

بررسی تنوع فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف جنس (*Salvia L.*) در استان آذربایجان غربی

پریناز جعفرپور^۱، علیرضا فرخزاد^{۲*}، ابوالفضل علیرضالو^۳، فاطمه نژادحبیب‌وش^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۳ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۴ استادیار گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۶ : تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۰

چکیده

مریم‌گلی (*Salvia L.*) یکی از مهمترین گیاهان تیره نعناعیان می‌باشد. از گذشته‌های دور، مریم‌گلی به علت داشتن خواص دارویی فراوان مورد توجه قرار گرفته است. هدف این پژوهش، اندازه‌گیری خصوصیات فیتوشیمیایی و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۸ گونه از گیاه مریم‌گلی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان آذربایجان غربی بود. در این تحقیق محتوای فنول کل (روش فولین سیکالتو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید)، کاروتنوئید کل، کلروفیل a و b (روش لیچن تالر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH) گونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نوع گونه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد روی خصوصیات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها داشت. بیشترین و کمترین میزان فنل کل به ترتیب در گونه‌ی *S. verticillata* (۳۹/۱۸ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) و *S. sylvestris* (۱/۰۹ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. بیشترین میزان فلاونوئید کل (۱/۷۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) در گونه *S. hydrangea* و بیشترین میزان کاروتنوئید کل (۱۶/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)، کلروفیل a (۲۶/۴۲ میلی‌گرم بر صدگرم وزن خشک) و کلروفیل b (۸۰/۱۰ میلی‌گرم بر صدگرم وزن خشک) به ترتیب در گونه‌های *S. verticillata*، *S. officinalis* مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به گونه‌های *S. hydrangea* (۸۹/۴۶ درصد) و *S. sylvestris* (۴/۶ درصد) بود. تجزیه خوشه‌ای به روش Ward، گونه‌ها را بر اساس خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی در سه گروه اصلی تقسیم نمود. در ارزیابی نتایج نشان داد که گونه‌های *S. bracteata*، *S. officinalis minimus*، *S. verticillata* به خصوص گونه *S. hydrangea* دارای خصوصیات ارزشمند دارویی هستند که با مطالعات تکمیلی می‌توان از این گونه‌ها در برنامه‌های به نژادی و بهره‌برداری از مواد موثره آنها در صنایع داروسازی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدانی، تجزیه خوشه‌ای، تنوع گونه‌ای، فیتوشیمیایی، مریم‌گلی

میلی مول اسیدگالیک بر میلی گرم عصاره) و میزان فلاونوئید کل از ۳/۱۲ تا ۵/۵۲ میلی مول کوئرستین بر میلی گرم عصاره) و همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به روش FRAP از ۱۰/۱ تا ۲۱/۲۷ میلی مول FeSO₄ بر میلی گرم عصاره و ۲/۷۹ تا ۴/۴۷ متغیر بوده است. آقایی جوانشاهی و همکاران (Aghaei Jeshvaghani et al., 2015) بیان داشتند که میزان فنل کل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی متفاوت می‌باشد. در نتایج آنها میزان فنل کل بین ۳۳ تا ۱۱۴ میلی گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک گزارش شد. در مطالعه انجام شده روی عصاره متانولی گیاه دارویی مریم‌گلی گونه *S. viridis* مشخص شده است که میزان فنل کل ۲۷۲/۲ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک و فلاونوئید کل به میزان ۱۸۷/۳ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک می‌باشد (Yazdinezhad and Malekzadeh, 2015). مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های مختلف مریم‌گلی نشان می‌دهد که برخی از این گونه‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشند (Tepe et al., 2006; Kelen and Tepe, 2008). امین‌زاده و همکاران (Aminzadeh et al., 2015) با تحقیق روی گونه *S. reuterana* نشان دادند که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی بیشتر از اسانس می‌باشد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH تا ۹۴ درصد در گونه *S. virgata* و ۱۵ درصد در گونه *S. persica* گزارش شده است (Aminzadeh et al., 2015).

با توجه به اینکه استان آذربایجان غربی یکی از مهم‌ترین مراکز تنوع گونه‌های مختلف گیاه دارویی مریم‌گلی می‌باشد و تاکنون مطالعات خاصی روی گونه‌های این جنس، جهت بهره‌برداری و استفاده در صنایع غذایی و داروسازی کشور انجام نگرفته است، همچنین به منظور جلوگیری از انقراض گونه‌های بومی و با ارزش دارویی بالا، حفظ و توسعه این ذخایر با

یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی موجود در دنیا که پراکنش جهانی دارد تیره نعناع (Lamiaceae) است. جنس مریم‌گلی (*Salvia L.*) بزرگ‌ترین جنس تیره نعنایان است و نزدیک به ۱۰۰۰ گونه دارد که بیشتر در آمریکای مرکزی و جنوبی، غرب و شرق آسیا پراکنش دارد. گونه‌های زیادی از این جنس در ایران رویش دارند که از میان آن‌ها ۱۷ گونه اندمیک می‌باشند (Rechinger, 1982). یکی از مهم‌ترین مراکز تنوع مریم‌گلی در ایران منطقه آذربایجان گزارش شده است (Najad Habib Vash and Hosseini, 2010). از گذشته‌های دور، مریم‌گلی به علت داشتن خواص دارویی فراوان مورد توجه بوده است که حاوی متابولیت‌هایی مختلف: ترپنوئیدها، انواع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب و استروئول‌ها می‌باشند که در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربردهای فراوانی دارند (Moazzami Frida et al., 2015). مطالعات نشان داده است که این متابولیت‌ها دارای فعالیت‌های زیستی و فارماکولوژیکی متعددی از قبیل اثرات ضد درد، تب‌بر، ضد باکتریایی، ضد اکسایشی، ضد دیابتی، گندزدایی، قابض، اسپاسمولیتیک، ضد سرطانی، ضد التهابی و ضد جهشی، ضد قارچی، ضد ویروسی، آنتی‌کالینرژیک و محافظت کبدی هستند. مریم‌گلی در صنایع غذایی به‌عنوان چاشنی و طعم‌دهنده در تولید نوشابه‌های دارویی استفاده می‌شود (Zargari, 1984).

ترکیب‌های فیتوشیمیایی گیاه دارویی مریم‌گلی بسیار پیچیده هستند، بطوریکه در بررسی که محمدیان و همکاران (Mohammadian et al., 2014) روی ترکیب‌های فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی سهندی در مراحل مختلف رشد و نموی (مرحله رویشی و گل‌دهی و بذر دهی) انجام دادند، مشاهده شد که میزان فنل کل در مراحل مختلف از ۰/۱۳ تا ۰/۲۳

ارزش ژنتیکی و اهلی سازی آن‌ها پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تنوع فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف مریم‌گلی در استان آذربایجان غربی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری مواد گیاهی: اندام‌های هوایی ۱۸ گونه مختلف مریم‌گلی در بهار سال ۱۳۹۵ (در مرحله گلدهی کامل) از مناطق مختلف استان آذربایجان غربی

جمع‌آوری و به گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل گردیدند. نمونه‌های گیاهی در سایه در دمای آزمایشگاه خشک گردید و تا انجام آزمایش‌ها در پاکت‌های کاغذی نگهداری شدند. شناسایی گونه‌های مریم‌گلی با استفاده از فلور مربوطه توسط متخصصین گیاهشناسی انجام گرفت. همچنین مختصات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه به وسیله دستگاه GPS تعیین و ثبت گردید (جدول ۱).

جدول ۱: مشخصات مناطق جمع‌آوری گونه‌های مختلف مریم‌گلی در استان آذربایجان غربی

ارتفاع (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	گونه	محل جمع‌آوری
۱۷۰۸	۴۴°۵۲'۰۷"	۳۷°۲۳'۰۷"	<i>S. atropatana</i>	رازان
۱۳۷۶	۴۵°۰۱'۵۰"	۳۷°۴۵'۲۰"	<i>S. hydrangea</i>	خانگاه سرخ
۱۷۹۷	۴۴°۳۶'۵۸"	۳۷°۳۴'۵۸"	<i>S. syriaca</i>	مارمیشو
۱۳۴۴	۴۵°۰۱'۲۹"	۳۷°۵۸'۴۲"	<i>S. grogosh</i>	قوشچی
۱۴۱۲	۴۶°۳۳'۴۸"	۳۶°۴۱'۲۷"	<i>S. russelii</i>	میان‌دوآب
۱۵۲۲	۴۵°۳۶'۲۸"	۳۶°۴۴'۵۳"	<i>S. bracteata</i>	نقده (ماسو)
۱۳۶۴	۴۴°۵۵'۳۷"	۳۷°۳۹'۲۳"	<i>S. scalara</i>	ارومیه
۱۳۶۴	۴۴°۵۵'۳۷"	۳۷°۳۹'۲۳"	<i>S. officinalis</i>	ارومیه
۱۳۴۴	۴۴°۳۶'۵۸"	۳۷°۳۴'۵۸"	<i>S. macrochlamys</i>	مارمیشو
۱۳۷۶	۴۵°۰۱'۵۰"	۳۷°۴۵'۲۲"	<i>S. limbata</i>	خانگاه سرخ
۱۲۹۸	۴۴°۲۸'۲۰"	۳۹°۱۶'۵۰"	<i>S. sylvestris</i>	ماکو
۱۲۹۸	۴۴°۲۸'۲۰"	۳۹°۱۶'۵۰"	<i>S. verticillata</i>	ماکو
۱۴۴۱	۴۵°۰۷'۰۰"	۳۷°۱۸'۲۴"	<i>S. nemorosa</i>	خان دره سی
۱۷۹۷	۴۴°۳۶'۵۸"	۳۷°۳۴'۵۸"	<i>S. pocalata</i>	مارمیشو
۱۸۹۳	۴۵°۰۹'۲۷"	۳۷°۱۵'۵۱"	<i>S. multicaulis</i>	نژدره سی
۱۲۹۸	۴۴°۲۸'۲۰"	۳۹°۱۶'۵۰"	<i>S. uliginosa</i>	ماکو
۱۳۶۴	۴۴°۵۵'۳۷"	۳۷°۳۹'۲۳"	<i>S. officinalis minimus</i>	ارومیه
۱۳۸۳	۴۵°۲۲'۲۶"	۳۶°۵۵'۰۸"	<i>S. aethiops</i>	نقده (سلطان یعقوب)

دستگاه اولتراسونیک با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جهت عصاره‌گیری قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از فیلتراسیون جهت ارزیابی های فیتوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند (Alirezalu et al., 2015).

عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی: از نمونه‌های گیاهی خشک شده (برگها) برای عصاره‌گیری استفاده شد. یک گرم از هر نمونه گیاهی پودر و در فالكون ۵۰ سی‌سی ریخته و ۲۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف مریم‌گلی با استفاده از روش DPPH انجام گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ۱۵ میکرولیتر از عصاره متانولی ۵ برابر رقیق شده هر نمونه در یک لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲ میلی‌لیتر از محلول DPPH اضافه شد. لوله‌های آزمایشی در دمای اتاق (۲۵ درجه) به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Mashayekhi and Atashi, 2014). اعداد قرائت‌شده از جذب نمونه توسط رابطه ۱ به درصد مهار تبدیل شد:

$$RSA = \frac{(Abs\ control)_t = 30\ min - (Abs\ sample)_t = 30\ min}{(Abs\ control)_t = 30\ min} \times 100$$

Abs control: میزان جذب شاهد

Abs sample: میزان جذب نمونه

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت. از آزمون حداقل معنی‌داری (LSD) برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. کلاستر بندی داده‌ها (بر اساس روش Ward) و معیار مربع فواصل اقلیدسی) و تجزیه به مولفه‌های اصلی با استفاده از نرم افزار Minitab انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه نشان داد که نوع گونه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد روی خصوصیات فیتوشیمیایی (فنل و فلاونوئید کل، کلروفیل a و b، کارتنوئید کل) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مریم‌گلی دارد (جدول ۲).

اندازه‌گیری فنل کل: از معرف فولین سیوکالتیو برای اندازه‌گیری میزان فنل کل گونه‌های مختلف مریم‌گلی استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی ۸۰ درصد برداشته و به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱/۶ میلی‌لیتر آب دی یونیزه به ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه رقیق‌شده اضافه شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر فولین به مخلوط افزوده و بعد از ۵ دقیقه به آن ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه شد و در نهایت با آب دی یونیزه به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه‌ها به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (UV2100 PC) قرائت شد. منحنی استاندارد بر اساس اسیدگالیک، ترسیم و نتایج به صورت میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک گزارش شد (Ebrahimzadeh et al., 2008).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل از معرف آلومینیوم کلراید استفاده شد. ابتدا به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد قرائت گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرتستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرتستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).

اندازه‌گیری کلروفیل a و b و کاروتنوئید کل: برای اندازه‌گیری کلروفیل (a و b) و کاروتنوئید از متانول خالص استفاده شد. پس از عصاره‌گیری، جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۶ و ۶۵۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت‌شده و با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید.

$$Cl_a = 15/65A666 - 7/34A653$$

$$Cl_b = 27.05A653 - 11/21A666$$

$$Car = 1000 A470 - 286 Ca - 129.2 Cb/245$$

جدول ۲: تجزیه واریانس خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی مریم‌گلی در گونه‌های مختلف

میانگین مربعات						درجه	منبع
فعالیت	کارتونوئید کل	کلروفیل b	کلروفیل a	فلاونوئید کل	فنل کل	آزادی	تغییرات
آنتی‌اکسیدانی							
۳۳۲۵۷/۲۷**	۷۶۶/۴۶**	۲۵۰۲۲/۱۳**	۲۸۰۶/۹۷**	۷/۶۴**	۶۰۷۴/۴۷**	۱۷	گونه
۷۲۹/۶۹	۳/۸۴	۲۵۰۲۲/۱۳	۸۵/۲۲	۰/۲۵	۳۴/۴۷	۳۶	خطا
						۵۳	کل
۱۰/۲	۴/۸۳	۶/۹۳	۱۱/۶۸	۱۰/۹۳	۵/۹۳		CV(%)

**معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان فنل کل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی از ۱/۹ تا ۳۹/۱۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک متغیر می‌باشد. بیشترین میزان فنل کل در گونه *S. verticillata* (۳۹/۱۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و کمترین میزان فنل کل در گونه *S. sylvestris* (۱/۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. از نقطه نظر فنل کل اختلاف معنی‌داری بین گونه‌های *S. atropatana* و *S. syriaca* و *S. russelii* مشاهده نشد (جدول ۳).

بیشترین (۲۶/۴۲ mg/100g DW) و کمترین (۲/۴۸ mg/100g DW) میزان کلروفیل a به ترتیب در گونه‌های *S. verticillata* و *S. aethiops* مشاهده شد. گونه‌های *S. atropatana* و *S. sylvestris* و *S. uliginosa* تفاوت معنی‌داری از لحاظ کلروفیل a نداشتند. همچنین بیشترین (۸۰/۱۰ mg/100g DW) میزان کلروفیل b در گونه‌ی *S. officinalis* و کمترین (۱/۷۸ mg/100g DW) مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گونه‌های *S. verticillata* و *S. hydrangea* و *S. scalara* اختلاف معنی‌داری از نظر کلروفیل b نداشتند (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان فنل کل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی از ۱/۹ تا ۳۹/۱۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک متغیر می‌باشد. بیشترین میزان فنل کل در گونه *S. verticillata* (۳۹/۱۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و کمترین میزان فنل کل در گونه *S. sylvestris* (۱/۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. از نقطه نظر فنل کل اختلاف معنی‌داری بین گونه‌های *S. atropatana* و *S. syriaca* و *S. russelii* مشاهده نشد (جدول ۳).

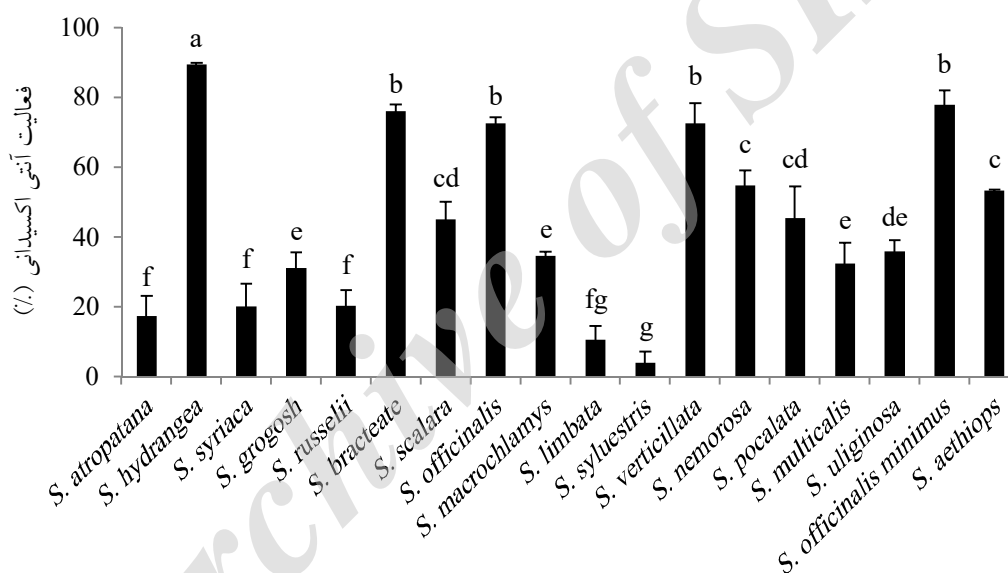
دامنه تغییرات میزان فلاونوئید کل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی از ۰/۱۱ تا ۱/۷۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک متفاوت بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید کل در گونه‌ی *S. hydrangea* (۱/۷۱ mg/g DW) و کمترین میزان فلاونوئید کل در گونه‌ی *S. sylvestris*

جدول ۳: خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف مریم‌گلی در استان آذربایجان غربی

گونه	فنل کل (mg/g DW)	فلاونوئید کل (mg/g DW)	کارتونوئید کل (mg/g DW)	کلروفیل a (mg/100g DW)	کلروفیل b (mg/100g DW)
<i>S. atropatana</i>	۸/۱۳jk	۰/۵۸ ef	۴/۴۴g	۱۲/۲۱cde	۱۲/۲۸jkl
<i>S. hydrangea</i>	۳۵/۰۸b	۱/۷۱a	۱۲/۵۴b	۱۶/۲۱b	۲۴/۹۱ef
<i>S. syriaca</i>	۹/۳۴ij	۰/۵۷ ef	۳/۵۵h	۲۳/۸a	۴۰/۵۲d
<i>S. grogosh</i>	۱۰/۹۲i	۰/۵۳fg	۴/۵۳g	۹/۵۰ efg	۹/۰۸l
<i>S. russelii</i>	۷/۳۵jk	۰/۶۷ef	۵/۱۱g	۴/۹۸hij	۱۱/۷۵kl
<i>S. bracteata</i>	۲۰/۶۲f	۰/۹۵c	۴/۴۶g	۷/۵۴gh	۹/۵۷l

۲۶/۲۰ e	۲۳/۳۵a	۷/۳۷de	۱/۰۵c	۲۳/۷۸de	<i>S. scalara</i>
۸۰/۱a	۷۴/۵ghi	۱۱/۹۲b	۰/۹۹c	۲۴/۶۳d	<i>S. officinalis</i>
۱۵/۰۱ijk	۱۵/۲۴bc	۴/۹۷g	۰/۶۵ef	۱۶/۷۸g	<i>S. macrochlamys</i>
۱۸/۷۲ghi	۲۴/۱۴a	۵/۱۱g	۰/۳۳h	۴/۷۴l	<i>S. limbata</i>
۱۵/۷۶hij	۱۲/۶۴bcde	۰/۹۸i	۰/۱۱i	۱/۰۹m	<i>S. syluestris</i>
۲۸/۲۷ e	۲۷/۴۲a	۸/۰۹d	۰/۹۸c	۳۹/۱۸a	<i>S. verticillata</i>
۵۹/۹۶c	۸/۲۹fgh	۹/۶۳c	۱/۰۳c	۲۰/۳۸f	<i>S. nemorosa</i>
۱۹/۳۸gh	۱۳/۷۹bcd	۳/۷۱h	۱/۲۷b	۲۷/۹۲c	<i>S. pocalata</i>
۶۷/۹۹b	۱۵/۵۹bc	۱۶/۹۴a	۰/۷۴de	۱۳/۱h	<i>S. multicaulis</i>
۲۱/۰۸fg	۱۱/۳۶def	۷/۴f	۰/۳۷gh	۷/۵۱k	<i>S. uliginosa</i>
۴/۰۴m	۳ij	۷/۹۸ef	۰/۸۸cd	۲۲/۱۰ef	<i>S. officinalis minimus</i>
۱/۷۸m	۲/۴۸j	۴/۷۴g	۰/۳۶gh	۵/۱۶l	<i>S. aethiops</i>

میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای انکن ندارند.



شکل ۱: مقایسه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف مریم‌گلی به روش DPPH

ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای انکن ندارند.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان کارتنوئید کل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی از ۰/۹۸ تا ۱۶/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر می‌باشد. نتایج نشان داد که بیشترین (۱۶/۹۴ mg/g DW) میزان کارتنوئید کل در گونه *S. multicaulis* و کمترین *S. syluestris* وجود داشت. گونه‌های *S. limbata*، *S. russelii*، *S. grogosh*، *S. bracteata* و *S. aethiops* اختلاف معنی‌داری از نظر میزان کارتنوئید کل نشان ندادند (جدول ۳). همانند سایر خصوصیات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز تحت تأثیر نوع گونه بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گونه *S. hydrangea* (۸۹/۴۶ درصد) و کمترین میزان آن در گونه *S. syluestris* (۴/۶ درصد) موجود می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان کارتنوئید کل در گونه‌های مختلف مریم‌گلی از ۰/۹۸ تا ۱۶/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر می‌باشد. نتایج نشان داد که بیشترین (۱۶/۹۴ mg/g DW) میزان کارتنوئید کل در گونه *S. multicaulis* و کمترین *S. syluestris* وجود داشت. گونه‌های *S. limbata*، *S. russelii*، *S. grogosh*، *S. bracteata* و *S. aethiops* اختلاف معنی‌داری از نظر میزان کارتنوئید کل نشان ندادند (جدول ۳). همانند سایر خصوصیات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز تحت تأثیر نوع گونه بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گونه *S. hydrangea* (۸۹/۴۶ درصد) و کمترین میزان آن در گونه *S. syluestris* (۴/۶ درصد) موجود می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که

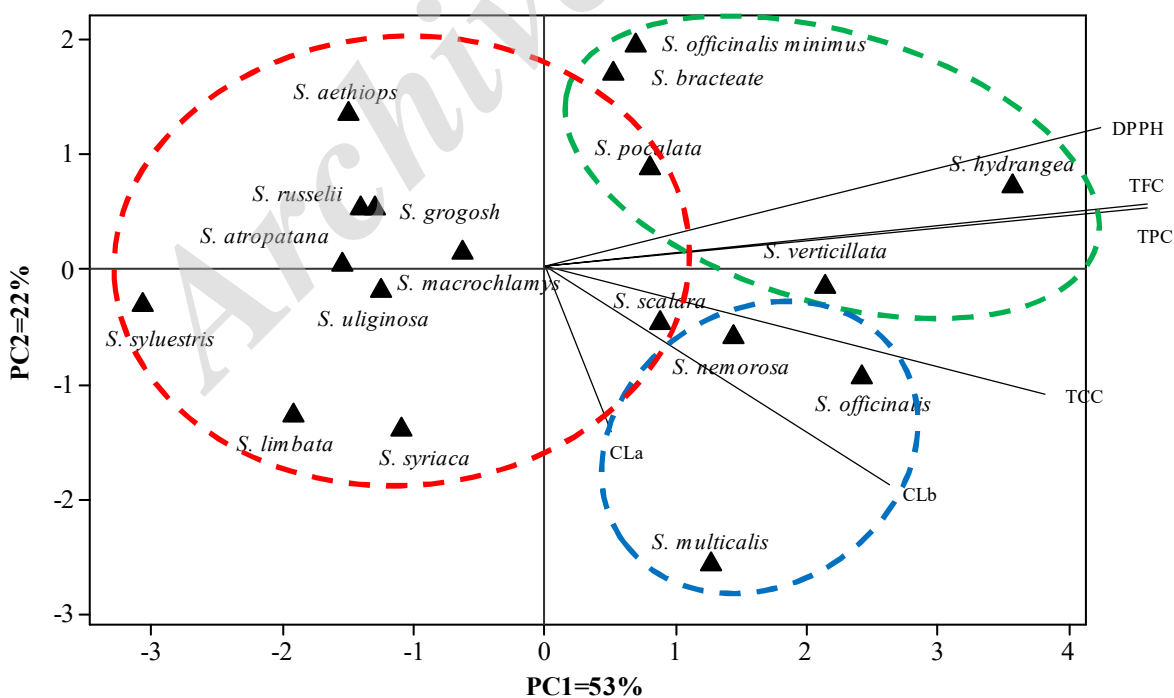
بالایی با محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف مریم‌گلی داشت. دومین مؤلفه نمونه‌ها را از لحاظ کلروفیل a و b متمایز کرد (شکل ۲).

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر، گونه‌های مختلف مریم‌گلی را به سه گروه اصلی تقسیم نمود. گونه‌های *S. officinalis*، *S. nemorosa* و *S. multicaulis* در گروه یک قرار گرفتند. مشخصه اصلی این‌گونه‌ها وجود میزان بالای کارتنوئید کل و کلروفیل b بود. دومین گروه شامل گونه‌های برتر مریم‌گلی از لحاظ خصوصیات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. در این گروه گونه‌های *S. bracteata*، *S. hydrangea*، *S. officinalis minimus* و *S. verticillata* جای گرفتند. سومین گروه که شامل بخش عمده‌ای از گونه‌ها بود، بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فیتوشیمیایی متوسط و پایین در گونه‌ها بود. دسته‌بندی گونه‌های مختلف مریم‌گلی به گروه‌های مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است (شکل ۳).

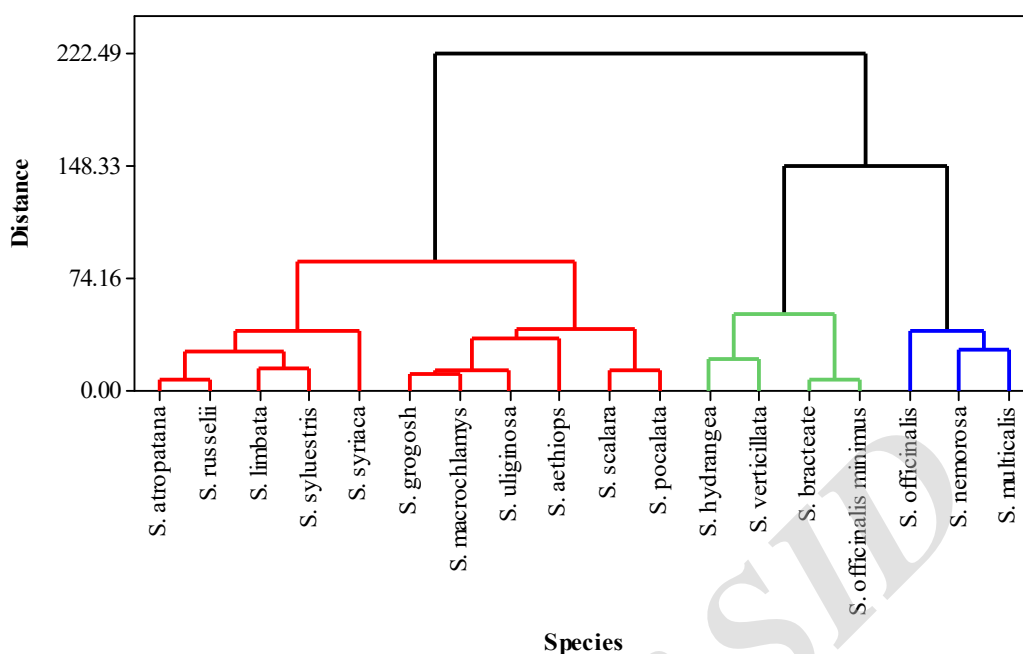
اختلاف معنی‌داری بین گونه‌های *S. bracteata*، *S. officinalis* و *S. verticillata*، *S. officinalis* از لحاظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود نداشت (شکل ۱).

دسته‌بندی گونه‌ها

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بیشترین عمومیت را در بین روش‌های کمومتریک دارد. با توجه به تعداد متغیرهای مورد مطالعه و تنوع مشاهده شده در همه آن‌ها، تجزیه و تحلیل چند متغیره، به منظور طبقه‌بندی کردن نمونه‌ها با توجه به محتوای فنل و فلاونوئید کل، کلروفیل a و b و کارتنوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی انجام شد. با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، صفات ارزیابی شده در قالب دو متغیر جدید (دو مؤلفه اصلی) تعریف شدند که این دو مؤلفه در مجموع ۷۵ درصد (۵۳ درصد برای مؤلفه اول و ۲۲ درصد برای مؤلفه دوم) از تغییرات کل را توجیه نمودند (شکل ۱). اولین مؤلفه همبستگی



شکل ۲: نمودار دسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده مریم‌گلی بر اساس خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی



شکل ۳: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مریم گلی بر اساس خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی

بحث

انجام شده روی سایر گونه‌ها در مناطق مختلف دنیا از جمله ایتالیا، اردن و تونس نیز نتایج متفاوت دیگری برای مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گونه‌های مریم گلی ارائه می‌دهد که این تفاوت‌ها می‌تواند به خاطر تفاوت گونه‌ها، زمان جمع‌آوری، اندام مورد مطالعه و تفاوت‌های زیست‌محیطی باشد (Farhat et al., 2013; Al-Qudah et al., 2014; Pizzale et al., 2000). برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که ترکیبات پلی فنولیک اندام‌های گیاه تحت تأثیر ژنوتیپ و عادت رشدی می‌باشد (Orhan et al., 2007) اگرچه ارتفاع، نور، دما و میزان مواد غذایی قابل دسترس در خاک نیز می‌تواند متابولیسم فنیل پروپانوید را تحت تأثیر قرار دهد (Dixon and Paiva, 1995). مرحله بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از فاکتورهای مهم تأثیرگذار روی میزان ترکیبات فنولیک می‌باشد.

بیستریکا و همکاران (Bystricka et al., 2010) نشان دادند که میزان و نوع ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی به گونه، نوع اندام و مرحله رشد گیاه بستگی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فیتوشیمیایی به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع گونه قرار دارد که مطابق با نتایج سایر پژوهشگران روی گونه‌های مختلف مریم گلی می‌باشد. میزان و نوع مواد مؤثره گیاهان دارویی با هدایت هر دو فاکتور ژنتیکی و محیطی مشخص می‌شود (Urbanaviciute et al., 2006). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی که بیشترین تأثیر را در خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مریم گلی دارند، از مهمترین صفات مورد بررسی در این پژوهش بودند. در تحقیق حاضر گونه‌های *S. hydrangea* و *S. verticillata* دارای مقادیر بالایی از ترکیبات فیتوشیمیایی بخصوص ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بودند که در تطابق با سایر مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های مختلف مریم گلی می‌باشد (Erbil and Digrak, 2015; Asadi et al., 2010; Rosa Loizzo et al., 2014). با این حال مطالعات

بیشترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین گونه‌های مورد مطالعه که با روش DPPH انجام گرفت ۹۳ درصد بود (Orhan et al., 2007). ترکیبات پلی‌فنولیک دارای مهم‌ترین اثرات آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف مریم‌گلی می‌باشد. اسید سالویانولیک که از مشتقات اسید رزمارینیک می‌باشد از مهم‌ترین ترکیبات شناخته‌شده برای اثرات آنتی‌اکسیدانی مریم‌گلی می‌باشد. از دیگر ترکیبات مؤثر که سبب ایجاد اثرات بالای آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مریم‌گلی می‌شوند می‌توان از ساگکومارین، اسید ساگرینیک، گلیکوزیدهای فلاونی مانند لوتولین و آپی‌ژنین نام برد (Lu and Foo, 2001). در مطالعه‌ای که توسط ونگ و وانگ (Weng and Wang, 2000) روی *S. plebeian* انجام شد مشخص شد که گلیکوزیدهای فلاونی کمترین و بتا سیتوسترول بیشترین نقش را روی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی این گونه دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استان آذربایجان غربی دارای تنوع وسیعی از گونه‌های مختلف مریم‌گلی می‌باشد که می‌تواند از دیدگاه اصلاحی ارزشمند باشد. گونه‌های مختلف مریم‌گلی دارای تنوع بالایی از ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند. از نظر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های *S. officinalis*، *S. bracteata*، *S. verticillata* به خصوص *S. hydrangea* نسبت به سایر گونه‌ها در وضعیت مطلوبی قرار داشتند که می‌تواند مورد توجه اصلاحگران گیاهان دارویی و صنایع مربوطه قرار گیرد.

دارد. کلن و تپ (Kelen and Tepe, 2008) با تحقیق روی خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف مریم‌گلی بومی ترکیه نشان دادند که این گونه‌ها دارای ترکیبات ارزشمندی بوده و تفاوت‌های معنی‌داری از لحاظ صفات مورد مطالعه داشتند. تفاوت در محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سایر گونه‌ها (گونه میخک وحشی ایران) نیز گزارش شده است (Saboori et al., 2013).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارتباط مستقیمی بین خصوصیات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. همانند خصوصیات فیتوشیمیایی (بخصوص فنل و فلاونوئید کل) گونه‌های *S. verticillata* و *S. hydrangea* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به بقیه گونه‌ها داشتند. مطالعه اسدی و همکاران (Asadi et al., 2010) روی شش گونه مریم‌گلی بومی ایران نشان داد که اثرات آنتی‌اکسیدانی بالای گونه‌هایی از سالویا مانند *S. hydrangea* و *S. macilenta* به خاطر وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد که در تطابق با تحقیق حاضر می‌باشد. مطالعه تپ و همکاران (Tepe et al., 2006) روی شش گونه سالویا بومی ترکیه و مطالعه‌ی فرهنگ و همکاران (Farhat et al., 2013) در تونس نشان داد که گونه‌های مختلف مریم‌گلی در محیط‌های مختلف جغرافیایی نیز مقادیر متفاوتی از ترکیبات فنلی و اثرات آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند و این خود ضرورت مطالعه گونه‌های مختلف مریم‌گلی از نظر ترکیبات فیتوشیمیایی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به جهت یافتن آنتی‌اکسیدانهای طبیعی در نقاط مختلف را تایید می‌کند. در پژوهشی که روی ۱۴ گونه مریم‌گلی در ترکیه انجام شد نتایج نشان داد که بین گونه‌های مختلف از نظر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد.

References

1. Aghaei Jeshvaghani, Z., Rahimmalek, M., Talebi, M. and Hossein Goli, S.A. 2015. Comparison of total phenolic content and antioxidant activity in different *Salvia* species using three model systems. *Industrial Crops and Products*, 77: 409–414.
2. Alirezalu, A., Ahmadi, N., Salehi, P., Sonboli, A., Ayyari, M. and Hatami Maleki, H. 2015. Antioxidant capacity in different organs of Hawthorn various species (*Crataegus* spp.). *Journal Food Research*, 25(2): 325-338.
3. Al-Qudah, M.A., Al-Jaber, H.I., Abu Zarga, M.H. and Abu Orabi, S.T. 2014. Flavonoid and phenolic compounds from *Salvia palaestina* L. growing wild in Jordan and their antioxidant activities. *Phytochemistry*, 99: 115-20.
4. Aminzadeh, M., Jamshidi, A.H., Mortazavi, F., Azarnivand, H., Naghavi, M.R. and sarvestani, R. 2015. Antioxidant and phytochemical diversity of essential oils and plant extracts *Salvia reuterana* collected from Damavand (northern Iran). *Eco-phytochemical Journal of Medical Plants*, 11: 1-9.
5. Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M.A., Sonboli, A., Ansari, N. and Khodaghali, F. 2010. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 341–1349.
6. Ben Taarit, M., Msaada, K., Hosni, K. and Marzouk, K. 2010. Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. *Food Chemistry*, 119: 951–956.
7. Bouaziz, M., Yangui, T., Sayadi, S. and Dhouib, A. 2009. Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2755-60.
8. Bystricka, J., Vollmannová, A., Margitanová, E. and Čičová, I. 2010. Dynamics of polyphenolic formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. *Acta Agriculturae Slovenica*, 95: 225-229.
9. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.
10. Dixon, R.A. and Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7: 1085-1097.
11. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Bekhradnia, A.R. 2008. Iron chelating activity screening, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7: 3188-3192.
12. Erbil, N. and Digrak, M. 2015. Total phenolic and flavonoid contents, antimicrobial and antioxidant properties of *Salvia verticillata* L. var. *amasiaca* and *Salvia microstegia* Boiss and Bal from Turkish Flora. *Journal of Microbiology and Antimicrobial Agents*, 1: 23-29.
13. Farhat, M.B., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J.A. and Jordán M.J. 2013. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49: 904-14.
14. Kelen, M. and Tepe, B. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Biotechnology Journal*, 99: 4096–4104.
15. Lu, Y. and Foo, L.Y. 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75, 197–202
16. Mashayekhi, K. and Atashi, S. 2014. The analyzing methods in plant physiology (surveys before and after harvest). Press Sirang Words, Gorgan, 310 p.
17. Moazzami Frida, H., Rajabi, T., Salami, A., Ranjbar, M., Taghizadeh, M. and Rahmani, N. 2015. Fatty acid composition and phytosterol contents of the seeds from three *Salvia* L. species

- growing in Iran. Biological Science Promotion, 28: 434-421.
18. Mohammadian, R. Dehghan, G., Movafeghi, A. and Talebpour, A.H. 2014. Phytochemical study of *Salvia sahendica* in different growth stages. Master's Thesis, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz.
 19. Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K. 2004. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. BioMed Research International, 5: 241-247.
 20. Najad Habib Vash, F. and Hosseini, S. 2010. Anatomical studies of stem, leaf and petiole in relation to identification of 18 species of *Salvia* (Lamiaceae) in West Azarbaijan. Biological Science Promotion, 23: 727-742.
 21. Omidbaigi, R. 2009. Production and Processing of Medicinal Plant. Razavi Ghods Astan Publ, Mashhad, 400p.
 22. Omidbeigi, R. 2005. Production and manufacturing the herbs, Beh-nashr Publication, Mashhad, 347p.
 23. Orhan, I., Zelik, B., Kartal, M., Zdeveci, B. and Duman, H. 2007. HPLC quantification of vitexine-2-O-rhamnoside and hyperoside in three *Crataegus* species and their antimicrobial and antiviral activities. Chromatographia, 66: 153-157.
 24. Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Uberegger, E. and Conte, LS. 2002. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82:1645-51.
 25. Rechinger, K.H. 1982. Flora Iranica (Vol. 152). Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt.
 26. Rosa Loizzo, M., Abouali, M., Salehi, P., Sonboli, A., Kanani, M., Menichini, F. and Tundis, R. 2014. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of nine *Salvia* species. Natural Product Research, 28: 2278-2285.
 27. Saboora, A., Dadmehr, K.H. and Ranjbar, M. 2013. Total phenolic and flavonoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29: 281-295.
 28. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A. and Sokmen, A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. Food Chemistry, 95: 200-204.
 29. Urbonaviciute, A., Jakstas, V., Kornysova, O., Janulis, V. and Maruska, A. 2006. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. Journal of Chromatography, 1112: 339-344.
 30. Weng, X.C. and Wang, W. 2000. Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeia*. Food Chemistry, 71: 489-493.
 31. Yazdinezhad, A.R. and Malekzadeh, M. 2015. Evaluation of antioxidant effect, total phenols, anthocyanins and flavonoids contents of methanolic extract of *Salvia viridis* L. collected from Zanjan. Journal of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services, 23: 100-108.
 32. Zargari, A. 1984. Medicinal Plants, Volume II. Tehran University Press.

Phytochemical diversity and antioxidant activity in different *Salvia* species in West Azerbaijan province

Jaffarpour, P.¹, Farokhzad, A.^{2*}, Alirezalou, A.³, Najad HabibVash, F.⁴

¹ M.Sc. student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

² Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

³ Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

⁴ Assistant Professor of Medicinal Plants, Shahid Bakeri Higher Education Center, Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran.

Received Time: 15-1-2017 Accepted Time: 10-3-2017

Abstract

Salvia L. is one of the most important members of the Lamiaceae family. Since ancient times, sage has been considered for many medicinal properties. The objective of this research was to determine the phytochemical characteristics and antioxidant activity of eighteen *Salvia* species collected from various regions of West Azerbaijan province. In this study total phenolic content, total flavonoid content, total carotenoid and chlorophyll and antioxidant capacity were determined by using Folin-Ciocalteu assays, aluminum chloride method, Lichtentaler method and DPPH assay, respectively. The results showed that species type has significant effect on phytochemical characteristics and antioxidant activity ($p < 0.01$). The highest (39.18 mg GAE/g DW) and lowest (1.09 mg GAE/g DW) total phenolic content were in *S. verticillata* and *S. sylvestris* species respectively. The highest total flavonoid content (1.71 mg/g DW) were recorded in *S. hydrangea* and the highest total carotenoid content (16.94 mg/g DW), chlorophyll a (26.42 mg/100g DW) and chlorophyll b (80.1 mg/100g DW) were observed in *S. multicaulis*, *S. verticillata* and *S. officinalis* species respectively. The highest (89.46 %) and lowest (4.6 %) antioxidant activity were in *S. hydrangea* and *S. sylvestris*, respectively. Cluster analysis using Ward's method divided all species to three main categories based on their antioxidant and phytochemical properties. These results were showed that different species of *Salvia* such as *S. bracteata*, *S. officinalis minimus* and *S. verticillata* especially *S. hydrangea* have valuable medicinal properties. With supplementary studies, it is possible to use these species and their bioactive compounds in plant breeding programs and pharmaceutical industry.

Keywords: Antioxidant activity, Cluster analysis, Diversity, Medicinal plant, *Salvia* species

*Corresponding author; a.farokhzad@urmia.ac.ir