

ارزیابی صفات فیتوشیمیایی ۲۵ جمعیت گل‌راعی (*Hypericum perforatum L.*) در رویشگاه‌های طبیعی ایران

اعظم‌السادات ریاضی^{۱*}، ناصر مجنون‌حسینی^۲، حسنعلی نقدی‌بادی^۳، محمدرضا نقوی^۲ و شمسعلی رضازاده^۴

۱- نویسنده مسئول، دانش‌آموخته دکترا، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

پست الکترونیک: riaziiazam@yahoo.com

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۳- دانشیار، گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

۴- استادیار، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۲

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۱

چکیده

ترکیب‌های هیپریسین و هیپرفورین به‌عنوان مواد مؤثره اصلی گیاه دارویی گل‌راعی (*Hypericum perforatum L.*) مطرح هستند. در این تحقیق، تنوع صفات فیتوشیمیایی ۲۵ جمعیت گل‌راعی در رویشگاه‌های طبیعی ایران بررسی شد. نمونه‌برداری گیاهان به‌طور تصادفی در مرحله گلدهی کامل از استان‌های گلستان، مازندران، گیلان، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اردبیل، کردستان، همدان، کهگیلویه و بویراحمد، قزوین، زنجان، خراسان و تهران در بهار و تابستان سال ۱۳۸۹ انجام شد. نتایج نشان داد که در بین اندام‌های گل و برگ جمعیت‌ها از نظر میزان هیپریسین و هیپرفورین تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). گلها در مقایسه با برگ‌ها بیشترین میزان هیپریسین و هیپرفورین را داشتند. میزان هیپرفورین در هر دو اندام در مقایسه با میزان هیپریسین به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. ضرایب همبستگی ساده بین صفات، همبستگی مثبت معنی‌دار بین هیپریسین برگ با تعداد غده تیره رنگ و روشن در برگ و تعداد غده روشن در واحد سطح برگ و هیپرفورین برگ با هیپریسین برگ را نشان داد. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه شناسایی شدند که در مجموع ۶۶٪ از کل تنوع داده‌ها را توجیه نمودند. در تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌ها به سه گروه تقسیم شدند که با تنوع جغرافیایی آنها مطابقت نداشت. در کل نتایج نشان داد که تنوع بالایی بین جمعیت‌های گل‌راعی در رویشگاه‌های طبیعی ایران از نظر صفات فیتوشیمیایی وجود دارد که از این تنوع در برنامه‌های اصلاحی می‌توان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: فیتوشیمیایی، جمعیت، گیاه دارویی، گل‌راعی (*Hypericum perforatum L.*)، هیپریسین، هیپرفورین.

مقدمه

علفی و پایا بوده که در اروپا، غرب سیبری تا شمال غرب چین، آسیای صغیر، نواحی مدیترانه، شمال آفریقا، کانادا و استرالیا پراکنده شده‌است. گل‌راعی یکی از گیاهان دارویی است که جامع‌ترین تحقیقات روی آن در اروپای غربی انجام

هوفاریقون (گل‌راعی) با نام علمی *Hypericum perforatum L.* و اسم انگلیسی St. John's Wort از خانواده (Hypericaceae) یک گیاه چندساله ریزوم‌دار،

Fox و همکاران (۱۹۹۹) طی تحقیقاتی روی تأثیر میزان بارندگی در تابستان و میزان درجه حرارت در زمستان بر رشد و نمو گل‌راعی دریافتند که شرایط زمستان گرم و تابستان پرباران باعث ایجاد تغییراتی در عملکرد کمی و کیفی گل‌راعی گردید. آنها که گزارش کردند که زمستان گرم تأثیر مثبت در رشد سریع اولیه گیاه و تأثیر منفی روی ارتفاع بوته، گل‌آذین، گلدهی، تکثیر گیاه و میزان ترکیب‌های ثانویه داشت.

تحقیقات مختلف نشان داد که نوع جمعیت بر میزان متابولیت‌های ثانویه نیز تأثیر دارد و مشخص شد که گیاه گل‌راعی از نظر نوع متابولیت ثانویه ثبات داشته ولی نوسان میزان ترکیب‌های آن زیاد بوده و این ترکیب‌ها در جمعیت‌های مختلف با مقادیر متفاوت گزارش شده‌است. به طوری که تغییر در کمی هر ترکیب بستگی به پراکنش طبیعی آن دارد (نقدی‌بادی و همکاران، ۱۳۸۲). از آنجا که گونه‌های بومی گیاه گل‌راعی در هر منطقه از جمله مهمترین منابع ژنتیکی ارزشمند هر کشور می‌باشد، بررسی دقیق آنها از نظر میزان وجود مواد مؤثره اهمیت زیادی دارد. با توجه به اینکه کشت گل‌راعی در سال‌های اخیر رو به افزایش بوده ولی در زمینه ارزیابی صفات فیتوشیمیایی این گونه در ایران مطالعات جامعی انجام نشده است. بر همین اساس در این تحقیق تنوع صفات فیتوشیمیایی (هیپریسین و هیپرفورین) و همچنین تأثیر پارامترهای اقلیم، جغرافیایی و خاک بر صفات فیتوشیمیایی ۲۵ جمعیت گل‌راعی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

با توجه به پراکنش بسیار وسیع گل‌راعی (*Hypericum perforatum*) در ایران، ۲۵ جمعیت از استان‌های گلستان، مازندران، گیلان، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اردبیل، کردستان، همدان، کهگیلویه و بویراحمد، قزوین، زنجان، خراسان و تهران برای انجام تحقیق انتخاب شد. نمونه برداری گیاهان به طور تصادفی در مرحله گلدهی کامل در بهار و تابستان سال ۱۳۸۹ انجام شد. پس از جمع‌آوری اندام

شده است (Walker et al., 2001). از برجسته‌ترین خاصیت‌های دارویی گیاه گل‌راعی خاصیت ضدافسردگی، ضدویروسی و ضدباکتریایی آن می‌باشد که اهمیت آن را به طور قابل توجهی بالا برده و موجب مصرف گسترده آن در برخی کشورها شده‌است (Li & Fitzloff, 2001; Sirvent et al., 2002).

عصاره گل‌راعی از نظر ترکیب‌های شیمیایی به شش گروه تقسیم‌بندی شده است که شامل نفتودیاترون (هیپریسین و پسودوهیپریسین)، فلاونوئید (روتین، هیپروسید، ایزوکوئرستین، کوئرستین و کوئرستین)، فلوروگلوکوسینول (هیپرفورین و ادهیپرفورین)، بی‌فلاونوئید (بیایگنین-I3, II8 و بیایگنین-I3x, II8)، پروآنتوسیانیدین و اسید کلروژنیک است. اگرچه ترکیب‌های مؤثره بیولوژی مختلفی در این گیاه وجود دارد، ولی ترکیب‌های اصلی گیاه گل‌راعی شامل هیپرفورین و هیپریسین می‌باشد. استاندارد گل‌راعی شامل هیپریسین (۰/۳-۰/۵٪) و هیپرفورین (۳٪) است که معمولاً برای اندازه‌گیری کنترل کیفیت عصاره‌های استاندارد و داروی گیاهی استفاده می‌گردد (Li & Fitzloff, 2001; Bagdonaite et al., 2010).

محققان مختلف گزارش کرده‌اند که غده‌های تیره رنگ شاخص مناسب برای تعیین غلظت هیپریسین هستند و مشخص کردند که وجود غده‌های تیره رنگ روی برگ و گل ارتباط با صفات مورفولوژیکی و شیمیایی گل‌راعی دارد (Gawienowski & Briskin, 2001; Bagdonaite et al., 2001). طی مطالعاتی روی تأثیر شدت نور بر تعداد غده تیره رنگ در برگ دریافتند که با افزایش شدت نور، تعداد غده‌های تیره رنگ در برگ افزایش معنی‌داری پیدا کرد. آنها بیان کردند که تفاوت در میزان نور در مکان‌های مختلف و پارامترهای محیطی تأثیر بسزایی روی صفات مورفولوژیکی گل‌راعی دارند. همچنین Odabas و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی تأثیر میزان نور بر صفات فیتوشیمیایی گل‌راعی دریافتند که افزایش میزان نور باعث افزایش معنی‌دار در تجمع میزان هیپرفورین، هیپریسین و پسودوهیپریسین گردید.

یکی از روشهای دقیق اندازه‌گیری مطرح شده است (Azizi & Dias, 2003). دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Agilent مدل ۱۲۰۰ با گستره طول موج قابل تنظیم از ۱۹۰ تا ۷۵۰ نانومتر و محل تزریق دستی با حجم لوپ ۲۰ میکرولیتر بود. جداسازی‌ها در یک ستون تجزیه‌ای Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 با طول ۱۵ سانتی‌متر و قطر درونی ۴/۶ میلی‌متر انجام شد. برای فاز متحرک از متانول: استونیتریل: بافر فسفات ۳/۰٪ (۴۰:۵۰:۱۰) با شدت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. برای صحت اندازه‌گیری با استفاده از هیپرسیسین و هیپرفورین استاندارد منحنی کالیبراسیون در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این ترکیب‌ها تهیه و رابطه رگرسیونی آنها بدست آمد (شکل ۳). اندازه‌گیری‌ها در مرکز خدمات تخصصی آنالیز شیمیایی پژوهشکده توسعه صنایع شیمیایی ایران انجام شد. برای بررسی وجود یا عدم وجود رابطه بین متغیرها از ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورفولوژیکی (ارتفاع بوته، تعداد انشعابات، تعداد شاخه برگ‌دار، کوچکترین و بزرگترین طول ساقه فرعی، تعداد میان‌گره ساقه اصلی، قطر ساقه اصلی در محل طوقه، تعداد شاخه گل‌دار و شاخه بدون گل، ابعاد گل، گلبرگ، کاسبرگ، کپسول و گل‌آذین، ابعاد پایین‌ترین برگ، برگ میانی و بالاترین برگ، طول پنجمین میان‌گره، تعداد کل کپسول و گل، نسبت طول به عرض پایین‌ترین برگ، برگ میانی و بالاترین برگ، وزن تر و خشک گل، ساقه، برگ و کپسول، تعداد غده تیره رنگ و روشن در برگ و در واحد سطح برگ بالایی، میانی و پایین، تعداد غده تیره رنگ در گلبرگ، قطر گل قبل از باز شدن و کلروفیل برگ) بدست آمده از میانگین ۱۰ بوته و صفات فیتوشیمیایی استفاده گردید. برای درک روابط علت و معلول صفات فیتوشیمیایی از تجزیه به عامل‌ها و همچنین به منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس صفات فیتوشیمیایی از تجزیه خوشه‌ای با روش (UPGMA) استفاده شد. کلیه محاسبات آماری فوق با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، Excel و SPSS انجام شد.

هوایی (میانگین ۱۵-۱۰ بوته)، نمونه‌ها به مدت دو تا سه هفته در دمای اتاق حدود ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک طبیعی گردید. سپس تا زمان بررسی صفات فیتوشیمیایی در پاکت مات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دور از نور خورشید نگهداری شدند. از آنجا که مناطق انتخاب شده هر کدام از ویژگی‌ها و شرایط اقلیمی خاصی برخوردار بودند، به همین منظور از اطلاعات جغرافیایی و اقلیمی نزدیک‌ترین ایستگاه مربوط به محل نمونه‌برداری استفاده شد (جدول ۱). همچنین از بین شاخص‌های هواشناسی، پارامترهایی که بیشترین احتمال تأثیر را بر میزان عملکرد و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده عصاره داشتند، مورد توجه قرار گرفت. این پارامترها در جدول به‌طور سالیانه محاسبه و آورده شده است (جدول ۲). برای بررسی پارامترهای خاک (بافت خاک، نیتروژن، فسفر و پتاسیم، هدایت الکتریکی، درصد مواد آلی، درصد آهک و اسیدیته خاک) از هر منطقه، چهار نمونه خاک به‌طور تصادفی از عمق ۲۰-۱۵ سانتی‌متر برداشته و کاملاً با هم مخلوط گردید (جدول ۳).

برای بررسی صفات فیتوشیمیایی، یک گرم از پودر کاملاً خرد شده گیاه (برگ و گل) دو بار توسط ۸۰ و ۶۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۰ دقیقه عصاره‌گیری شد. سپس عصاره‌ها با هم مخلوط و بعد توسط دستگاه حذف حلال تغلیظ شدند. عصاره تغلیظ شده حدود ۲۵ میلی‌لیتر را با استفاده از متانول به حجم رسانده و بعد به بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتر منتقل گردیدند. در نهایت عصاره حاصل برای انجام آزمایش‌های تعیین مقدار هیپرسیسین و هیپرفورین در ظروف شیشه‌ای مات در یخچال نگهداری شدند. در این روش مشخص شد که کلروفیل موجود در عصاره مشکلی در ارزیابی صفات فیتوشیمیایی ایجاد نمی‌کند. بر همین اساس عمل کلروفیل‌زدایی انجام نشد (نقدی‌بادی و همکاران، ۱۳۸۲).

برای اندازه‌گیری ترکیب‌های هیپرسیسین و هیپرفورین از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) همراه با دتکتور آرایه دیودی (DAD) استفاده شد. این روش تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. به همین دلیل به‌عنوان

جدول ۱- منشأ جغرافیایی جمعیت‌های گل‌راعی جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران

جمعیت	نام منطقه (استان)	طول جغرافیایی (E)	عرض جغرافیایی (N)	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	جاده فیروزکوه به گدوک (تهران)	۵۲° ۵۷' ۲۹/۶"	۳۵° ۵۲' ۳۶/۳"	۱۹۰۲
۲	یل سفید به سنگده (مازندران)	۵۳° ۱۰' ۱۰/۵"	۳۶° ۰۴' ۴۲/۸"	۱۴۷۶
۳	بین زیرآب و شیرگاه (مازندران)	۵۲° ۵۳' ۴۰/۹"	۳۶° ۱۵' ۵۶/۰"	۳۲۲
۴	زیارت (گلستان)	۵۴° ۲۷' ۵۴/۷"	۳۶° ۴۰' ۵۳/۱"	۱۱۸۸
۵	آزاد شهر به طرف شاهرود (گلستان)	۵۵° ۱۶' ۵۸/۰"	۳۷° ۰۱' ۵۱/۳"	۴۵۵
۶	بین کلاله و روستای دهنه (گلستان)	۵۵° ۲۹' ۳۵/۱"	۳۷° ۲۴' ۵۰/۵"	۲۰۲
۷	سیاه بیشه (مازندران)	۵۲° ۲۱' ۲۶/۰"	۳۶° ۰۹' ۴۳/۰"	۵۵۸
۸	آسارا به کرج (تهران)	۵۱° ۱۱' ۱۳/۸"	۳۶° ۰۲' ۲۴/۸"	۱۸۶۴
۹	چیرنده-داماش-پاکده (گیلان)	۴۹° ۴۷' ۴۶/۲"	۳۶° ۴۴' ۰۰/۰"	۱۵۸۱
۱۰	ایستگاه ماکرویو-غرب رستم‌آباد (گیلان)	۴۹° ۰۱' ۰۶/۹"	۳۶° ۵۴' ۰۸/۹"	۵۱۴
۱۱	جاده کمربندی لاهیجان به آستانه (گیلان)	۵۰° ۱۰' ۱۰/۵"	۳۷° ۱۲' ۴۳/۰"	۲۰
۱۲	تالش (گیلان)	۴۸° ۵۴' ۳۴/۴"	۳۷° ۴۷' ۰۹/۴"	۵۳
۱۳	۲۰ کیلومتری نمین (اردبیل)	۴۸° ۳۶' ۱۵/۳"	۳۸° ۲۳' ۴۶/۷"	۹۶۶
۱۴	خلخال (اردبیل)	۴۸° ۴۶' ۳۹/۰"	۳۷° ۳۷' ۳۵/۱"	۱۸۲۹
۱۵	کلاردشت (مازندران)	۵۱° ۰۵' ۵۳/۹"	۳۶° ۳۱' ۱۵/۷"	۲۲۳۸
۱۶	نور (مازندران)	۵۱° ۵۲' ۵۴/۴"	۳۶° ۳۴' ۱۴/۷"	-۳
۱۷	الموت (قزوین)	۵۰° ۱۵' ۳۱/۱"	۳۶° ۲۵' ۱۲/۲"	۱۵۷۳
۱۸	طارم (زنجان)	۴۸° ۳۹' ۱۲/۴"	۳۶° ۵۲' ۱۶/۵"	۲۱۱۹
۱۹	نهادوند (همدان)	۴۸° ۱۳' ۲۶/۵"	۳۴° ۰۹' ۱۰/۵"	۱۶۶۹
۲۰	سی سخت به طرف چشمه میشی (کهکیلویه و بویراحمد)	۵۱° ۲۸' ۴۰/۳"	۳۰° ۵۱' ۳۵/۹"	۲۳۲۹
۲۱	بانه، ۳۰ کیلومتری سقز (کردستان)	۴۶° ۰۳' ۵۳/۳"	۳۶° ۱۰' ۱۳/۰"	۱۵۸۱
۲۲	عاشقلو به وانباق (آذربایجان غربی)	۴۶° ۴۶' ۱۰/۷"	۳۸° ۵۶' ۰۲/۰"	۱۲۹۴
۲۳	بین میانه و هشترود (آذربایجان شرقی)	۴۷° ۲۰' ۲۰/۲"	۳۷° ۲۵' ۵۴/۰"	۱۸۶۱
۲۴	چناران، مراوه تپه (گلستان)	۵۵° ۵۴' ۳۲/۳"	۳۷° ۴۵' ۰۱/۹"	۷۵۴
۲۵	دیزباد علیا (خراسان)	۵۹° ۱۷' ۱۴/۴"	۳۶° ۰۵' ۵۹/۴"	۱۷۳۸

جدول ۲- مشخصات متوسط بارندگی، درجه حرارت، رطوبت نسبی و ساعات آفتابی سالیانه و

نوع اقلیم ۲۵ جمعیت گل‌راعی

نوع اقلیم*	متوسط ساعات	متوسط رطوبت نسبی	متوسط دمای	متوسط بارش	جمعیت
	آفتابی سالیانه	سالیانه (%)	سالیانه (C°)	سالیانه (mm)	
نیمه‌خشک، معتدل	۳۰۵۶/۴	۵۱	۸/۹	۲۸۲/۴	۱
نیمه‌خشک با تابستان گرم و زمستان نسبتاً سرد	۱۹۹۰	۷۸	۱۷/۱	۴۰۷/۱	۲
نیمه‌مرطوب با تابستان گرم و زمستان نسبتاً سرد	۱۹۵۰	۸۲	۱۶/۹	۷۳۸/۷	۳
نیمه‌خشک، معتدل، گرم	۲۱۰۶/۸	۷۰	۱۷/۸	۶۰/۱	۴
نیمه‌خشک، معتدل، گرم	۲۱۰۶/۸	۷۰	۱۷/۸	۶۰/۱	۵
نیمه‌خشک، معتدل، گرم	۲۷۰۶/۳	۶۰	۱۷/۸	۳۷۰/۱	۶
نیمه‌مرطوب با تابستان معتدل و زمستان بسیار سرد	۱۹۵۹/۴	۶۳	۱۰/۵	۵۰۳/۴	۷
خشک، تابستان کمی گرم و زمستان نسبتاً سرد	۲۹۵۹/۷	۴۷	۱۴/۹	۲۴۳/۸	۸
نیمه‌خشک، معتدل، سرد	۲۷۱۰/۹	۶۲	۱۵/۶	۳۲۰/۳	۹
خشک، معتدل، سرد	۲۷۴۰/۹	۵۹	۱۷/۶	۲۰۹/۳	۱۰
نیمه‌مرطوب معتدل با تابستان گرم و زمستان سرد	۱۶۲۰/۷	۸۴	۱۵/۹	۱۳۵۹	۱۱
نیمه‌خشک معتدل با تابستان گرم و زمستان سرد	۱۶۲۰/۷	۸۴	۱۵/۹	۱۳۵۹	۱۲
مرز بین خشک و نیمه‌مرطوب، معتدل، سرد	۲۴۵۴/۳	۷۱	۹	۳۰۳/۹	۱۳
نیمه‌مرطوب، معتدل، سرد	۲۷۷۷/۲	۶۵	۸	۳۸۴/۶	۱۴
نیمه‌مرطوب، معتدل، سرد	۱۷۸۰/۲	۸۳	۱۶/۱	۱۲۹۳/۵	۱۵
نیمه‌مرطوب با تابستان گرم و زمستان نسبتاً سرد	۱۸۶۳/۳	۷۷	۱۷/۴	۷۰۲/۶	۱۶
نیمه‌خشک، معتدل، سرد	۲۹۵۵	۵۱	۱۴	۳۱۶	۱۷
نیمه‌خشک، معتدل	۲۸۴۳/۲	۵۴	۱۱	۳۱۳/۱	۱۸
نیمه‌خشک، معتدل، سرد	۳۲۶۰/۴	۴۵	۱۳/۸	۳۷۶/۲	۱۹
نیمه‌مرطوب، معتدل، سرد	۳۱۹۰/۸	۴۴	۱۵/۲	۸۶۴/۹	۲۰
نیمه‌مرطوب، معتدل، سرد	۲۸۸۴/۶	۴۴	۱۳/۷	۶۹۹/۳	۲۱
خشک، معتدل، سرد	۲۵۶۶/۷	۵۷	۱۰/۴	۲۹۴/۵	۲۲
خشک، معتدل، سرد	۲۸۹۱/۱	۵۱	۱۳/۷	۲۸۲/۱	۲۳
نیمه‌خشک، معتدل، گرم	۲۷۰۶/۳	۶۰	۱۷/۸	۳۷۰/۱	۲۴
خشک، معتدل، سرد	۳۰۷۲/۲	۴۹	۱۴/۲	۲۳۹/۸	۲۵

* میانگین دمای سالیانه در مناطق گرم، معتدل و خنک به ترتیب ۲۵-۱۵، ۱۵-۱۰ و ۵-۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

میانگین بارندگی سالانه در مناطق نیمه‌مرطوب، نیمه‌خشک و خشک به ترتیب ۱۴۰۰-۶۰۰ mm، ۶۰۰-۳۰۰ mm و ۳۰۰-۱۰۰ mm می‌باشد.

جدول ۳- پارامترهای فیزیکوشیمیایی خاک مناطق ۲۵ جمعیت گل‌راعی

فسفر (mgkg ⁻¹)	پتاس (mgkg ⁻¹)	نیترژن (mgkg ⁻¹)	بافت خاک	سیلت (%)	رس (%)	ماسه (%)	ماده آلی (%)	آهک (%)	هدایت الکتریکی (dsm ⁻¹)	اسیدیته خاک	جمعیت
۱۰/۷	۸۵/۴	۰/۱۲	S.C.L.	۲۵	۲۳	۵۲	۱/۶۳	۵۴	۱/۱۸	۸/۴	۱
۶/۴	۱۴۷	۰/۱۷	C.L.	۳۶	۳۶	۲۸	۱/۱۲	۱۸/۱	۰/۸۱	۸/۴	۲
۱۰/۱	۱۷۲	۰/۱۶	S.C.L.	۲۶	۲۴	۵۰	۲/۷۸	۲۱	۱/۱۱	۸/۳	۳
۸/۸	۳۰۷	۰/۲۶	C.L.	۳۶	۳۹	۲۵	۲/۹۴	۱۷/۵	۱/۱۵	۸/۴	۴
۵/۹	۱۸۶	۰/۱۴	C.L.	۳۶	۳۹	۲۵	۱/۶۳	۱/۹	۱/۱۵	۸/۴	۵
۳/۵	۱۳۰	۰/۱۱	S.I.C.L.	۵۴	۳۴	۱۲	۰/۹۲	۲۰/۶	۰/۶۵	۸/۳	۶
۹/۱	۱۳۹	۰/۱۳	S.C.L.	۲۶	۳۲	۵۲	۱/۷۵	۱/۳	۰/۸۲	۸/۴	۷
۱۲/۴	۱۵۶	۰/۱۱	C.L.	۲۶	۳۳	۴۱	۱/۲۲	۱/۳	۲/۱۱	۸/۳	۸
۲۵/۸	۳۲۶	۰/۳۳	C.L.	۳۳	۳۹	۲۸	۲/۵۵	۱/۹	۰/۷۸	۸/۴	۹
۷/۲	۲۰۰	۰/۱۸	C.L.	۳۳	۳۶	۳۱	۱/۸۳	۳۰/۵	۰/۷۱	۸/۴	۱۰
۳/۶	۲۴۰	۰/۱۳	S.C.L.	۱۷	۲۱	۶۲	۱/۳۶	۱/۴	۱/۳۶	۸/۳	۱۱
۲۹/۵	۳۰۰	۰/۱۸	L.	۳۲	۲۵	۴۳	۲/۲۱	۴/۵	۱/۲۸	۸/۴	۱۲
۱۹/۲	۲۷۶	۰/۱۱	S.L.	۱۶	۱۰	۷۴	۲/۲۸	۳/۲	۱/۳۱	۸	۱۳
۹/۹	۳۶۵	۰/۲۶	L.	۴۶	۲۲	۳۲	۲/۴۱	۱/۳	۰/۵۷	۷/۲	۱۴
۱۱/۹	۱۸۴	۰/۲۹	S.L.	۲۸	۱۹	۵۳	۴/۲۵	۱/۳	۱/۴۳	۷/۸	۱۵
۱۱/۷	۱۲۴	۰/۵۶	C.L.	۲۴	۳۵	۴۱	۶/۳۵	۲۸/۶	۱/۱۷	۸/۴	۱۶
۱۶/۷	۴۴۰	۰/۲۱	S.C.L.	۲۲	۲۲	۵۶	۲/۸۳	۷/۳	۱/۳۵	۸/۴	۱۷
۱۵/۹	۱۹۴	۰/۱۴	S.L.	۲۴	۱۸	۵۸	۱/۶۸	۱/۳	۰/۸۱	۷/۹	۱۸
۹/۵	۲۴۰	۰/۱۸	C.	۲۴	۴۸	۲۸	۲/۰۳	۱۵/۶	۰/۸۱	۸/۴	۱۹
۹/۵	۱۲۴	۰/۱۷	S.L.	۲۱	۱۸	۶۱	۲/۴۱	۴۴/۵	۱/۲۴	۸/۲	۲۰
۳/۲	۵۱/۸	۰/۱۹	S.L.	۱۸	۹	۷۳	۱/۱۷	۱/۳	۱/۶۳	۸/۲	۲۱
۶/۷	۱۳۹	۰/۱۰	C.L.	۳۲	۳۴	۳۴	۱/۲	۳۸/۷	۱/۳۱	۸/۳	۲۲
۶/۹	۱۸۰	۰/۳۵	S.C.L.	۲۶	۲۶	۲۶	۲/۹۵	۴/۸	۱/۶۶	۸/۱	۲۳
۳/۷	۱۲۶	۰/۰۷	S.I.C.L.	۵۴	۳۴	۳۴	۰/۷۳	۲۲/۹	۰/۵۶	۸/۴	۲۴
۵/۴	۷۴/۶	۰/۱۳	L.	۳۶	۲۰	۲۰	۱/۳۳	۱۵/۹	۰/۷۳	۸/۵	۲۵

نتایج

نتایج کروماتوگرافی نشان داد که تحت شرایط گرادیان ترکیب هیپریسین در حدود ۵۲: ۸ دقیقه در طول موج ۵۹۰ نانومتر و ترکیب هیپرفورین در ۳۹: ۱۰ دقیقه و با طول موج ۲۷۰ نانومتر شناسایی شدند (شکل ۱). طی مطالعه سطح جذب و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیپریسین و هیپرفورین استاندارد مشخص شد که برای هیپریسین رابطه $y = 19/48x - 133/23$ و ضریب رگرسیون $R^2 = 0/996$ و برای هیپرفورین رابطه $y = 8/37x + 24/83$ و ضریب رگرسیون $R^2 = 0/997$ صورت معادله خط مستقیم وجود داشت (شکل‌های ۲ و ۳). نتایج میزان هیپریسین و هیپرفورین در بین جمعیت‌های گل‌راعی نشان داد که تفاوت معنی‌دار در بین آنها از نظر میزان هیپریسین و هیپرفورین وجود داشت ($p < 0/05$). در بین اندام‌های گل و برگ تفاوت معنی‌دار از لحاظ میزان هیپریسین و هیپرفورین مشاهده گردید ($p < 0/05$). به طوری که مشخص شد که گل‌ها در مقایسه با برگ‌ها بیشترین میزان هیپریسین و هیپرفورین را دارند. همچنین نتایج نشان داد که میزان هیپرفورین در بین جمعیت‌ها در مقایسه با میزان هیپریسین به طور معنی‌داری بالاتر است (شکل‌های ۴ و ۵).

با مطالعه میزان هیپریسین برگ و گل مشخص شد که میزان آن در بین جمعیت‌ها بسیار متغیر است. به طوری که بالاترین میزان هیپریسین در برگ جمعیت منطقه تالش (۴/۰۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و کمترین میزان هیپریسین در برگ جمعیت منطقه زیارت-گلستان (۰/۲ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) مشاهده گردید. همچنین بیشترین و کمترین میزان هیپریسین گل به ترتیب برای جمعیت‌های مناطق لاهیجان (۴/۲۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و دیزبادعلیا-خراسان (۰/۱۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بدست آمد (شکل ۴).

طی بررسی نتایج میزان هیپرفورین مشخص شد که بالاترین میزان هیپرفورین برگ و گل به ترتیب در جمعیت‌های مناطق آزاد شهر-گلستان (۷۱/۸۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک برگ) و زیرآب-مازندران (۶۱/۵ میلی‌گرم

بر گرم ماده خشک) وجود داشت. در حالی که کمترین میزان هیپرفورین برگ و گل به ترتیب برای جمعیت‌های مناطق یل سفید-مازندران (۳/۲۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و بانه-کردستان (۱۴/۹۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) مشاهده گردید (شکل ۵).

نتایج ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی نشان داد که بین هیپریسین برگ با تعداد انشعابات ($r = 0/436$)، تعداد شاخه برگ‌دار ($r = 0/436$)، تعداد میان‌گره ($r = 0/436$)، تعداد شاخه بدون گل ($r = 0/424$)، تعداد غده تیره رنگ در برگ بالایی، میانی و پایین (به ترتیب $r = 0/480$ ، $r = 0/504$ و $r = 0/451$)، تعداد غده روشن در برگ بالایی ($r = 0/596$)، تعداد غده روشن در واحد سطح برگ بالایی و میانی (به ترتیب $r = 0/600$ و $r = 0/397$)، تعداد غده تیره رنگ در واحد سطح برگ بالایی و پایین ($r = 0/625$ و $r = 0/445$)، کلروفیل برگ ($r = 0/476$) و نسبت طول به عرض برگ میانی ($r = 0/425$)، هیپرفورین برگ با وزن خشک ساقه ($r = 0/510$)، هیپرفورین گل با تعداد غده تیره رنگ در برگ بالایی، میانی و پایین (به ترتیب $r = 0/672$ ، $r = 0/603$ و $r = 0/418$) و تعداد غده تیره رنگ در واحد سطح برگ بالایی ($r = 0/516$) و هیپریسین گل با وزن تر کیسول ($r = 0/431$) همبستگی معنی‌دار مثبت وجود داشت (جدول ۴).

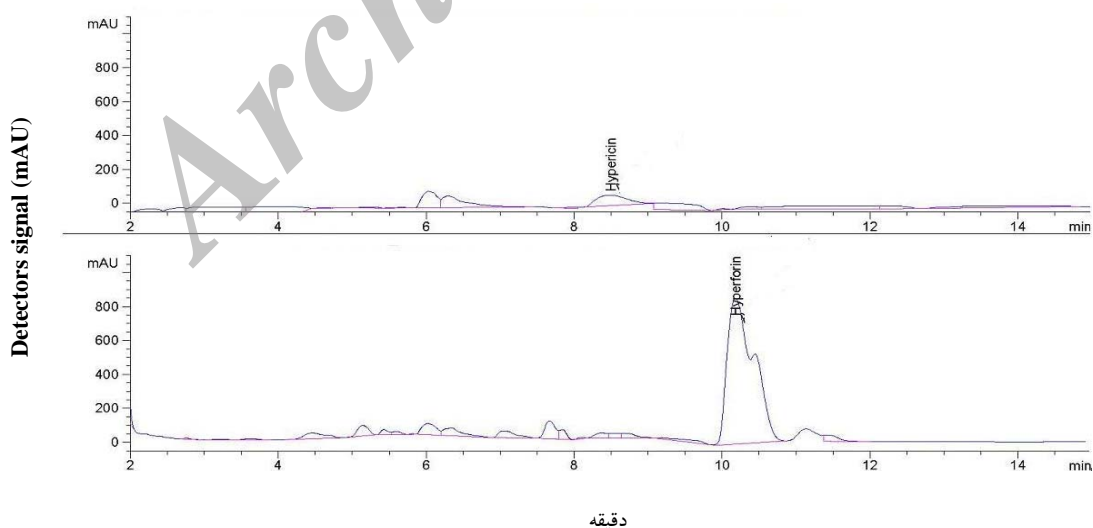
برای هیپریسین برگ با طول و عرض گل (به ترتیب $r = -0/543$ و $r = -0/499$) و طول گلبرگ ($r = -0/461$)، هیپرفورین گل با عرض گلبرگ ($r = -0/414$) و همچنین هیپریسین گل با وزن تر گل ($r = -0/418$) همبستگی معنی‌دار منفی مشاهده گردید (جدول ۴). نتایج ضرایب همبستگی ساده بین صفات فیتوشیمیایی نشان داد که بین هیپرفورین برگ با هیپریسین برگ ($r = 0/405$) همبستگی معنی‌دار مثبت وجود داشت (جدول ۵).

نتایج تجزیه به عامل‌ها نشان داد که چهار صفت فیتوشیمیایی در دو مؤلفه گروه‌بندی شدند که در مجموع ۶۵/۹۸٪ از تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمودند. در این جدول ضرایب عاملی به‌عنوان ضرایب معنی‌دار برای هر عامل مستقل در نظر گرفته شدند و توانستند بخش عمده‌ای از

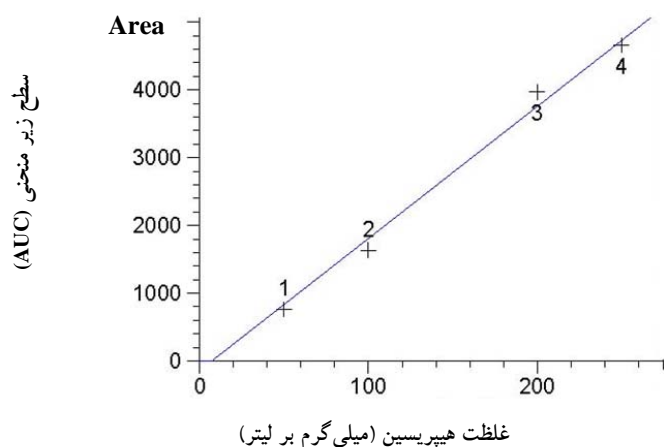
دیگر بدست آمد. در حالی که کمترین میزان هیپرفورین گل و برگ و هیپریسین گل در جمعیت‌های گروه دوم مربوط به استان‌های خراسان، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اردبیل، کردستان و همدان در مقایسه با جمعیت‌های دو گروه دیگر مشاهده گردید. همچنین براساس مقایسه‌ای که بین نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) و صفات فیتوشیمیایی انجام گردید، مشخص شد که گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس ارزیابی صفات فیتوشیمیایی با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت نداشت. به طوری که تنوع صفات فیتوشیمیایی و تنوع جغرافیایی آنها از الگوی معنی‌داری پیروی نکرد، به دلیل اینکه جمعیت‌هایی با منشأ جغرافیایی یکسان در گروه‌های مختلفی قرار گرفته‌اند (مانند جمعیت‌های ۲ و ۱۶) و یا بعکس، جمعیت‌هایی با منشأ جغرافیایی مختلف در یک گروه جای گرفتند (مانند جمعیت‌های ۹ و ۷). همچنین نتایج نشان داد که جمعیت‌های مربوط به استان‌های مازندران، اردبیل و گلستان در دسته‌های جداگانه قرار داشتند. بنابراین جمعیت‌های این مناطق بیشترین فاصله را از یکدیگر گرفتند که این نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌هاست (شکل ۶).

واریانس موجود را توجیه نمایند. براساس جدول تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، سهم مؤلفه اول ۳۸/۸۰٪ بود و با صفات هیپرفورین و هیپریسین برگ ضرایب مثبت و بالایی داشتند. همچنین در مورد مؤلفه دوم مشخص شد که با هیپرفورین گل ضریب مثبت و با هیپریسین گل ضریب منفی داشت و حدود ۲۷/۱۸٪ از کل واریانس را به خود اختصاص داد (جدول ۶). این صفات در واقع همان صفاتی هستند که در جدول ضرایب همبستگی ساده بین صفات دارای رابطه بسیار قوی با همدیگر هستند و قرار گرفتن آنها در یک گروه کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. از این رو، بر مبنای این مؤلفه‌ها مهمترین صفات در گیاه گل‌راعی محسوب می‌شوند (جدول ۵).

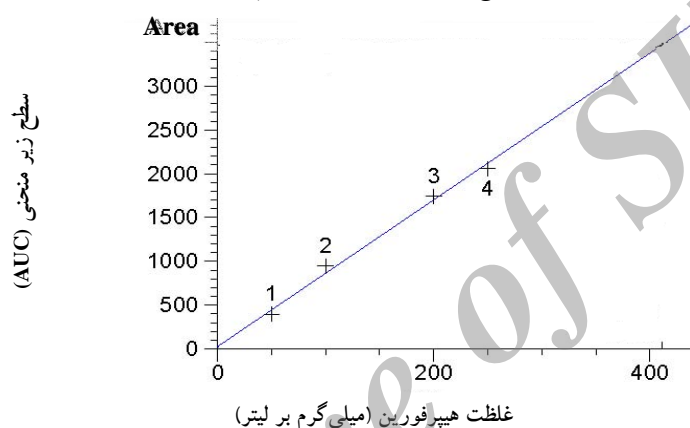
نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ۲۵ جمعیت گل‌راعی از نظر صفات فیتوشیمیایی به سه گروه تقسیم شدند و مشخص شد که جمعیت گروه اول مربوط به منطقه آزادشهر - گلستان از بیشترین میزان هیپرفورین برگ در مقایسه با جمعیت‌های گروه‌های دیگر برخوردار هست. همچنین بالاترین میزان هیپرفورین گل، هیپریسین برگ و گل در جمعیت‌های گروه سوم مربوط به استان‌های قزوین، مازندران، گیلان و گلستان نسبت به جمعیت‌های دو گروه



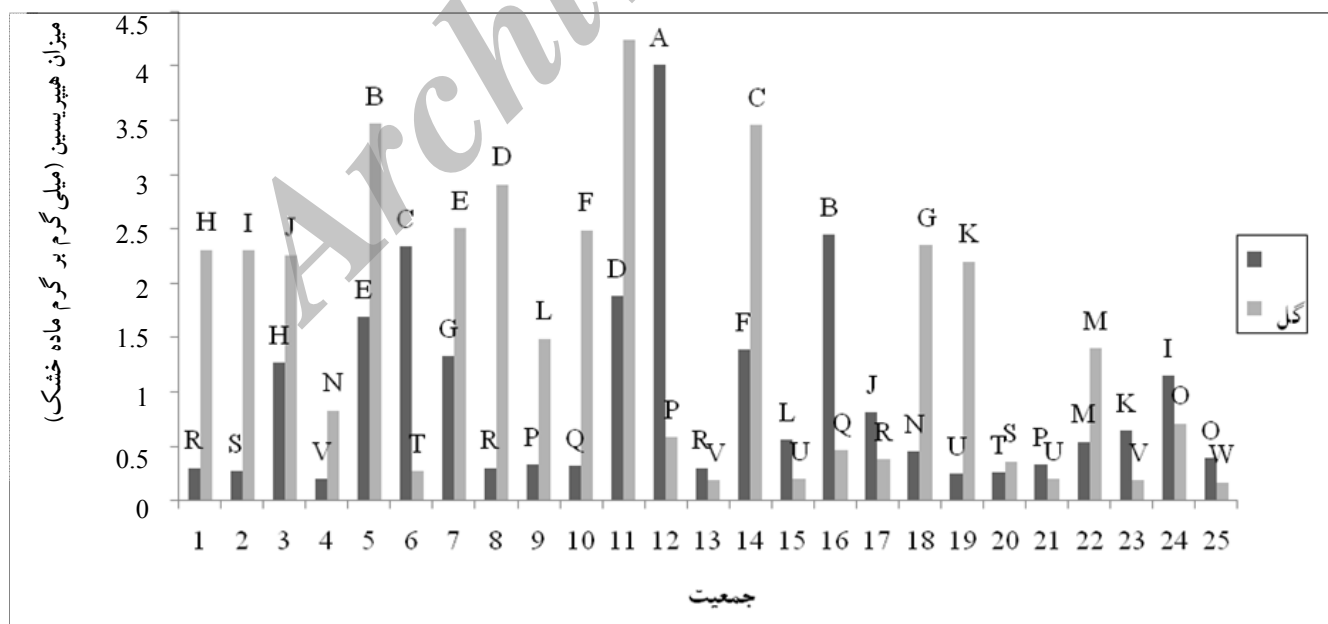
شکل ۱- کروماتوگرام استاندارد و عصاره گل‌راعی هیپریسین و هیپرفورین



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون ترکیب هیپرسیسین

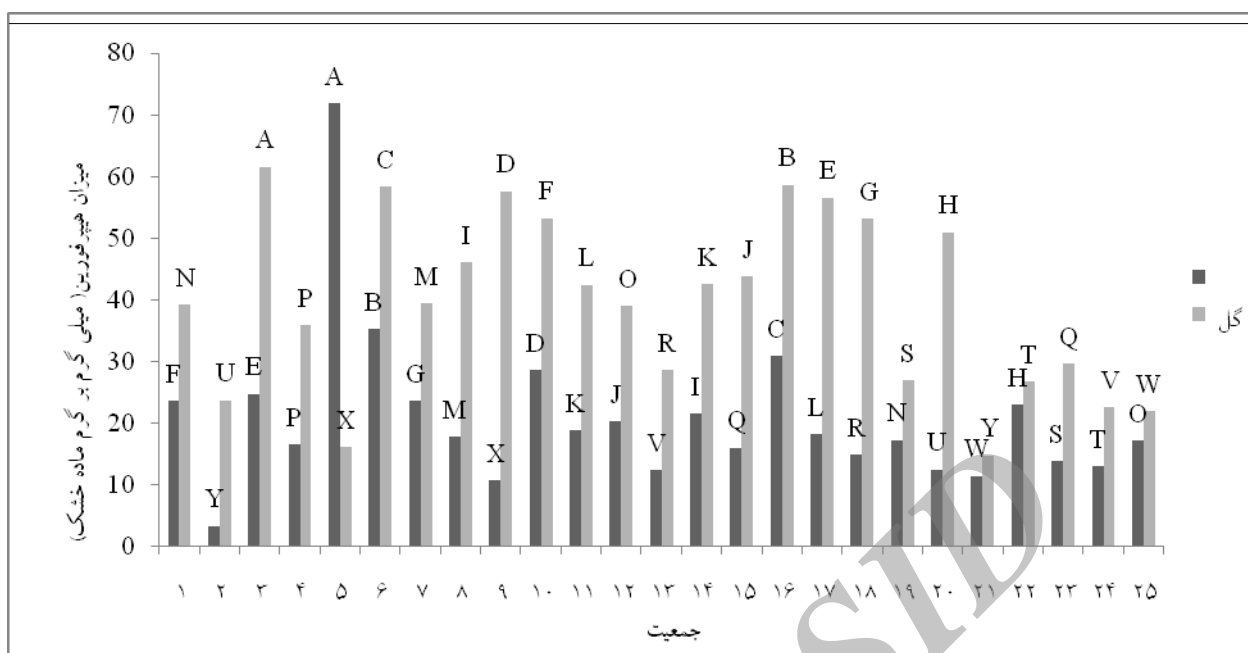


شکل ۳- منحنی کالیبراسیون ترکیب هیپرفورین



شکل ۴- میزان هیپرسیسین برگ و گل در ۲۵ جمعیت گل‌راعی

- حروف انگلیسی روی ستون‌ها نشان‌دهنده گروه‌بندی آماری براساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۵- میزان هیپرفورین برگ و گل در ۲۵ جمعیت گل‌راعی

- حروف انگلیسی روی ستون‌ها نشان‌دهنده گروه‌بندی آماری براساس آزمون دانکن می‌باشد.

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی ۲۵ جمعیت گل‌راعی

هیپرفورین گل	هیپرفورین برگ	هیپرسیسین گل	هیپرسیسین برگ	صفات
۰/۱۰۹	۰/۰۴۰	-۰/۲۶۴	۰/۲۴۵	ارتفاع بوته (cm)
۰/۲۱۹	-۰/۱۱۰	-۰/۲۳۷	۰/۴۳۶ *	تعداد انشعابات
۰/۰۳۹	-۰/۰۲۵	-۰/۲۱۸	۰/۴۳۶ *	تعداد شاخه برگ‌دار
۰/۱۰۳	۰/۰۷۵	۰/۲۱۹	۰/۲۴۲	کوچکترین طول ساقه فرعی (cm)
-۰/۰۹۰	۰/۰۳۵	-۰/۳۲۱	۰/۲۳۷	بزرگترین طول ساقه فرعی (cm)
۰/۰۱۸	-۰/۱۳۳	-۰/۳۱۶	-۰/۰۲۱	قطر ساقه اصلی در محل طوقه (mm)
۰/۲۱۹	-۰/۱۱۰	-۰/۲۳۷	۰/۴۳۶ *	تعداد میان‌گره ساقه اصلی
۰/۱۶۳	-۰/۲۲۲	-۰/۱۷۹	۰/۲۳۱	تعداد شاخه گل‌دار
۰/۰۲۵	۰/۰۸۲	-۰/۱۴۹	۰/۴۲۴ *	تعداد شاخه بدون گل
۰/۲۱۴	-۰/۰۶۱	-۰/۳۶۰	۰/۲۰۴	طول پایین‌ترین برگ (mm)
۰/۲۴۲	-۰/۱۹۸	-۰/۴۵۴ *	-۰/۰۸۷	عرض پایین‌ترین برگ (mm)
۰/۲۹۴	-۰/۰۹۱	۰/۳۳۹	۰/۱۹۷	طول برگ میانی (mm)
۰/۱۳۸	-۰/۲۹۸	-۰/۵۴۶ **	-۰/۱۵۴	عرض برگ میانی (mm)
۰/۰۴۳	-۰/۲۹۳	-۰/۳۷۰	-۰/۱۰۲	طول بالاترین برگ (mm)
۰/۰۷۷	-۰/۲۵۱	-۰/۳۶۸	-۰/۲۴۶	عرض بالاترین برگ (mm)
۰/۰۹۴	-۰/۰۶۷	-۰/۵۴۱ **	۰/۱۴۸	طول گل‌آذین (cm)
۰/۱۰۰	-۰/۰۸۱	-۰/۲۴۰	۰/۲۹۱	عرض گل‌آذین (cm)

ادامه جدول ۴-

هیپرفورین گل	هیپرفورین برگ	هیپرسیین گل	هیپرسیین برگ	صفات
-۰/۲۳۳	-۰/۴۱۱*	-۰/۲۴۵	-۰/۵۴۳ *	طول گل (cm)
-۰/۱۸۲	-۰/۴۱۷*	-۰/۲۵۷	-۰/۴۹۹ *	عرض گل (cm)
۰/۰۷۲	-۰/۳۸۷	۰/۱۸۵	-۰/۱۹۲	طول کاسبرگ (mm)
-۰/۰۴۵	۰/۰۳۴	-۰/۱۹۹	۰/۰۰۴	عرض کاسبرگ (mm)
-۰/۱۰۰	-۰/۲۶۳	-۰/۲۱۷	-۰/۴۶۱ *	طول کلبرگ (mm)
-۰/۴۱۴ *	-۰/۳۸۳	-۰/۰۹۶	-۰/۲۹۳	عرض کلبرگ (mm)
۰/۱۳۸	-۰/۱۰۰	-۰/۰۰۶	-۰/۰۵۹	طول کیسول (mm)
۰/۰۹۰	-۰/۲۶۵	-۰/۱۶۷	-۰/۲۲۵	عرض کیسول (mm)
۰/۶۷۲ **	۰/۲۹۸	۰/۲۱۵	۰/۴۸۰ *	تعداد غده تیره رنگ در برگ بالایی
۰/۶۰۳ **	۰/۲۵۹	۰/۱۰۱	۰/۵۰۴ *	تعداد غده تیره رنگ در برگ میانی
۰/۴۱۸ *	۰/۱۹۵	-۰/۲۱۹	۰/۴۵۱ *	تعداد غده تیره رنگ در برگ پایینی
۰/۱۹۲	۰/۲۵۷	۰/۲۸۶	۰/۱۲۵	تعداد غده تیره رنگ در گلبرگ
۰/۳۷۰	۰/۲۴۴	۰/۰۲۸	۰/۵۹۶ **	تعداد غده روشن در برگ بالایی
۰/۳۸۶	۰/۱۲۲	-۰/۰۸۷	۰/۳۵۴	تعداد غده روشن در برگ میانی
-۰/۰۹۸	-۰/۱۱۳	-۰/۱۹۳	۰/۱۳۲	تعداد غده روشن در برگ پایینی
۰/۱۶۶	۰/۱۶۷	-۰/۱۲۲	-۰/۰۴۸	طول پنجمین میان‌گره (cm)
-۰/۲۸۶	-۰/۲۱۹	-۰/۲۴۹	-۰/۰۳۰	تعداد کل کیسول
۰/۱۸۳	۰/۰۴۹	-۰/۲۲	۰/۱۲۰	تعداد کل گل
-۰/۱۳۱	-۰/۰۸۷	۰/۱۳۳	-۰/۱۵۱	قطر گل قبل از باز شدن (cm)
۰/۳۲۲	۰/۱۶۹	۰/۰۰۹	۰/۶۰۰ **	تعداد غده روشن در واحد سطح برگ بالایی
۰/۲۹۷	۰/۱۲۵	۰/۰۵۵	۰/۳۹۷ *	تعداد غده روشن در واحد سطح برگ میانی
۰/۲۷۹	۰/۱۲۵	۰/۰۵۵	۰/۳۷۰	تعداد غده روشن در واحد سطح برگ پایینی
۰/۵۱۶ **	۰/۳۰۱	۰/۱۶۲	۰/۶۲۵ **	تعداد غده تیره رنگ در واحد سطح برگ بالایی
۰/۳۴۱	۰/۲۰۰	۰/۰۶۰	۰/۳۴۹	تعداد غده تیره رنگ در واحد سطح برگ میانی
۰/۳۴۲	۰/۳۲۱	۰/۲۸۱	۰/۴۴۵ *	تعداد غده تیره رنگ در واحد سطح برگ پایینی
-۰/۲۳۶	۰/۳۷۳	-۰/۲۶۳	-۰/۱۰۸	وزن خشک برگ (gr)
-۰/۲۹۶	-۰/۱۴۴	-۰/۳۸۸	-۰/۱۸۷	وزن خشک گل (gr)
-۰/۲۴۴	۰/۵۱۰ **	-۰/۱۸۶	۰/۰۵۰	وزن خشک ساقه (gr)
-۰/۰۲۶	-۰/۰۹۲	۰/۴۳۱ *	-۰/۱۰۵	وزن خشک کیسول (gr)
-۰/۲۶۸	۰/۲۱۴	-۰/۲۷۹	-۰/۱۷۱	وزن تر برگ (gr)

ادامه جدول ۴-

هیپرفورین گل	هیپرفورین برگ	هیپرسیین گل	هیپرسیین برگ	صفات
-۰/۲۵۵	-۰/۱۹۱	-۰/۴۱۸ *	-۰/۱۷۲	وزن تر گل (gr)
-۰/۱۳۱	۰/۲۹۰	-۰/۰۲۶	۰/۰۰۰۱	وزن تر ساقه (gr)
-۰/۰۳۷	-۰/۰۹۲	-۰/۳۹۴	-۰/۱۵۸	وزن تر کپسول (gr)
-۰/۲۰۹	۰/۱۳۲	-۰/۱۳۶	۰/۴۷۶ *	کلروفیل برگ
-۰/۰۴۰	۰/۱۹۸	۰/۱۳۸	۰/۳۳۷	نسبت طول به عرض پایین ترین برگ
۰/۱۹۹	۰/۳۶۵	۰/۳۶۲	۰/۴۲۵ *	نسبت طول به عرض برگ میانی
-۰/۰۰۹	-۰/۰۳۲	۰/۲۴۳	۰/۲۹۶	نسبت طول به عرض بالاترین برگ

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

جدول ۵- ضرایب همبستگی ساده بین صفات فیتوشیمیایی ۲۵ جمعیت گل راعی

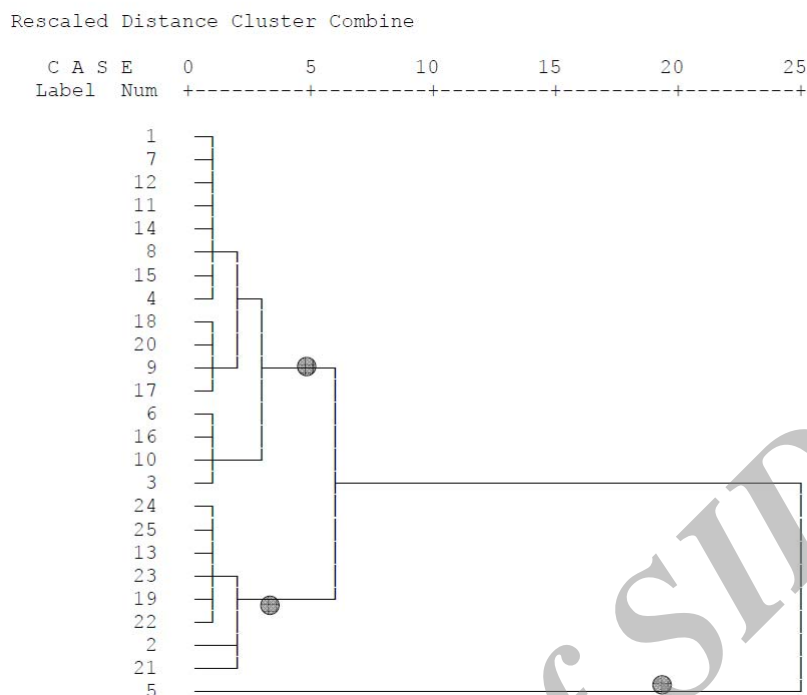
هیپرفورین گل	هیپرفورین برگ	هیپرسیین گل	هیپرسیین برگ	صفات
			۱	هیپرسیین برگ
		۱	۰/۰۱۹	هیپرسیین گل
	۱	۰/۳۲۳	۰/۴۰۵ *	هیپرفورین برگ
۱	-۰/۰۱۹	۰/۰۳۸	۰/۱۹۹	هیپرفورین گل

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

جدول ۶- بردارهای مشخصه، مقدار ویژه، نسبت واریانس توجیه شده توسط هر مؤلفه و نسبت تجمعی آن،

ضرایب همبستگی بین دو مؤلفه و صفات فیتوشیمیایی ۲۵ جمعیت گل راعی

مؤلفه دوم	مؤلفه اول	صفات
۰/۴۰۸	۰/۷۲۱	هیپرسیین برگ
-۰/۵۳۶	۰/۵۲۷	هیپرسیین گل
-۰/۲۵۷	۰/۸۲۷	هیپرفورین برگ
۰/۷۵۳	۰/۲۶۷	هیپرفورین گل
۱/۰۸	۱/۵۵	مقدار ویژه
۲۷/۱۸	۳۸/۸۰	درصد واریانس
۶۵/۹۸	۳۸/۸۰	درصد تجمعی



شکل ۶- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات فیتوشیمیایی گل‌راعی

بحث

بر اساس نتایج تحقیق قبلی مشخص شد که جمعیت‌های گل‌راعی به دو دسته باریک‌برگ و پهن‌برگ گروه‌بندی شدند. بررسی‌ها نشان داد که جمعیت‌های باریک‌برگ دارای بیشترین ارتفاع ساقه، تعداد غده تیره رنگ و روشن در برگ و در واحد سطح برگ، قطر ساقه اصلی، تعداد انشعابات، تعداد میان‌گره، تعداد شاخه گل‌دار و بدون گل، ابعاد گل‌آذین، برگ، گل، کاسبرگ و گلبرگ، تعداد کل گل و تعداد غده تیره رنگ در گلبرگ در مقایسه با جمعیت‌های پهن‌برگ هستند (Riazi *et al.*, 2011). همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که جمعیت‌های باریک‌برگ (مناطق زیرآب، سیاه بیشه، تالش، لاهیجان، آزادشهر، کلالة، سی سخت، جیرنده، الموت، نور، نهاوند، عاشقلو، میانه و ایستگاه ماکروویو) دارای بیشترین میزان هیپریسین و هیپرفورین برگ و گل در مقایسه با جمعیت‌های پهن‌برگ (مناطق فیروزکوه،

پل سفید، آسارا، زیارت، خلخال، کلاردشت، طارم، چناران، دیربادعلیا، نمین و بانه) هستند (شکل‌های ۴ و ۵).

Campbell و همکاران (۱۹۹۷) طی بررسی صفات مورفولوژیکی و شیمیایی جمعیت‌های گل‌راعی در مناطق جنوب والس نیز گزارش کردند که جمعیت‌های پهن‌برگ دارای ارتفاع کوتاه‌تر، گلدهی سریع، کیسول بزرگتر، ساقه ضخیم‌تر، میزان هیپریسین کمتر و تعداد غده کمتر روی برگ در مقایسه با جمعیت‌های باریک‌برگ هستند. همچنین طی مطالعه Southwell و Bourke (۲۰۰۱) روی میزان هیپریسین گل‌راعی مشخص شد که میزان هیپریسین در جمعیت پهن‌برگ حدود ۲۱۸-۸۵ قسمت در میلیون و در جمعیت باریک‌برگ حدود ۵۲۳-۲۲۹ قسمت در میلیون متغیر است. آنها بیان کردند که میزان هیپریسین در جمعیت‌های باریک‌برگ تقریباً ۷۵٪ بیشتر از جمعیت‌های پهن‌برگ است.

گل‌راعی ارتباط با فراوانی نسبی ساختار ترش‌چی و غده‌ها روی این اندام‌ها داشت.

نتایج میزان هیپریسین و هیپرفورین ۲۵ جمعیت گل‌راعی تحقیق حاضر نشان داد که جمعیت‌ها از نظر میزان هیپریسین و هیپرفورین تفاوت معنی‌داری با همدیگر داشتند ($p < 0.05$) و معلوم شد که میزان هیپریسین کل (برگ+گل) در بین جمعیت‌ها از ۰/۴۹ تا ۶/۱۲ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک و هیپرفورین از ۳۵/۵ تا ۹۳/۶۲ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک متغیر است. به طوری که بالاترین میزان هیپریسین و هیپرفورین کل به ترتیب در جمعیت‌های مناطق لاهیجان و کلاله وجود داشت (شکل‌های ۴ و ۵). طی بررسی Maron و همکاران (۲۰۰۷) روی جمعیت‌های مختلف گل‌راعی در مناطق مختلف آمریکا و اروپا مشخص شد که میزان هیپریسین در بین جمعیت‌ها بسیار متغیر است. به طوری که در جمعیت‌های شمال ارمنستان میزان هیپریسین بیشتری در مقایسه با اروپا مشاهده کردند. همچنین مطالعه Büter و همکاران (۱۹۹۸) در مورد تأثیر منطقه و جمعیت روی صفات فیتوشیمیایی گل‌راعی در مناطق استرالیا، نوا اسکوتیا و سوئزرلند نشان داد که منطقه و جمعیت اثر معنی‌داری روی میزان ترکیب‌های آن داشت و همچنین مشاهده کردند که تأثیر جمعیت روی میزان متابولیت ثانویه بیشتر بوده است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان هیپرفورین در مقایسه با میزان هیپریسین به‌طور معنی‌داری بالاتر است ($p < 0.05$) (شکل‌های ۴ و ۵). Bergonzi و همکاران (۲۰۰۱) نیز طی مطالعاتی روی میزان هیپریسین و هیپرفورین جمعیت‌های گل‌راعی در مناطق توسکانی دریافتند که در بین جمعیت‌ها میزان هیپریسین (۰/۱۱-۰/۰۵٪) و هیپرفورین (۲۰/۸۰-۱/۳۷٪) متغیر است. مطابق نتایج مشابه Walker و همکاران (۲۰۰۱) مشاهده شد که تنوع در میزان ترکیب‌های شیمیایی در گل‌راعی بستگی به فاکتورهای از جمله شرایط محیطی، موقعیت مکان رشد گیاه، تفاوت ژنتیکی، اندام گیاه و مرحله گلدهی داشت. براساس نتایج تحقیق حاضر مشخص شد که میزان هیپرفورین در

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین میزان هیپریسین و صفات مورفولوژیکی گل‌راعی وجود داشت. این نتایج با نتایج Bagdonaitė و همکاران (۲۰۰۷) نیز مطابقت داشت. همچنین بررسی‌های تحقیق حاضر نشان داد که ضرایب همبستگی مثبت معنی‌دار بین هیپریسین برگ با تعداد غده تیره رنگ در برگ و در واحد سطح برگ وجود داشت، به طوری که با افزایش تعداد غده تیره رنگ در برگ بر میزان هیپریسین برگ افزوده شد (جدول ۴). Çirak و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی میزان هیپریسین روی جمعیت‌های گل‌راعی در مناطق مختلف شمال ترکیه نیز گزارش کردند که میزان هیپریسین با تراکم غده تیره رنگ در برگ همبستگی مثبت داشت.

طی مطالعه Kitanov (۲۰۰۱) نیز روی جمعیت‌های گل‌راعی از سه گونه *Hypericum* مشخص شد که بین میزان هیپریسین و تعداد غده‌های تیره رنگ در برگ، ساقه، کاسبرگ، گلبرگ و پرچم در گونه‌های *Hypericum* ارتباط وجود داشت. همچنین تحقیقات Büter و Büter (۲۰۰۲) و Smelcerovic و همکاران (۲۰۰۸) روی جمعیت‌های مختلف گل‌راعی نشان داد که جمعیت‌های با تراکم غده بالاتر نسبت به جمعیت‌های با تراکم غده کمتر دارای میزان هیپریسین بالاتری هستند.

مطالعه نتایج میزان هیپریسین و هیپرفورین تحقیق حاضر مشخص نمود که تفاوت معنی‌داری در میزان هیپریسین و هیپرفورین اندام‌های برگ و گل وجود داشت ($p < 0.05$). به طوری که اندام‌های گل دارای میزان هیپریسین و هیپرفورین بیشتری در مقایسه با برگ‌ها بودند (شکل‌های ۴ و ۵). Campbell و Southwell (۱۹۹۱) نیز بیان کردند که میزان هیپریسین در گیاه گل‌راعی خیلی متغیر است و مشاهده کردند که در گل‌ها، بذر کپسول و بالاترین برگ این میزان بیشتر از ساقه و پایین‌ترین برگ است. نتایج آنها نشان داد که میزان هیپریسین در گل حدود ۵-۲٪، در برگ حدود ۵-۳٪ و در ساقه حدود ۰/۰۴٪ است. مطابق نتایج مشابه Cirak و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد که میزان بالای تجمع هیپریسین و هیپرفورین در اندام تولیدمثلی

بارندگی هر منطقه بود. همچنین آنها بیان کردند که ساعات آفتابی می‌تواند به‌عنوان یکی از عوامل افزایش این ماده مؤثره تلقی گردد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گل‌راعی یک گیاه گل‌دار بوده و اهمیت آن به دلیل وجود گل در سرشاخه است و هوای آفتابی می‌تواند باعث افزایش میزان هیپریسین در این گیاه گردد. بر همین اساس مشخص شد که گل‌راعی به دلیل روز بلندی نیاز به نور و حرارت بیشتری در هنگام گلدهی دارد. بدین سبب در مناطقی با نور و حرارت نسبتاً بالا، هیپریسین بیشتری تولید شد. این نتایج با نتایج Poutaraud و همکاران (۲۰۰۱) نیز مطابقت داشت.

مطابق نتایج مشابه Zobayed و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده شد که شرایط محیطی با درجه حرارت و نور نسبتاً بالا منجر به افزایش تعداد غده تیره‌رنگ در اندام گیاه گل‌راعی گردید و مشخص شد که این دو عامل نقش مهمی در تولید بیشتر هیپریسین در گیاه داشتند. همچنین بررسی آنها نشان داد که افزایش و یا کاهش در میزان نور و درجه حرارت منجر به تفاوت معنی‌دار در غلظت متابولیت ثانویه در گل‌راعی گردید، به طوری که تحت شرایط فعالیت فتوسنتزی و نور زیاد باعث افزایش جذب کربن و غلظت هیپریسین در برگ‌ها شد.

مطالعه پارامترهای خاک تحقیق حاضر نشان داد که تنوع بالایی در پارامترهای خاک در بین رویشگاه‌های طبیعی وجود داشت. به طوری که مشخص شد که بالاترین میزان هیپریسین و هیپرفورین در برگ و گل جمعیت منطقه تالش به دلیل بالا بودن میزان فسفر و پتاس خاک و کمترین میزان هیپریسین برگ و گل و هیپرفورین گل در جمعیت‌های مناطق بانه و پل سفید به دلیل پایین بودن میزان پتاس، فسفر و آهن خاک وجود داشت. بر همین اساس مشخص شد که فقر نسبی این عناصر غذایی در این نوع خاک‌ها منجر به کاهش تولید هیپریسین در این جمعیت‌ها گردید (جدول ۳ و شکل‌های ۴ و ۵). نتایج Azizi و Omidbaigi (۲۰۰۲) نیز روی تأثیر نیتروژن و فسفر بر میزان هیپریسین گل‌راعی مشخص نمود که وجود نیتروژن و فسفر در خاک باعث

مقایسه با میزان هیپریسین بیشتر تحت تأثیر نوع مکان و جمعیت گل‌راعی بود. این نتایج با نتایج Sagratini و همکاران (۲۰۰۸) نیز مطابقت داشت.

نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تحقیق حاضر نشان داد که میزان هیپریسین و هیپرفورین (برگ و گل) تفاوت معنی‌داری با همدیگر داشتند و به‌طور مشخصی از هم تفکیک شدند (جدول ۶). این نتایج با نتایج Bagdonaite و همکاران (۲۰۱۰) نیز مطابقت داشت. آنها بیان کردند که این تفاوت از نظر ترکیب‌های شیمیایی در بین جمعیت‌ها مربوط به نوع منطقه جمع‌آوری گیاهان بوده‌است.

بررسی پارامترهای اقلیم تحقیق حاضر مشخص نمود که نوع اقلیم روی صفات فیتوشیمیایی جمعیت‌های گل‌راعی تأثیر بسزایی داشتند. به طوری که میزان بالای هیپریسین برگ بیشتر تحت تأثیر متوسط رطوبت نسبی و بارندگی سالیانه و کمتر تحت تأثیر متوسط ساعت آفتابی و درجه حرارت سالیانه قرار داشت. همچنین مشخص شد که میزان بالای هیپرفورین برگ بیشتر بستگی به متوسط میزان ساعت آفتابی، درجه حرارت و بارندگی سالیانه دارد. همچنین مشخص شد که غلظت بالای هیپرفورین و هیپریسین گل با افزایش متوسط درصد رطوبت نسبی، بارندگی و درجه حرارت سالیانه ارتباط داشت (جدول ۲ و شکل‌های ۴ و ۵). مطابق نتایج مشابه Büter و همکاران (۱۹۹۸) و Bourke و Southwell (۲۰۰۱) مشخص شد که میزان هیپریسین بستگی به شرایط اقلیم هر منطقه داشت. به طوری که مشاهده شد میزان هیپریسین بیشتری در گیاه در شرایط مرطوب و خنک‌تر تولید شد. Cirak و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که علت متغیر بودن میزان هیپریسین در گیاه گل‌راعی به دلیل وجود تفاوت دمایی بین مکان جمع‌آوری نمونه‌هاست.

همچنین بررسی‌های Lebaschi و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که اکوسیستم‌های جمعیت گل‌راعی در مناطق گرگان، نوشهر، گیلان و خلخال دارای توانمندیهای متفاوتی از نظر تولید هیپریسین هستند. نتایج آنها نشان داد که افزایش میزان هیپریسین در گیاه گل‌راعی تحت تأثیر میزان

- (*Hypericum perforatum* L.). Acta Horticulturae, 576: 267-271.
- Bagdonaite, E., Zygmunt, B. and Radasiane, J., 2001. Morphological and chemical evaluation of St. John's wort *Hypericum perforatum* from Lithuania. Herba Polonica, 47: 294-303.
 - Bagdonaitė, E., Janulis, V., Ivanauskas, L. and Labokas, J., 2007. Ex situ studies on chemical and morphological variability of *Hypericum perforatum* L. in Lithuania. Biologija, 53(3): 63-70.
 - Bagdonaite, E., Mártonfi, P., Repcák, M. and Labokas, J., 2010. Variation in the contents of pseudohypericin and hypericin in *Hypericum perforatum* from Lithuania. Biochemical Systematics and Ecology, 38(4): 634-640.
 - 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.
 - Briskin, D.P. and Gawienowski, M.C., 2001. Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum*. Plant Physiology and Biochemistry, 39(12): 1075-1081.
 - Büter, B., Orlacchio, C., Soldati, A. and Berger, K., 1998. Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*. Planta Medica, 64(5): 431-437.
 - Büter, K.B. and Büter, B., 2002. Ontogenetic variation regarding hypericin and hyperforin levels in four accessions of *Hypericum perforatum* L. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 9(2-3): 95-100.
 - Campbell, M.H., May, C.E., Southwell, L.A., Tomlinson, J.D. and Michael, P.W., 1997. Variation in *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort) in New South Wales. Plant Protection Quarterly, 12: 64-66.
 - Çirak, C., Saglam, B., Ayan, A.K. and Kevseroglu, K., 2006. Morphogenetic and diurnal variation in some *Hypericum* species from Turkey during the course of ontogenesis. Biochemical Systematics and Ecology, 34: 1-13.
 - Çirak, C., Radusiene, J., Saglam, B. and Janulis, V., 2007. Variation of bioactive substances and morphological traits in *Hypericum perforatum* populations from Northern Turkey. Biochemical Systematics and Ecology, 35(7): 403-409.
 - Çirak, C., Radusiene, J., Janulis, V. and Ivanauskas, L., 2008. Pseudohypericin and hyperforin in *Hypericum perforatum* from the Northern of Turkey: variation among populations, plant parts and phenological stages. Journal of Integrative Plant Biology, 50(5): 575-580.
- افزایش میزان هیپریسین گیاه گردید. این نتایج با نتایج Conforti و همکاران (۲۰۰۵) نیز مطابقت داشت. Lebaschi و همکاران (۲۰۰۳) طی بررسی تأثیر نوع خاک روی میزان هیپریسین گل‌راعی در رویشگاه‌های مختلف گرگان، نوشهر، گیلان و خلخال دریافتند که پتاسیم نقش ویژه‌ای در افزایش میزان هیپریسین گیاه داشت. به همین دلیل گل‌راعی را به‌عنوان یک گیاه دارویی پتاس‌خوار معرفی کردند. با بررسی نتایج تحقیق حاضر مشاهده شد که محیط مناسب رشد گیاه گل‌راعی در خاک‌های غیرشور، آهکی و سبک با pH حدود ۷/۵-۸ و نور کافی است.
- در کل نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در هر یک از مناطق مورد مطالعه یک سطح ارتفاع مشخصی وجود داشت که ضمن فراهم‌سازی شرایط رشد مناسب، باعث تولید بیشترین میزان هیپریسین و هیپرفورین در این گیاه گردید. همچنین معلوم شد که علت تفاوت در میزان هیپرفورین و هیپریسین در اندام گیاهی (گل و برگ) در بین جمعیت‌های گل‌راعی به دلیل متنوع بودن شرایط هر منطقه از نظر پارامترهای جغرافیایی محل گیاه، ارتفاع از سطح دریا، نوع اقلیم، درجه حرارت، نور، بارندگی و خاک در شرایط رویشگاه‌های طبیعی بوده است. در مجموع بررسی‌ها نشان داد که بین جمعیت‌های گل‌راعی در رویشگاه‌های مختلف ایران تنوع بالایی از نظر صفات فیتوشیمیایی وجود دارد که از این تنوع در برنامه‌های به‌نژادی می‌توان استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

- نقدی‌بادی، ح.ع.، ضیایی، س.ع.، بقالیان، ک.، اهوازی، م. و خلیقی سیگارودی، ف.، ۱۳۸۲. مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف گیاه هوفاریقون. پروژه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، ۹۴ صفحه.
- Azizi, M. and Dias, A., 2003. The study on morphological characteristics of Iranian St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) and active substances content by HPLC-DAD. Agricultural Sciences and Technology, 17: 21-30.
- Azizi, M. and Omidbaigi, R., 2002. Effect of NP supply on herb yield, hypericin content and cadmium accumulation of St. John's Wort

- Riazi, A., Majnoun Hosseini, N., Naghdi Badi, H., Naghavi, M.R., Rezazadeh, Sh. and Ajani, Y., 2011. The study of morphological characteristics of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) populations in Iran's natural habitats. *Journal Medical Plants*, 10(39): 49-64.
- Sagratini, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Öztürk, N., Öztürk, Y. and Maggi, F., 2008. Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* taxa from central Italy. *Fitoterapia*, 79(3): 210-213.
- Sirvent, T.M., Walker, L., Vance, N. and Gibson, D.M., 2002. Variation in hypericins from wild populations of *Hypericum perforatum* L. in the Pacific Northwest of USA. *Economic Botany*, 56: 41-48.
- Smelcerovic, A., Zuehlke, S., Spitteller, M., Raabe, N. and Özen, T., 2008. Phenolic constituents of 17 *Hypericum* species from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(4): 316-319.
- Southwell, I.A. and Campbell, M.H., 1991. Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* in Australia. *Phytochemistry*, 30(2): 475-478.
- Southwell, I.A. and Bourke, C.A., 2001. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). *Phytochemistry*, 56(5): 437-441.
- Walker, L., Sirvent, T., Gibson, D. and Vance, N., 2001. Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum Perforatum* plants in the North Western United States. *Canadian Journal of Botany*, 79(10): 1248-1255.
- Zobayed, S.M.A., Afreen, F., Goto, E. and Kozai, T., 2006. Plant-environment interactions: accumulation of hypericin in dark glands of *Hypericum perforatum*. *Annals of Botany*, 98(4): 793-804.
- Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, R., Bianchi, A., Agrimonti, C., Sacchetti, G., Andreotti, E., Menichini, F. and Poli, F., 2005. Comparative chemical composition and variability of biological activity of methanolic extracts from *Hypericum perforatum* L. *Natural Product Research*, 19(3): 295-303.
- Fox, L.R., Ribeiro, S.P., Brown, V.K., Masters, G.J. and Clarke, I.P. 1999. Direct and indirect effects of climate change on St. John's Wort, *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). *Oecologia*, 120: 113-122.
- Kitanov, G.M., 2001. Hypericin and pseudohypericin in some *Hypericum* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(2): 171-178.
- Lebaschi, M.H., Matin, A. and Sharifi Ashourzabadi, E., 2003. Comparison of hypericin between natural and agroecosystems. *Pajouhesh-Va-Sazandegi (in Natural Resources)*: 16(2): 48-54.
- Li, W. and Fitzloff, J.F., 2001. High performance liquid chromatographic analysis of St. John's Wort with photodiode array detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 765: 99-105.
- Maron, J.L., Elmendorf, S.C. and Vilà, M., 2007. Contrasting plant physiological adaptation to climate in the native and introduced range of *Hypericum perforatum*. *Evolution*, 61(8): 1912-1924.
- Odabas, M.S., Radugienė, J., Camas, N., Janulis, V., Ivanauskas, L. and Çirak, C., 2009. The quantitative effects of temperature and light intensity on hyperforin and hypericins accumulation in *Hypericum perforatum* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(7): 519-525.
- Poutaraud, A., Di Gregorio, F., Fook Tin, V.C. and Girardin, P., 2001. Effect of light on hypericins contents in fresh flowering top parts and in an extract of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica*, 67(3): 254-259.

Phytochemical characteristics evaluation of 25 *Hypericum perforatum* L. populations in Iran's natural habitats

A. Riazi^{1*}, N. Majnoun Hosseini², H. Naghdi Badi³, M.R. Naghavi² and Sh. Rezazadeh⁴

1*- Corresponding author, Ph.D. Student, Department of Agriculture and Plant Breeding, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, E-mail: riaziazam@yahoo.com

2- Department of Agriculture and Plant Breeding, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Cultivation & Development Department of Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

4- Department of Pharmacognosy and Pharmacy, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

Received: October 2012

Revised: June 2013

Accepted: July 2013

Abstract

Hypericin and hyperforin compounds are considered as the main active constituents of *Hypericum perforatum* L. In this research, phytochemical variations of 25 St. John's Wort populations in Iran's natural habitats were investigated. Plants were sampled randomly at the full flowering stage from Golestan, Mazandaran, Gilan, East Azerbaijan, West Azerbaijan, Ardabil, Kurdistan, Hamedan, Kohgiluyeh and Boyr-Ahmad, Qazvin, Zanjan, Khorasan and Tehran provinces during the spring and summer of 2010. Results indicated that the differences in the amounts of hypericin and hyperforin of leaf and flower tissues were found to be significant among populations ($P < 0.05$). Flower tissues had more hypericin and hyperforin amounts as compared to leaf tissues. The amount of hyperforin in both tissues was higher than that of hypericin significantly. Simple correlation analysis showed positive significant correlations between leaf hypericin with dark and light glands density on the leaf and light glands density on the leaf surface area as well as positive significant correlation between leaf hyperforin and leaf hypericin. The principal components analysis indicated that the two components explained 66% of the total variance. The cluster analysis divided these populations into three groups with no consistency in their geographical distribution. In conclusion, the results indicated high variations of phytochemical characters among St. John's Wort populations in Iran's natural habitats, which can be utilized in the breeding programs.

Keywords: Phytochemical, population, medicinal plant, *Hypericum perforatum* L., hypericin, hyperforin.