.026	0.456	0.172	0.217	0.043	0.808	Plant height	12
–0.006	0.003	0.942	–0.076	–0.049	–0.186	0.087	Length to width ratio of plant	13
0.011	–0.098	–0.104	–0.003	–0.162	–0.031	0.976	The number of flowers in the main inflorescence	14
–0.186	0.853	–0.069	–0.050	0.101	0.182	0.395	flowers in the Subsidiary inflorescence	15
0.061	0.309	0.345	0.271	0.625	0.554	0.000	Petal Length	16
0.002	0.359	0.008	–0.041	–0.032	0.129	0.921	Number of sub-branched flowering	17
–0.231	0.129	–0.113	0.667	0.541	0.152	–0.373	Internode distance between the flowering part	18
0.646	0.361	0.063	0.366	0.114	0.063	0.449	Length side branches	19
0.195	0.016	–0.567	–0.032	0.427	0.329	0.415	Length side flowering branches	20
0.097	–0.403	0.006	0.418	0.496	0.505	–0.389	Capsule length	21
0.335	–0.140	0.149	0.460	0.376	0.551	0.423	Capsule diameter	22
0.168	–0.270	–0.086	0.157	0.107	–0.066	–0.844	Length to width ratio of capsule	23
–0.467	–0.170	–0.313	0.755	0.159	–0.073	–0.124	Leaf area	24
–0.340	–0.283	–0.074	–0.266	–0.328	0.447	0.582	2-Methyl- Octan	25
–0.542	0.405	–0.678	0.098	–0.106	0.162	–0.174	Nonane	26
–0.163	0.063	–0.089	–0.541	0.290	0.574	0.289	α- pinene	27
–0.173	0.049	0.460	0.090	–0.612	0.576	0.189	5-methyl- 3- Heptanone	28
–0.316	–0.128	–0.131	0.043	0.855	–0.026	0.259	β- pinene	29
0.113	–0.357	–0.540	–0.418	0.063	0.301	–0.474	β-funebrene	30
0.091	0.284	0.149	–0.142	–0.236	–0.864	0.116	Caryophyllene(e)	31
–0.215	–0.122	0.218	0.038	–0.091	–0.925	–0.126	α-humulene	32
0.876	–0.190	–0.145	–0.087	0.065	0.325	–0.238	Cadinene(gamma)	33
–0.212	–0.150	0.169	–0.001	0.067	–0.940	–0.108	Cadinene(delta)	34

Bold numbers have Significant factor coefficients

درحالی‌که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عرض کپسول با تعداد کپسول و عرض کاسبرگ با طول پنجمین میان‌گره مشاهده شد. در بین صفات مورفولوژیکی و ترکیبات اسانس مورد مطالعه در پژوهش حاضر همبستگی مثبتی میان ۲-متیل اکتان با تعداد گل (r=۰/۶۴۱) مشاهده شد. علاوه بر این همبستگی‌های منفی معنی‌داری میان بتا-فونبرن با ارتفاع گیاه (r=۰/۶۵۴)، دلتا کادینن با عرض کاسبرگ (r=۰/۸۰۷) و هم‌چنین همبستگی‌های مثبتی میان

Archive of SID

www.SID.ir

آلفا-همولن با کاریوفیلن (r=۰/۸۰۰) و دلتا کادینن با کاریوفیلن (r=۰/۷۳۹) مشاهده شد. نقدی بادی و همکاران (2003) گزارش کردند که در گیاهان گل راعی مورد بررسی طول کاسبرگ با عرض بخش گل‌دهنده گیاه همبستگی معنی‌داری داشتند ولی همبستگی منفی معنی‌داری بین طول کاسبرگ با تعداد غدد تیره برگی روی گلبرگ‌ها مشاهده شد. آن‌ها گزارش کردند که همبستگی مثبت معنی‌داری بین تعداد غدد شفاف برگ با طول برگ وجود دارد. در مطالعه‌ای که *سیراک* و همکاران (2007) بر روی ویژگی‌های مورفولوژیکی و مواد موثره گیاه گل راعی (ترکیبات عصاره مانند هایپریسین و هایپرفورین) در ترکیه انجام دادند، تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی بالایی برای جمعیت‌های مورد مطالعه گزارش کردند. علاوه بر این نتایج همبستگی صفات در این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین تعداد غدد تیره برگی و سطح برگ و هم‌چنین محتوی هایپریسین وجود داشت در حالی‌که بین سایر صفات مورفولوژیکی و مواد موثره همبستگی مشاهده نشد. نتایج همبستگی بین ترکیبات اسانس مورد بررسی در تحقیق حاضر با صفات آگرومورفولوژیکی همبستگی مثبتی بین ۲-متیل اکتان و تعداد گل، همچنین همبستگی‌های منفی معنی‌داری میان بتا فونبرن با ارتفاع گیاه (r=۰/۶۵۴) و دلتا کادینن با عرض کاسبرگ (r=۰/۸۰۷) نشان‌داد، در حالی‌که بین سایر صفات مورفولوژیکی با ترکیبات اسانس همبستگی مشاهده نشد. همان‌طور که اشاره شد تعداد گل یکی از مهم‌ترین عامل‌های تاثیر گذار بر ویژگی دارویی گیاه گل راعی می‌باشد و با صفات ارتفاع، عرض، قطر طوقه، تعداد شاخه‌ی گل‌دهنده‌ی فرعی و هم‌چنین ۲-متیل اکتان همبستگی مثبتی دارد، لذا می‌توان گفت جمعیت‌های پر گل (آزادشهر و گلوگاه) دارای وضعیت عمومی قوی‌تر از بقیه جمعیت‌ها می‌باشند و ترکیب ۲-متیل اکتان نیز در آن‌ها بالاتر خواهد بود. همچنین طبق گزارش *روبلک*[1] و همکاران (2008) همبستگی مثبتی بین ارتفاع با فاصله میان‌گره و تعداد گل وجود دارد که مطابق با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌باشد. در واقع می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که گیاهانی که دارای ارتفاع بالاتری نسبت به بقیه گیاهان هستند دارای قطر طوقه بیش‌تر، فاصله میان‌گره بیش‌تر و تعداد گل بالاتری بوده و در کل وضعیت عمومی مناسب‌تری می‌باشند.

تجزیه به عامل‌ها

تجزیه عامل‌ها با هدف مشخص نمودن عامل‌های اصلی به‌منظور کاهش تعداد صفت به تعدادی عامل موثر جهت تفکیک جمعیت‌ها انجام شد. در این بررسی هفت عامل اصلی توانستند در مجموع ۹۵/۴۷ درصد از تنوع صفات را توجیه کنند. عامل اول ۲۳/۲۲ درصد واریانس کل را به‌خود اختصاص داد و شامل صفات طول گل‌آذین اصلی، قطر طوقه، قطر ساقه، عرض گیاه، ارتفاع گیاه، تعداد گل در گل‌آذین اصلی و نسبت طول به عرض کپسول بود. هم‌چنین صفت عرض کاسبرگ و ترکیبات اسانس شامل، کاریوفیلن، آلفا هومولن و دلتا کادینن در عامل دوم قرار گرفتند که ۱۶/۶۶ درصد واریانس کل به آن‌ها اختصاص داشت. عامل سوم شامل طول اولین محور گل‌آذین، فاصله میان‌گره، ۵-متیل ۳- هپتانون و بتا پینن بود و حدود ۱۵/۷۳ درصد از واریانس کل را توجیه کرد (جدول ۶). این سه عامل اصلی توانستند ۵۵/۶۲ درصد واریانس کل را توجیه کنند. هم‌چنین عامل‌های چهارم، پنجم، ششم و هفتم که دارای مقادیر ویژه بالاتر از یک بودند و به‌ترتیب ۱۳/۴۱، ۹/۰۱، ۸/۹۴ و ۸/۴۹ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. که این نتایج با نتایج *ریاضی* و همکاران (2011) قابل مقایسه است. این محققین با بررسی ۳۹ صفت مورفولوژیکی گزارش کردند که چهار عامل اصلی در مجموع ۶۸/۹۹ درصد واریانس کل را توجیه نمودند که در گزارش آن‌ها صفاتی نظیر طول ساقه‌ی اصلی (ارتفاع گیاه)، طول گل‌آذین اصلی و فرعی، قطر ساقه، تعداد شاخه‌ها، تعداد میان‌گره‌ها، عرض گیاه، تعداد گل و برخی صفات مربوط به غدد تیره‌ی برگی در عامل اول قرار گرفتند که ۳۰/۴۲٪ واریانس کل را توجیه نمودند. هم‌چنین صفاتی نظیر طول و عرض برگ، کپسول و کاسبرگ و گلبرگ در عامل دوم بار عاملی بالایی نشان‌دادند. در هر دو بررسی ترکیبات عامل عامل اول اغلب مهم‌ترین صفات در گل راعی را شامل می‌شدند و وجوه مشترک بالایی در هر دو مطالعه نشان دادند. در واقع با مقایسه نتایج فوق می‌توان بیان نمود که خصوصیات مربوط به ارتفاع و عرض گیاه، تعداد گل و قطر ساقه بخش عمده واریانس کل را در مطالعات به خود اختصاص داده است. ترکیبات غالب اسانس در مطالعه‌ی حاضر نیز در محدوده‌ی جمعیت‌ها دارای واریانس بالایی بودند هم‌چنین وجود عامل‌های مستقل در هر گروه از صفات می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرد.

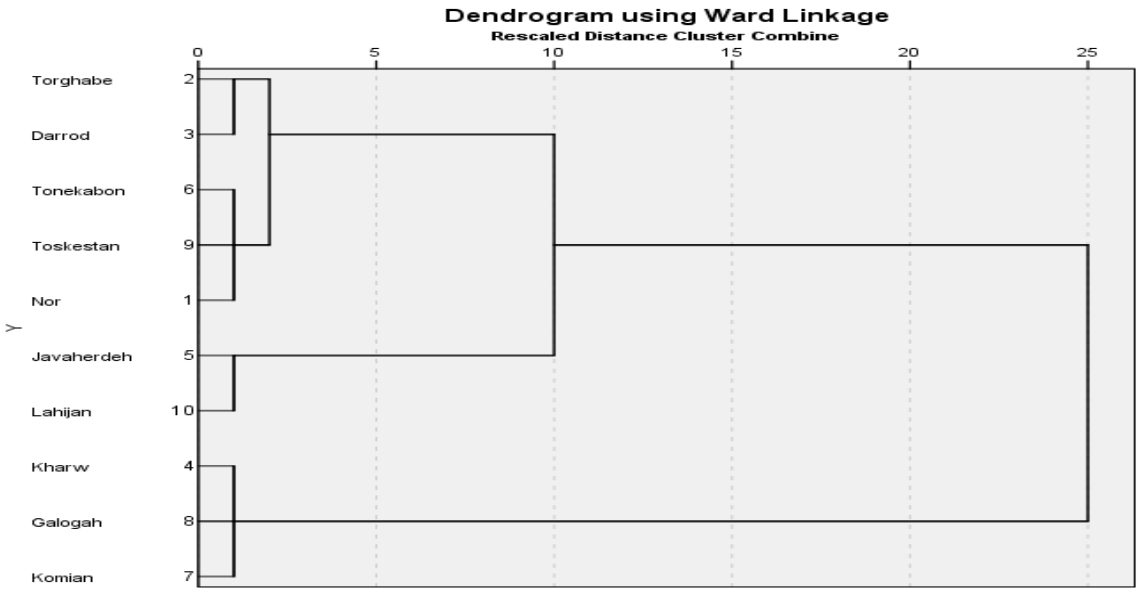
1. Roblek

www.SID.ir

تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها

تجزیه خوشه‌ای توانست جمعیت‌ها را از یکدیگر تفکیک کند. با توجه به دندروگرام تجزیه خوشه‌ای با روش *وارد* و بر اساس مربع فواصل اقلیدوسی و با در نظر گرفتن خط برش در ناحیه ده، جمعیت‌های گیاه گل راعی در سه گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل جمعیت‌های درود، مشهد، تنکابن، توسکستان و نور بودند که به‌طور متوسط در اکثر صفات حد واسط دو گروه دیگر بودند. گروه دوم شامل جمعیت‌های جواهرده و لاهیجان بود که از نظر قطر ساقه و طوقه، ارتفاع گیاه و تعداد شاخه‌ی گل‌دهنده فرعی مقادیر کمتری نسبت به بقیه گروه‌ها داشتند و گروه سوم متشکل از جمعیت‌های خرو، گلوگاه و آزادشهر بود که نسبت به سایر گروه‌ها از طول گل‌آذین، قطر ساقه و طوقه، عرض گیاه، ارتفاع و تعداد گل بیش‌تری برخوردار بودند. گروه یک نیز خود به دو زیر گروه تقسیم شد که دو جمعیت درود و مشهد در یک زیر گروه و بقیه در زیر گروه دوم قرار گرفتند. گیاهان زیر گروه اول دارای طول دم‌گل، طول گلبرگ، طول برگ، طول به عرض گیاه، طول و عرض کپسول و ارتفاع بالاتری نسبت به زیر گروه دوم بودند. در بیش‌تر موارد گروه‌های تشکیل شده در دندروگرام با منشا جمعیت‌ها از نظر جغرافیایی غیر منطبق بودند. در واقع صفات مورفولوژیکی، ترکیبات اسانس و پراکنش جغرافیایی گیاه گل راعی از الگوی خاص و مشابهی پیروی نکردند و جمعیت‌هایی با منشا جغرافیایی یکسان در گروه‌های مختلف قرار گرفتند که این نتایج با نتایج ریاضی و همکاران (2011) مطابقت داشت. بر اساس آنالیز خوشه‌ای می‌توان بهترین جمعیت‌ها و هم‌چنین فواصل (دوری) جمعیت‌ها را به‌منظور استفاده در امر اصلاحی مشخص نمود.

تفاوت‌های مشاهده شده در این مطالعه امکان گزینش گیاهانی با صفات مطلوب را به‌عنوان گیاهان مادری در طی برنامه‌های اصلاحی فراهم می‌سازد. به‌هر حال نتایج نشان دادند که از نظر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (اسانس) بین جمعیت‌های مورد مطالعه (آنالیزهای مقایسه میانگین، ضریب تنوع و ...) گیاه گل راعی در ایران تفاوت‌های زیادی وجود دارد. به‌طوری‌که جمعیت‌های گیاه گل راعی در ایران را می‌توان به‌عنوان ذخایر ژنتیکی ارزشمند و مواد اصلاحی اولیه در برنامه‌های اصلاحی به‌کار برد.



شکل ۱: تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف گیاه گل راعی بر اساس صفات اگرومورفولوژیکی و ترکیبات غالب اسانس

Fig. 1: Dendrogram generated by cluster analysis according to agro-morphological trait and most compounds of essential oil

www.SID.ir

منابع

Adams, R. P. 2001. Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA. Pp. 469.

Azadi, R. 1999. Flora of Iran, Guttiferae family, Research Institute of Forests and Rangelands, PP. 67.

Bergonzi, M. C., Bilia, A. R., Gallori, S., Guerrini, D. and Vincieri, F. F. 2001. Variability in the content of the constituents of *Hypericum perforatum* L. and some commercial extracts. Drug Development and Industrial Pharmacy, 27: 491-497.

Bertoli, A., Cirak, C. and Silva, J. A. T. 2011. *Hypericum* species as sources of valuable essential oil. Medicinal and aromatic plant science and biotechnology, 5: 29-47.

Cakir, A., Duru, M. E., Harmandar, M., Ciriminna, R., Passannanti, S. and Piozzi, F. 1997. Comparison of the Volatile Oils of *Hypericum scabrum* L.and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. Flavor and Fragrance Jornal, 12: 285-287.

Cirak, C., Radusiene, J., Karabuk, B., Janulis, V. and Ivanauskas, L. 2007. Variation of bioactive compounds in *Hypericum perforatum* growing in Turkey during its phenological cycle. Journal of Integrative Plant Biology, 49: 615-620

Crockett, S. 2010. Essential Oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). Natural Product Communications, 5(9): 1493–1506.

Deltito, J. and Bayer, D. 1998. The scientific, quasi-scientific and popular literature on the use of St. John's wort in the treatment of depression. Journal of Affective Disorders, 51, 345-351.

Donald, P. B. and Gawienowski, M. C. 2001. Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum* L. Plant Physiology and Biochemistery, 39: 1075 – 81.

Gartner, M., Muller, T., Simon, J. C., Giannis, A. and Sleeman, J. P. 2005. Aristoforin, a novel stable derivative of hyperforin, is a potent anticancer agent. Chemistry and Biochemistry, 6: 171–177.

Gianni, S. and Renato, B. 2009. Factors affectting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/Guttiferae). Molecules, 14: 682-725.

Glisic, S., Popadic, S. and Skala, D. 2006. St. John's Wort *(Hypericum perforatum* L.) supercritical extraction, antimicrobial and antidepressant activity of extract and their components. Chemical industry, 60: 61-72.

Gudzic, B., Dordevic, S., Palic, R. and Stojanovic, G. 2001. Essential oils *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum perforatum* L. Flavor and Fragrance Jornal, 16: 201–203.

Kosuth, J., Koperdakova, J., Tolonen, A., Hohtola, A. and Cellarova, E. 2003. The content of hypericins and phloroglucinols in *Hypericum perforatum* L. seedlings at early stage of development. Plant Science, 165: 515-521.

Kubin, A., Wierrani, F., Burner, U., Alth, G. and Grunberger, W. 2005. Hypericin – the facts about a controversial agent. Current Pharmaceutical Design, 11: 233–253.

Hosseini, S. A. and Dori, M. A. 2005. Establishment and top yield of *Hypericum perforatum* collected from Drazno and Garmabdasht in Golestan province. Iran. Medicinal and Aromatic Plants Jornal (Farsi), 20: 397 - 406.

Lebaschy, M. H. and Sharifi, E. 2004. Application of physiological growth indices for suitable harvesting of Hypericum perforatum. Pajouhesh and Sazandegi Jornal (Farsi), 65: 65 - 75.

Maggia, F., Ferrettib, G., Pocceschic, N., Menghinid, L. and Ricciutelli, M. 2004. Morphological, histochemical and phytochemical investigation of the genus *Hypericum* of the Central Italy Fitote(rapia), 4: 702–711.

Naghdi Badi, H. A., Ziaei, S. A., Baghalian, K. and Ahvazi, M. 2003. The comparison of different genotypes of *Hypericum perforatum*. The Project of Institute of Medicinal Plants Research, pp: 1 - 94.

Pluhar, Z., Rehak, O. and Németh, E. 2000. Comparative investigation on *Hypericum perforatum* L. populations of different origin. International Journal of Horticultural Science, (6) 1:56-60.

Radusienea, J., Judzentieneb, A. and Bernotieneb, G. 2005. Essential oil composition and variability of *Hypericum perforatum* L. growing in Lithuania. Biochemical Systematics and Ecology, 55:113–124.

Riazi, A., Majnoun Hosseini, N., Naghdi Badi, H., Naghavi, M. R., Rezazadeh, S. h. and Ajani. Y. 2011. The study of morphological characteristics of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) populations in Iran's natural habitats. Jornal of medicinal plant (Farsi), 39: 49–65.

Roblek, M., Germ, M., Sedej, T. T. and Gaberscik, A. 2008. Morphological and biochemical variations in St. John's wort, *Hypericum perforatum* L., growing over altitudinal and UV-B radiation gradients. Periodicum Biologorum, 110: 257 – 62.

Schwob, I., BessiereJ, M., Masotti, V. R. and Viano, J. 2006. Changes in essential oil composition in SaintJohn'swort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. Biochemical Systematics and Ecology, 32: 735–745.

Zanoli, P. 2004. Role of hyperforin in the pharmacological activities of St. John's Wort. CNS Drug Reviews, 10: 203–218.

Weising, K., Nybom, H., Wolf, K. and Kahl, G. 2005. DNA Finger Printing in Plants. Second edition. CRC Press, Taylor & Francis, pp. 444.

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluation of Some Population of *Hypericum perforatum* L. Using Agro-Morphological Traits and Most Components of Essential Oil

Ebadi[1], A., Morshedloo[2*], M. R., Fatahi Moghaddam[3], M. R. and Yazdani[4], D.

Abstract

Hypericum perforatum L. (St. John's wort) is a well-known species in the Genus *Hypericum* and the plant is widely used as an herbal drug for the treatment of mild to moderate depression disease. The present study was aimed to evaluate ten populations of *H. perforatum* using agro-morphological characteristics and some composition of essential oil. The main constituent of essential oil composition in this study was α- pinene, 2- methyl octane, delta-cadinene and γ-cadinene. The result showed the high and significant correlation coefficients among the most of measured characters including positive correlation between leaf area with inflorescence internode spaces (r= 0.771), plant width with inflorescence length (r= 0.894) and delta-cadinene with E-cariophyllene (r= 0.739). There was a negative correlation between length/width capsule with flower number in primary inflorescence (r= -0.8) and secondary inflorescence branches (r= 0.887). The result of factor analyses showed that seven independent and major factors, explain 95.47% of variation of all data and some traits such as inflorescence length, number of flower in main inflorescence, leaf area and length were attributed to main factors. This study showed that the highest number of flower was observed in the plants originated from Galogah region.

Keywords: Cluster analysis, Correlation, Essential oil, Genetic diversity, *Hypericum perforatum* L

Archive of SID

1 and 3. Professor and Associated Professor respectively, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Science and Engineering, University of Tehran, Karaj Campus.

2. Msc Student, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Science and Engineering, University of Tehran, Karaj Campus.

4. Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutics, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj.

*: Corresponding author Email: Morshedloo@ut.ac.ir

www.SID.ir