

مقایسه فیتوشیمیایی اسانس در اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی *Teucrium polium* subsp. *polium* در استان فارس

وحید روشن^{۱*}، فرانہ زارعیان^۲، عاطفه بهمن زادگان^۳، احمد حاتمی^۴

^۱استادیار، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

^۲کارشناس ارشد، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

^۳کارشناس ارشد، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

^۴کارشناس ارشد، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۰۵

چکیده

مریم نخودی *Teucrium polium* subsp. *Polium* گیاهی است بومی ایران که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پژوهشی به منظور مقایسه کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس در هفت منطقه مختلف استان فارس با محدوده ارتفاعی ۸۰۰ تا ۲۵۰۰ به اجرا درآمد. سرشاخه‌های گلدار و هوایی نمونه‌ها بعد از خشک شدن، به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) اسانس گیری و سپس ترکیبات اسانس با دستگاه‌های GC و GC/MS شناسایی شدند. نتایج نشان داد مهمترین ترکیبات اسانس در رویشگاه‌های مختلف متغیر بوده و به ترتیب در این هفت منطقه عبارتند از: ژرماکرن-دی (۶/۷-۲۲/۶ درصد)، بی-سیکلوژرماکرن (۴/۴-۱۵/۱ درصد)، آلفا-پینن (۰/۸-۱۶/۶ درصد)، بتا-پینن (۰/۸-۹/۲ درصد)، میریسن (۱/۷-۹/۵ درصد) و ای-کاروفیلن (۴/۲-۱۳/۹ درصد). مقایسه ترکیبات عمده اسانس‌ها نشان داد که اکوتیپ‌هایی که از مناطقی با ارتفاع بالاتر جمع آوری شده بودند، نسبت سزکوئی‌ترین‌های اسانس بیشتر از مونوترپن‌های آن بود. نتایج حاصل از آنالیز داده‌های مربوط به ترکیبات اصلی اسانس، با نرم‌افزار Minitab به تشخیص ۳ گروه متمایز منجر شد که نشان دهنده وجود تنوع فیتوشیمیایی درون گونه‌ای در این گیاه است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اکوتیپ، ژرماکرن-دی، فارس، مریم نخودی

مقدمه

ترکیبات در میوه *T. polium* به ترتیب شامل آلفا-پینن، المول، بتا-پینن، کوبنول و لیمونن گزارش گردید (Sabzghabaie and Asgarpanah, 2016). مقتدر (Moghtader, 2009) ترکیب عمده در اسانس کلپوره را آلفا-پینن، بتا-پینن، لینالول، کاریوفیلن اکساید و بتا کاریوفیلن گزارش کرد. در تحقیق دیگری که توسط صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2014) انجام شد، مهمترین ترکیبات *T. polium* در هشت ارتفاع شامل، آلفا-بیسابولول، بتا-بیسابولول، ترانس-کاریوفیلن و کاریوفیلن اکساید بود. از آنجا که شرایط اکولوژیکی مانند ارتفاع، میزان بارندگی، دمای منطقه و سایر عوامل محیطی می تواند روی مواد موثره گیاهان دارویی تاثیر گذار باشد، لذا پژوهشی به منظور بررسی ترکیبات اسانس اکوتیپ های مختلف گیاه *T. polium* subsp. *Polium* در مناطق مختلف استان فارس انجام گردید. همچنین خوشه بندی این اکوتیپ ها براساس ترکیبات اصلی اسانس آن ها صورت گرفت.

مواد و روش ها

اندام هوایی گیاه کلپوره (*Teucrium polium*) subsp. *Polium* در مرحله گلدهی (خرداد ۹۵) از هفت منطقه استان فارس، شامل دراک، چشمه انجیر، آب موردی سروستان، قلات سروستان، میان جنگل فسا، بوانات و فراشبند به ترتیب با ارتفاع ۲۵۰۰، ۲۱۲۵، ۱۸۳۲، ۱۶۹۲، ۱۷۵۰، ۱۷۵۰ و ۸۰۰ متر از سطح دریا، جمع آوری و نام علمی گیاه توسط گیاه شناس مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس مورد تایید قرار گرفت. گیاه در محیط آزمایشگاه و در سایه خشک و توسط آسیاب برقی به ذرات کوچک تبدیل کرده و به روش تقطیر با آب (کلونجر) اسانس استخراج گردید. از سولفات سدیم خشک جهت رطوبت زدایی استفاده شد. اسانس برای تجزیه توسط دستگاه های GC و GC/MS در شرایط

جنس مریم نخودی یا کلپوره با نام علمی *Teucrium Polium* Boiss. از تیره نعنا می باشد. این جنس دارای ۲۰۰ گونه بوده که ۱۲ گونه آن در ایران موجود است (Mozaffarian, 1996). برای این گونه دو وارسته به نام های *T. polium* var. *gnaphalodes* Stapf و Benth. *T. polium* var. *tonsum* شده است (Rechinger, 1982). گونه دارای پراکندگی وسیعی در کشور بوده و تقریباً در تمام مناطق ایران می روید. از نظر شکل برگ و کرک بسیار متنوع است و تفکیک وارسته های آن بسیار مشکل و عمدتاً هم پوشانی صفات مشاهده می گردد (Jamzad, 2012). بیش از ۲۰۰۰ سال است گونه های مختلف *Teucrium* به عنوان گیاه دارویی شناخته شده است (Kazemizadeh et al., 2008). در طب سنتی این گیاه به عنوان مدر، معرق، مقوی، ضد درد، ضد تب و بی اشتهايي مورد استفاده قرار می گیرد. اما خواص دیگر آن نیز از جمله ضد اسپاسم، ضد التهاب، ضد فشارخون، کاهش قند، ضد سرطانی، ضد میکروبی و ضد اکسیدانی آن مورد تحقیق قرار گرفته است (Mahmoudi et al., 2015; Mahmoudi and Nosratpour, 2013; Mohammadpour Vashvaei, et al., 2015). از این گیاه تلخ برای رفع درد ناحیه قلب و کاهش فشارخون استفاده می گردد (Niazmand et al., 2011). در بررسی های انجام شده روی گیاه کلپوره مشخص شده است که این گیاه حاوی مقادیری از گلیکوزیدها، تانن، ترپنوئید می باشد که در خواص آنتی اکسیداتیو سلولی و التیام گوارشی این گیاه موثر است (Amraei et al., 2018; Nasser et al., 2018; Ardestani et al., 2008). در پژوهشی در منطقه بالکان مهمترین ترکیبات *T. polium* ssp. *Capitatum* ژرماکرن-دی، ترانس-کاریوفیلن و بتا-پینن گزارش شد (Mitic et al., 2012). مهمترین

یا با اطلاعات موجود در کتابخانه و نرم‌افزار Chemstation انجام گرفت (Adams, 2007).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور بررسی تغییرات درون گونه ای (با استفاده از صفات کمی) از تحلیل خوشه ای با استفاده از فاصله اقلیدسی (Euclidian distance) و درصد شباهت (Similarity level) به روش Ward بر روی نمودار تحلیل خوشه‌ای (Cluster analysis) استفاده شد. میزان تغییرات، شباهت‌های بین گونه ای و ترکیبات اثرگذار بر تغییرات، توسط دو نمودار طرح نمره (Score plot) و طرح بارگیری (Loadin plot) بررسی شد. ترکیبات عمده هر جمعیت شناسایی شد و به نرم‌افزار Minitab V.14 انتقال یافت. جدول آنالیز داده‌ها و نمودارها به عنوان خروجی نرم افزار جهت تفسیر قرابت‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

آنالیز ترکیبات تجزیه اسانس مناطق مختلف نشان داد که تعدادی از ترکیب‌ها فقط در یک یا چند منطقه و تعدادی نیز در تمامی مناطق وجود داشتند. بطور کلی در منطقه دراک ۴۶ ترکیب، آب موردی ۵۰ ترکیب، چشمه انجیر ۵۰ ترکیب، قلات سروستان ۵۱ ترکیب، بوانات ۴۹ ترکیب، میان‌جنگل فسا ۴۷ ترکیب و در منطقه فراشبند ۴۷ ترکیب شناسایی شدند. ترکیبات عمده در این هفت منطقه شامل آلفا-پینن، بتا-پینن، میریسن، لیمونن، ترانس- کاریوفیلن، ژرماکرن-دی و بی‌سیکلوژرماکرن بودند (جدول ۱). ترکیبات اصلی منطقه آب موردی شامل ترانس-کاروفیلن ۱۱/۶ درصد، آلفا-پینن ۹/۹ درصد، والریانول ۹/۹ درصد، ژرماکرن-دی ۶/۷ درصد (سزکویی-ترپن) و ترکیبات عمده منطقه قلات سروستان شامل آلفا-پینن (۱۳/۵

خنک و تاریک در یخچال نگهداری شد (British pharmacopoeia, 1988).

مشخصات دستگاه GC/MS: گاز کروماتوگراف

Agilent-7890A، متصل شده به طیف سنجی جرمی با ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون می‌باشد. برنامه ریزی حرارتی از ۲۱۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه و سپس ۲۴۰-۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۲۰ درجه در دقیقه و توقف به مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی، درجه حرارت محفظه تزریق و ترانسفرلین ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹۹ و فشار ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و محدوده جرمی از ۵۰-۴۰ بوده است.

مشخصات دستگاه GC: دستگاه گاز کروماتوگراف

Agilent مدل 7890A، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون می‌باشد. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۲۱۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه و سپس ۲۴۰-۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۲۰ درجه در دقیقه و توقف به مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی می‌باشد. نوع آشکارساز FID با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گاز ازت با فشار ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان گاز حامل می‌باشد. نسبت شکاف ۱ به ۱۰۰ می‌باشد (Bahmanzadegan et al., 2017).

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس: برای جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه GC/MS و برای تعیین درصد اجزای آن از دستگاه GC استفاده شد. شناسایی با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل شاخص بازدار (RI)، طیف جرمی و مقایسه این مولفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و منابع و

درصد)، ژرمارکن-دی (۹/۵ درصد) و ترانس- کارپوفیلین (۰/۹ درصد) بودند.

جدول ۱: مقایسه ترکیب‌های شناسایی شده کلپوره در جمعیت‌های مورد مطالعه در استان فارس

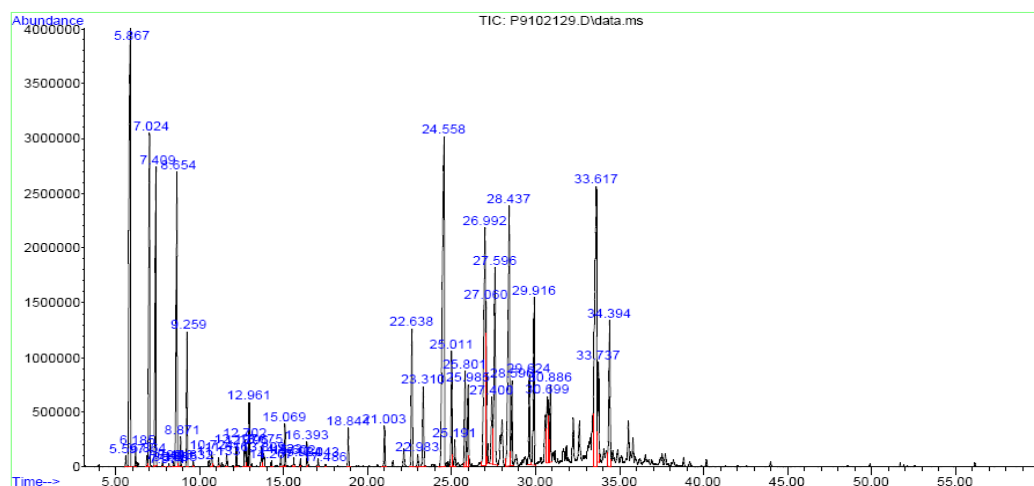
ردیف	ترکیب	نماینه بازداری	در صد ترکیب						
			آب موردی	فراشبنده	بوانات	قلات سروستان	دراک	چشمه انجیر	میان جنگل فسا
۱	α -Thujene	۹۲۶	۰/۱	۰/۲	۰/۳	۰/۲	t	t	۰/۲
۲	α -Pinene	۹۳۶	۹/۹	۱۴/۱	۱۶/۶	۱۳/۵	۱۰/۱	۰/۸	۷/۱
۳	Camphene	۹۴۷	۰/۲	۰/۳	۰/۴	۰/۳	t	t	۰/۲
۴	Sabinene	۹۷۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۳	t	۰/۲	۰/۲
۵	β -Pinene	۹۷۸	۵/۹	۷/۳	۸/۹	۹/۲	۴/۵	۰/۸	۴/۶
۶	Myrcene	۹۹۳	۵/۹	۷/۲	۹/۵	۷/۴	۵/۴	۱/۷	۵/۶
۷	α -Phellandrene	۱۰۰۲	t	t	t	t	t	t	t
۸	δ -3-Carene	۱۰۱۰	t	t	t	t	۰	t	t
۹	α -Terpinene	۱۰۱۷	t	t	t	t	۰	t	t
۱۰	<i>p</i> -Cymene	۱۰۲۵	t	۰/۱	t	t	t	t	۰/۱
۱۱	Limonene	۱۰۲۹	۵/۵	۷/۰	۸/۲	۶/۹	۴/۲	۱/۸	۵/۳
۱۲	1,8-Cineole	۱۰۳۰	t	t	۰/۱	t	t	t	t
۱۳	(<i>Z</i>)- β -Ocimene	۱۰۳۵	۰/۳	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۲	۰/۱	۰/۴
۱۴	(<i>E</i>)- β -Ocimene	۱۰۴۶	۱/۶	۱/۹	۲/۳	۱/۸	۱/۲	۰/۶	۱/۹
۱۵	γ -Terpinene	۱۰۵۶	t	t	۰/۱	t	t	t	۰/۱
۱۶	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	۱۰۷۰	۰	۰	۰	۰	۰	t	t
۱۷	Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۱	t	۰/۴
۱۸	Linalool	۱۰۹۸	۰/۱	۰/۲	۰/۳	۰/۴	t	۰/۳	۰/۱
۱۹	n-Nonanal	۱۱۰۲	۰	t	t	۰	t	t	۰/۱
۲۰	1-Octen-3-yl acetate	۱۱۱۰	۰/۲	۰/۳	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۳	۰/۱
۲۱	α -Campholenal	۱۱۲۴	۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۳	۰	۰/۲	۰/۴
۲۲	<i>trans</i> -Pinocarveol	۱۱۳۷	۰/۴	۰/۳	۰/۶	۰/۶	۰/۱	۰/۴	۰/۵
۲۳	<i>cis</i> -Verbenol	۱۱۳۹	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۲	t	۰/۱	۰/۴
۲۴	<i>trans</i> -Verbenol	۱۱۴۳	۰/۹	۰/۷	۱/۴	۱/۳	۰/۳	۰/۷	۱/۱
۲۵	Pinocarvone	۱۱۶۰	۰/۳	۰/۲	۰/۴	۰/۵	۰/۱	۰/۲	۰/۳
۲۶	Borneol	۱۱۶۴	۰/۳	t	۰/۴	۰/۳	۰/۱	t	۰/۴
۲۷	Terpinen-4-ol	۱۱۷۵	t	t	۰/۱	t	t	t	۰/۲
۲۸	α -Terpineol	۱۱۸۸	۰/۲	۰/۲	۰/۴	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۳
۲۹	Myrtenal	۱۱۹۵	۰/۶	۰/۴	۰/۸	۰/۹	۰/۳	۰/۶	۰/۷
۳۰	Verbenone	۱۲۰۷	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۲	t	t	۰/۳
۳۱	<i>trans</i> -Carveol	۱۲۱۶	۰/۱	t	۰/۱	۰/۱	t	۰/۱	۰/۲
۳۲	Nerol	۱۲۲۶	۰/۳	۰/۳	۰/۵	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۵
۳۳	Neral	۱۲۳۸	۰	۰/۲	۰	۰	۰	۰	۰
۳۴	Carvone	۱۲۴۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	t	۰/۶	۰/۲

۳۵	Geraniol	۱۲۵۳	t	۰	t	t	۰	t	t
۳۶	Geranial	۱۲۶۷	۰	۰/۳	۰	۰	۰	۰	t
۳۷	Bornyl acetate	۱۲۸۴	۰/۵	۰/۷	۰/۷	۰/۶	۰/۳	۰/۶	۰/۶
۳۸	Thymol	۱۲۹۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱	۰/۱
۳۹	Carvacrol	۱۲۹۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۴	۰/۲
۴۰	Undecanal	۱۳۰۴	۰	t	۰	۰	۰	۰	۰
۴۱	δ -Elemene	۱۳۳۵	۰/۷	۲/۲	۱/۴	۰/۷	۲/۸	۱/۳	۱/۶
۴۲	Neryl acetate	۱۳۶۰	۰	۰/۲	۰/۲	۰	۰	۰/۵	۰
۴۳	α -Copaene	۱۳۷۴	۲/۳	۰/۵	t	۲/۴	t	۱/۷	۳/۸
۴۴	β -Bourbonene	۱۳۸۲	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۶	۱/۵	۰/۹
۴۵	β -Elemene	۱۳۹۰	۱/۳	۰/۴	۰/۶	۰/۶	۰/۴	۰/۹	۰/۹
۴۶	(E)-Caryophyllene	۱۴۲۱	۱۱/۰	۴/۲	۸/۰	۸/۹	۱۳/۹	۱۰/۶	۹/۹
۴۷	β -Copaene	۱۴۳۰	۰	۰/۳	۰/۲	۰	۰	۰/۳	۰/۳
۴۸	γ -Elemene	۱۴۳۲	۱/۹	۱/۲	۰/۵	۰/۶	۰/۸	۰/۷	۰/۸
۴۹	α -Guaiene	۱۴۳۷	۰/۴	۰/۱	۰/۶	۰/۵	۰/۴	۱/۶	۰/۲
۵۰	α -Humulene	۱۴۵۲	۱/۵	۰/۶	۰/۹	۱/۱	۱/۵	۱/۴	۱/۷
۵۱	(E)- β -Farnesene	۱۴۵۶	۱/۶	۰	۰/۶	۰/۴	۱/۴	۰/۵	۰
۵۲	Allo-Aromadendrene	۱۴۶۰	۰	۰/۴	۰	۰	۰	۰	۰/۴
۵۳	Germacrene D	۱۴۸۱	۶/۷	۱۸/۳	۱۳/۴	۹/۵	۲۲/۶	۲۰/۵	۱۳/۷
۵۴	β -Selinene	۱۴۹۰	۱/۷	۰	۰	۰/۱	۰	۰	۰/۱
۵۵	Valencene	۱۴۹۴	۱/۶	۰	۰/۷	۰/۹	۰	۰	۰/۹
۵۶	Bicyclogermacrene	۱۴۹۶	۴/۴	۱۲/۷	۷/۹	۵/۹	۱۵/۱	۱۳/۰	۹/۲
۵۷	δ -Guaiene	۱۵۰۷	۰	۰	۰/۸	۰	۰	۱/۹	۰/۲
۵۸	(Z)- α -Bisabolene	۱۵۱۰	۰	۰	۱/۱	۰	۰	۳/۰	۰/۹
۵۹	γ -Cadinene	۱۵۱۲	۰	۰/۳	۰	۰	۰	۰	۰
۶۰	7-epi- α -Selinene	۱۵۱۸	۶/۶	۰	۲/۱	۲/۸	۰/۸	۱/۲	۵/۹
۶۱	δ -Cadinene	۱۵۲۲	۱/۳	۱/۲	۰/۴	۱/۴	۰/۸	۱	۲/۴
۶۲	(E)- γ -Bisabolene	۱۵۴۱	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۳	۰
۶۳	Elemol	۱۵۴۹	۱/۶	۰/۲	t	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۱
۶۴	Germacrene B	۱۵۵۶	۳/۴	۱/۷	۰/۶	۱/۰	۰/۹	۱/۶	۱/۲
۶۵	(E)-Nerolidol	۱۵۶۴	۰	۰	۰	۰	۰/۳	۳/۵	۰
۶۶	Spathulenol	۱۵۷۶	۱/۲	۴/۳	۲/۷	۲/۰	۴/۱	۱۰/۷	۶/۹
۶۷	Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۱/۳	۰/۷	۱/۱	۱/۳	۲/۱	۳/۴	۲/۲
۶۸	Isolongifolan-7- α -ol	۱۶۱۷	۰	۰	۰	۲/۳	۰	۰	۰
۶۹	epi- α -Cadinol	۱۶۴۲	۰	۰/۷	۰	۰	۰	۰	۰/۷
۷۰	β -Eudesmol	۱۶۴۹	۰	۲/۸	۰/۲	۱/۱	۱/۹	۰/۹	۰
۷۱	α -Cadinol	۱۶۵۲	۰	۱/۳	۰/۸	۰	۱/۳	۱/۴	۱/۲
۷۲	Valerianol	۱۶۵۵	۹/۹	۰	۰	۳/۱	۰	۰	۰
۷۳	7-epi- α -Eudesmol	۱۶۵۸	۱/۶	۰	۰	۵/۷	۰	۰	۰
۷۴	Elemol acetate	۱۶۷۶	۳/۱	۰	۰	۰/۳	۰	۰	۰

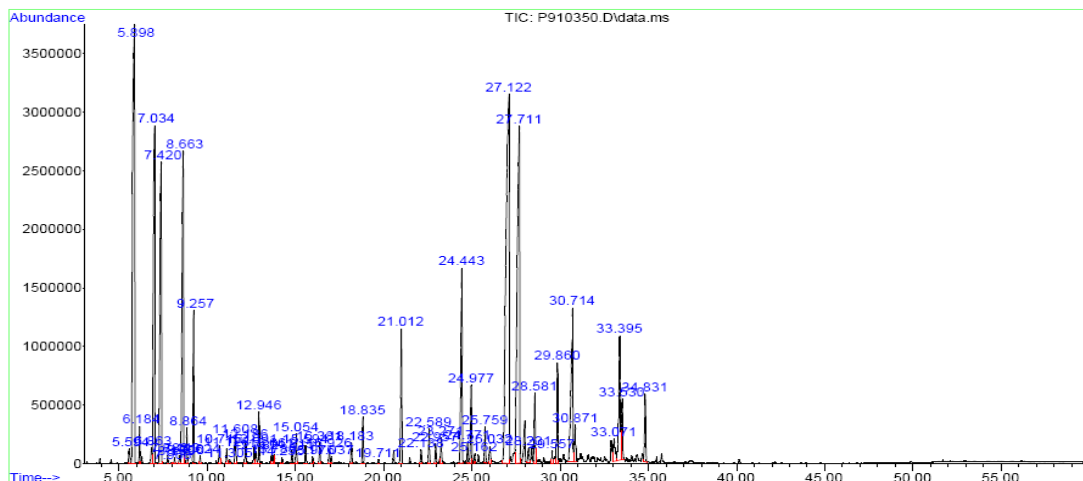
۷۵	14-hydroxy- α -Humulene	۱۷۱۴	۰/۸	.
۷۶	n-Hexadecanoic acid	۱۹۶۲	۰/۸	.
۷۷	epi-13-Manool	۲۰۵۵	۰/۴	.
۷۸	Phytol	۲۱۱۴	۰/۳	.
مجموع			۹۹/۸	۹۹/۴	۹۹/۲	۹۹/۵	۹۹/۱	۹۷/۸
								۹۸/۴

درصد) و آلفا-پنین (۷/۱ درصد) بودند و ترکیبات اصلی منطقه چشمه انجیر شامل ژرماکرن-دی (۲۰/۵ درصد)، بی-سیکلوژرماکرن (۱۳ درصد)، ترانس-کاریوفیلین (۱۰/۶ درصد) و اسپاتولنول (۱۰/۷ درصد) بودند (جدول ۲). نتایج حاصل از آنالیز داده‌های فیتوشیمیایی با نرم‌افزار Minitab به تشخیص ۳ گروه متمایز منجر شد که نشان دهنده وجود تنوع درون گونه‌ای در این گونه گیاهی است. سه منطقه دراک، میان‌جنگل فسا و چشمه انجیر در یک گروه قرار گرفتند. دو منطقه بوانات و فراشبند در یک گروه جداگانه و دو منطقه آب موردی و قلات نیز در گروه دیگری واقع شدند (شکل ۱).

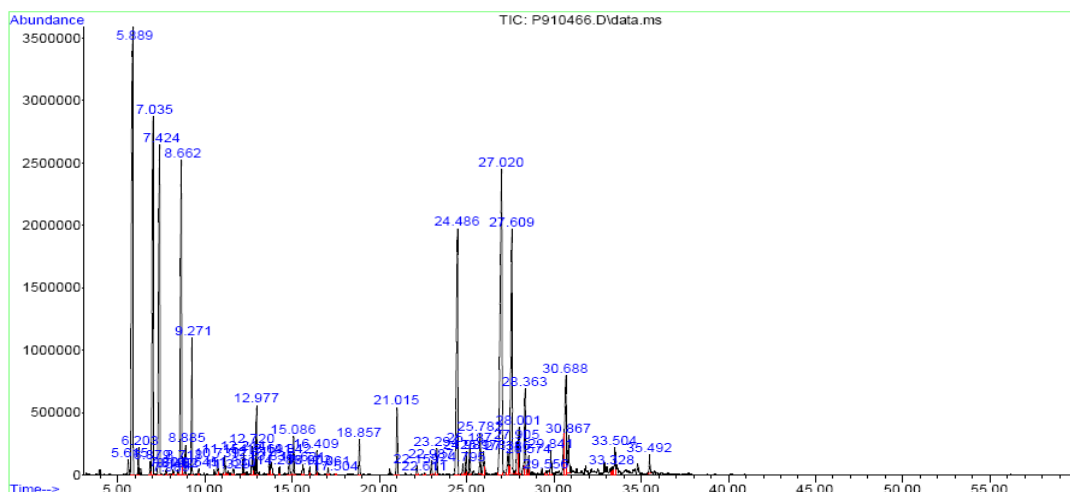
ترکیبات عمده منطقه فراشبند آلفا-پنین (۱۴/۱ درصد)، بتا-پنین (۷/۳ درصد)، میرسین (۷/۲ درصد)، ژرماکرن-دی (۱۸/۳ درصد) و بی-سیکلو ژرماکرن (۱۲/۷ درصد) بودند. در منطقه بوانات ترکیبات عمده شامل آلفا-پنین (۱۶/۶ درصد)، بتا-پنین (۸/۹ درصد)، میرسین (۹/۵ درصد)، ژرماکرن-دی (۱۳/۴ درصد) و بی-سیکلو ژرماکرن (۷/۹ درصد) بودند. ترکیبات ژرماکرن-دی (۲۲/۶ درصد)، بی-سیکلوژرماکرن (۱۵/۱ درصد)، ترانس-کاریوفیلین (۱۳/۹ درصد) و آلفا-پنین (۱۰/۱ درصد) از ترکیبات عمده منطقه دراک بودند. در حالیکه ترکیبات شاخص منطقه میان‌جنگل شامل ژرماکرن-دی (۱۳/۷ درصد)، ترانس-کاریوفیلین (۹/۹



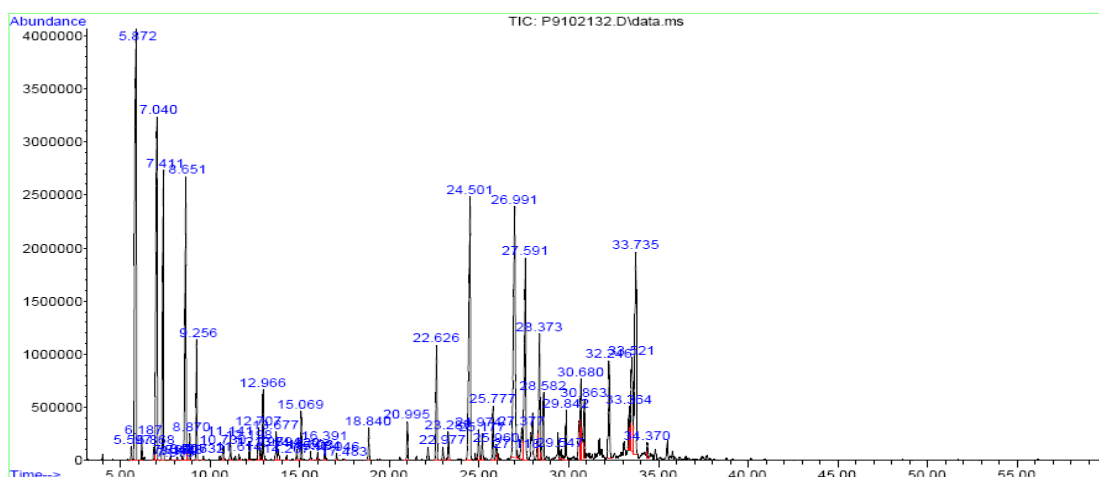
شکل ۱: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گل دهی در منطقه آب موردی



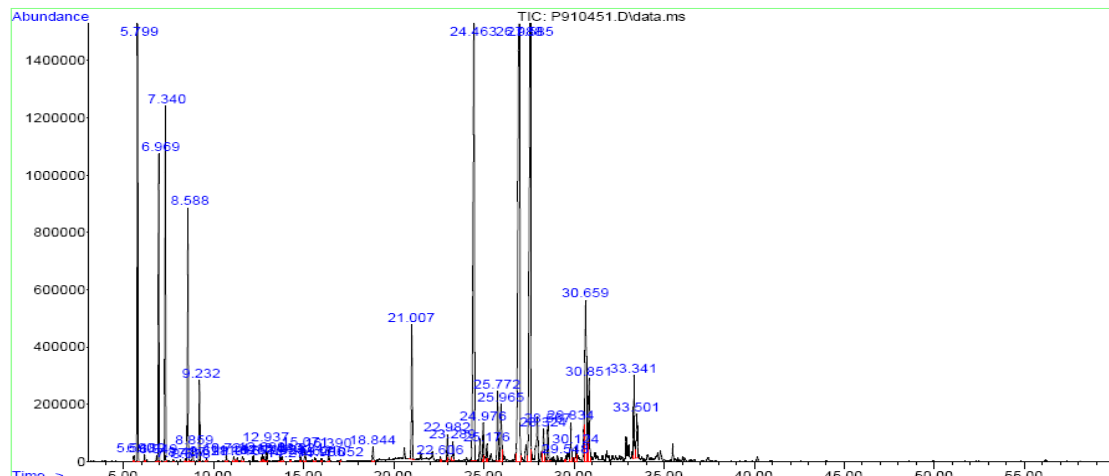
شکل ۲: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی فراشبند



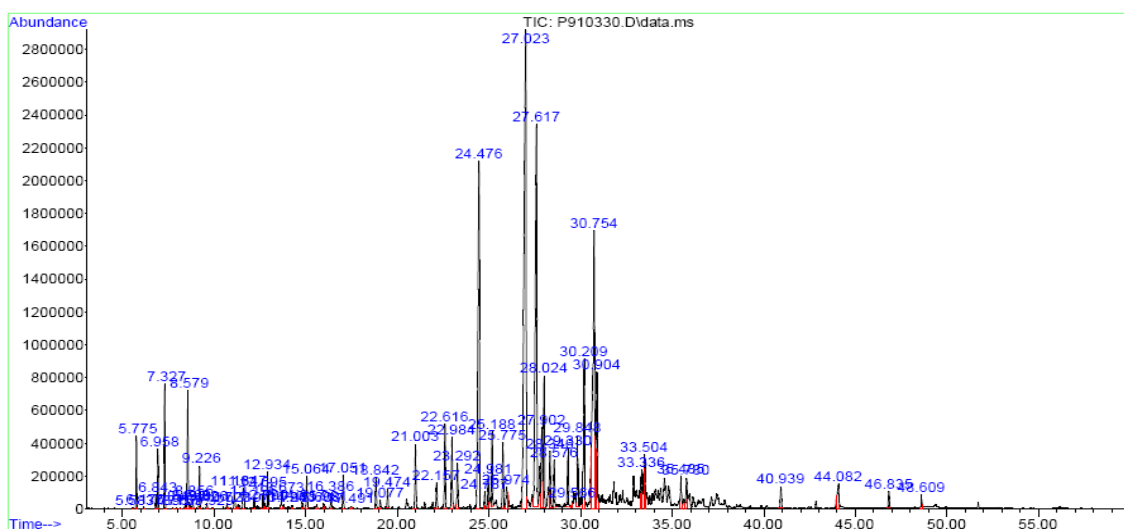
شکل ۳: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در بوانات



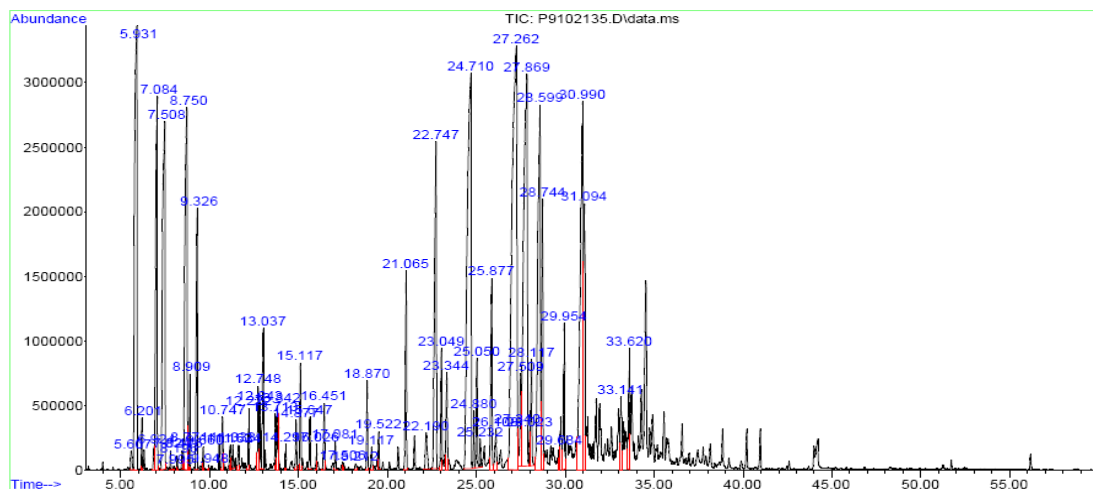
شکل ۴: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در قلات



شکل ۵: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در دراک



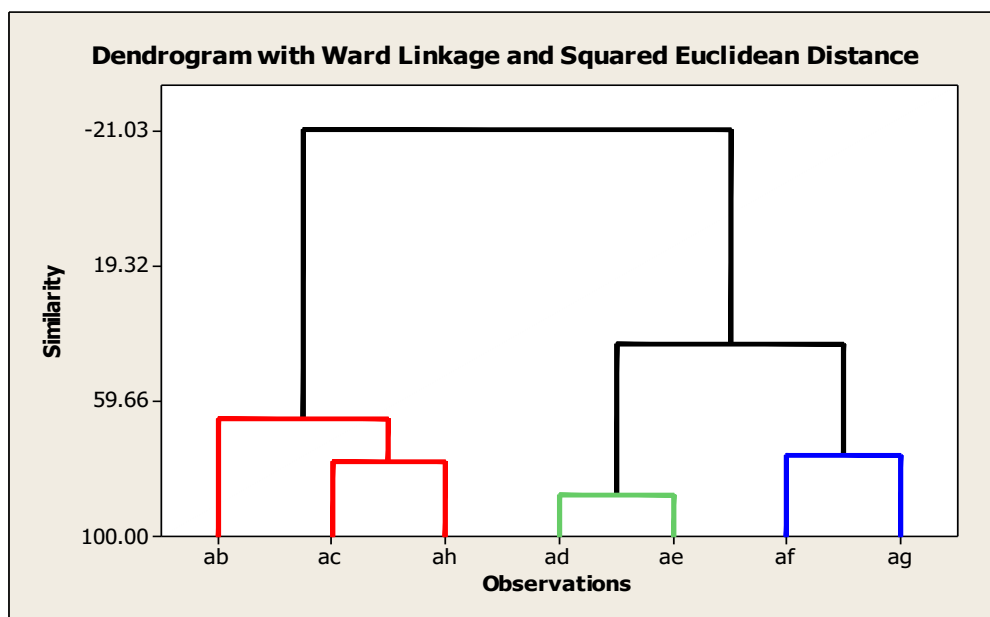
شکل ۶: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در چشمه انجیر



شکل ۷: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در میان جنگل

جدول ۲: مقایسه درصد ترکیبات عمده در هفت جمعیت مورد بررسی کلپوره در استان فارس

مقدار اسانس (درصد)							
آب موردی	فراشبند	بوانات	قلات سروستان	دراک	چشمه انجیر	میان جنگل فسا	ترکیبات اسانس
۶/۷	۱۸/۳	۱۳/۴	۹/۵	۲۲/۶	۲۰/۵	۱۳/۷	ژرماکرن دی
۹/۹	۱۴	۱۶/۶	۱۳/۵	۱۰/۱	۰/۸	۷/۱	آلفا-پینن
۴/۴	۱۲/۷	۷/۹	۹/۵	۱۵/۱	۱۳	۹/۲	بی سیکلو ژرماکرن دی
۵/۹	۷/۳	۸/۹	۹/۲	۴/۵	۰/۸	۴/۶	بتا-پینن
۵/۹	۷/۲	۹/۵	۷/۴	۵/۴	۰/۷	۵/۶	میرسین
۱۱	۴/۲	۸	۸/۹	۱۳/۹	۱۰/۶	۹/۹	ترانس- کاریوفیلن
۹/۹	۰	۰	۰	۳/۱	۰	۰	والریانول
۵/۵	۷	۸/۲	۶/۹	۴/۲	۱/۸	۵/۳	لیمونین
۱/۲	۴/۳	۲/۷	۲	۴/۱	۱۰/۷	۶/۹	اسپاتولنول
۶/۶	۰/۷	۱/۱	۱/۳	۲/۱	۳/۴	۲/۲	کاریوفیلن اکساید



نمودار ۱: خط برش روی کلاستر مناطق بر اساس شباهت ۶۰ درصد ترکیبات عمده جمعیت‌ها ab، منطقه ۱: چشمه انجیر ac؛ منطقه ۲: دراک ah؛ منطقه ۷: میان جنگل فسا ad؛ منطقه ۳: فراشبند ae؛ منطقه ۴: بوانات af؛ منطقه ۵: آب موردی ag؛ منطقه ۶: قللات سروستان

به ترتیب ۲۰/۵ و ۱۳ درصد گزارش شد. در پژوهش‌های متعددی اثر شرایط اکولوژیک روی گیاهان دارویی مانند *T. Polium* (Baghizadeh et al., 2017; Abtahi and Bagherzadeh, 2014) و *fruticosa* (Abd El-Wahab et al., 2015) و

بحث
بر اساس جدول ۲ بیشترین درصد ژرماکرن-دی و بی سیکلو ژرماکرن-دی در منطقه دراک (۲۵۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا) به ترتیب با ۲۲/۶ و ۱۵/۱ درصد و چشمه انجیر (۲۱۲۵ متر ارتفاع از سطح دریا)

بیشتر از ارتفاع پایین می‌باشد. همچنین در مناطق با ارتفاع بالاتر میزان ترانس- کاربوفیلین و کاربوفیلین اکساید نیز بیشتر است (جدول ۲).، مشابه این نتایج، در بررسی اثر عوامل مختلف اکولوژیکی بر کمیت و کیفیت ترکیبات اسانس، روی ۱۰ جمعیت استان اصفهان، بیشترین ترکیبات اسانس در شش جمعیت بتا-کاربوفیلین بود، ولی در دو جمعیت دیگر بیشترین ترکیبات اسانس مانند منطقه بوانات و قلات سروستان، آلفا-پینین گزارش گردید. در دو جمعیت انارک و نطنز هم، ترانس- پینوکارول ترکیب اصلی اسانس را تشکیل می‌داند (Abtahi and Bagherzadeh, 2014). لازم به ذکر است که منطقه دراک و چشمه انجیر با وجود اختلاف ارتفاع با سروستان از نظر دمایی و میزان بارندگی تفاوت چندانی ندارند زیرا منطقه قلات سروستان در جنوب استان است و این مناطق دارای میزان بارندگی ۲۰۰ میلی متر در سال هستند. با این ترتیب می‌توان گفت که عامل ارتفاع در گیاه کلپوره تاثیر عمده‌ای روی ترکیبات اسانس دارد. در رابطه با نوع ترکیبات اصلی، صرف نظر از درصد آنها، در تمام جمعیت‌ها عمده ترین ترکیبات با نتایج Ben Othman و همکاران، Moghtader, Esmaili و Amiri و Mirza که ترکیبات عمده *T. polium* را آلفا-پینین، بتا-پینین و کاربوفیلین اکساید گزارش کردند، مطابقت دارد (Ben Othman et al., 2017; Moghtader, 2009; Esmaili and Amiri, 2009; Mirza, 2001). از طرفی میزان بالای ژرماکرن-دی و بی‌سیکلوزرماکرن در تمام جمعیت‌ها با نتایج اسماعیلی و امیری (Esmaili and Amiri, 2009) مطابقت دارد ولی بی‌سیکلوزرماکرن در نتایج Mirza گزارش نشد (Mirza, 2001). ترکیب والرینول فقط در اکوتیپ‌های دراک (۳/۱ درصد) و آب‌موردی (۹/۹ درصد) مشاهده شد. به نظر می‌رسد این ترکیب تابع ارتفاع و دما نبوده که می‌تواند سایر عوامل از جمله خود جمعیت و فاکتورهای خاکی تاثیر گذار باشد. در منطقه فراشبند

Origanum vulgare (Węglarz et al., 2006) بررسی شده است. تغییر نوع و درصد ترکیبات اصلی اسانس در اکوتیپ‌های مختلف، در تحقیقات سایر محققان نیز گزارش شده است. در دو تحقیق جداگانه در بررسی تاثیر ارتفاع بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره اسانس گیاه *Rosmarinus officinalis* و *Thymus serpyllum* نشان داده شد کیفیت و کمیت اسانس این گیاهان تاثیر پذیر از شرایط اقلیمی نظیر اختلاف ارتفاع می‌باشد (Mohammad nejad et al., 2006; Jamshidi et al., 2006).

بیشترین میزان آلفا و بتا- پینین در بوانات و قلات سروستان بترتیب با ارتفاع ۱۷۵۰ و ۱۶۹۲ متر مشاهده شد، ولی میزان این دو ترکیب در اکوتیپ چشمه انجیر کمتر از ۱ درصد شناسایی گردید. در تحقیقی روی هفت ژنوتیپ گیاه کلپوره در استان کرمان، نشان داده شد که بیشترین ترکیبات اسانس در این جمعیت‌ها آلفا و بتا-پینین بودند، این نتایج با جمعیت‌های منطقه سروستان و قلات مطابقت دارد (Baghizadeh et al., 2017). همچنین در کرواسی و اسپانیا، آلفا-پینین و بتا-پینین بیشترین میزان ترکیبات اسانس را در *T. Polium* تشکیل می‌داند (Cozzani et al., 2005; Ricci et al., 2005). در حالی که در جمعیت‌های مختلف این گیاه در الجزایر، آلفا-کادینول بیشترین میزان ترکیبات اسانس را تشکیل می‌داد (Kabuchi et al., 2005). ترکیبات ژرماکرن-دی و بی‌سیکلوزرماکرن-دی از گروه سزکوئی‌ترین‌ها می‌باشند در حالی که آلفا و بتا-پینین از گروه منوترپین‌ها می‌باشد، به نظر می‌رسد گیاهانی که از ارتفاعات بالاتر جمع آوری شده اند میزان سزکوئی‌ترین بیشتر دارند. مطابق این تحقیق، صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2014) در پژوهشی روی ترکیبات اسانس *T. polium* در هشت ارتفاع نشان دادند که، میزان نسبت سزکوئی‌ترین‌ها به مونوترپین‌ها در ارتفاعات بالا

گرفته‌اند. به نظر می‌رسد فاکتورهای ژنتیکی این دو کموتایپ را با وجود شرایط اکولوژیکی متفاوت در کنار هم قرار داده است. منطقه چشمه انجیر (۲۱۲۵ متر) دارای آب و هوای معتدل است و از نظرتوپوگرافی ۳۷۵ متر اختلاف ارتفاع با دراک دارد. دو منطقه دراک و چشمه انجیر از نظر مسافت دارای ۱۵-۲۰ کیلومتر فاصله هستند. مشخص است که با وجود شرایط اکولوژیکی نسبتاً مشابه، منطقه چشمه انجیر زیر شاخه دو جمعیت دراک و میان جنگل قرار گرفت. در مطالعه باقی‌زاده و همکاران (Baghizadeh et al., 2017) در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های فیتوشیمیایی گیاه *T. polium* در استان کرمان، نمونه‌های مورد نظر در سه گروه طبقه‌بندی شدند. در تحقیقی که توسط دلیر (Dalir, 2011) روی جمعیت‌های *Thymus spp.* صورت گرفت، براساس تجزیه خوشه‌ای، صفات فیتوشیمیایی ۱۳ جمعیت در ۲ گروه دسته‌بندی شدند.

نتیجه‌گیری نهایی

این تحقیق نشان داد که در بعضی از مناطق ترکیبات سزکویی‌ترین عمده‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاه کلپوره را تشکیل می‌دادند. این مناطق یا در ارتفاع بالاتر بودند (دراک، چشمه انجیر) یا میزان بارندگی آنها بیشتر بود (فراشند) ولی آب و هوای گرمتری داشتند. در جمعیت‌های بوانات و قلات، مونوتراپ‌ها ترکیبات شاخص بودند. همچنین این تحقیق نشان داد که در رابطه با کلپوره، شرایط خاص منطقه مانند ارتفاع و میزان بارندگی می‌تواند اثرات دما را تحت تاثیر قرار دهد. زیرا با وجود دماهای نزدیک به هم اثر ارتفاع شاخص بود و فاکتور دما را تحت تاثیر قرار می‌داد. شاید بتوان گفت که میزان و نوع تاثیر شرایط اکولوژی بسته به نوع گیاه متفاوت است. به این معنی که ممکن است گیاهی مثلاً

مجموع میزان سزکویی‌ترین‌ها نزدیک به دو سوم منوترپین‌ها می‌باشد (جدول ۲). این منطقه دارای آب و هوایی به نسبت گرمتر از سایر مناطق است ولی میزان بارندگی آن از سایر مناطق گفته شده بیشتر و دارای میانگین ۳۰۰ میلی‌متر در سال است. با توجه به ارتفاع کم، میزان سزکویی‌ترین بالای آن می‌تواند تابع هوای گرم منطقه باشد.

منطقه قلات سروستان با ارتفاع ۱۶۹۲ متر در ۷۰ کیلومتری جنوب شرق شیراز و منطقه آب موردی با ارتفاع ۱۸۳۲ متر در ۸۰ کیلومتری جنوب شرق شیراز واقع شده است. این مناطق دارای آب و هوای معتدل خشک با اختلاف ارتفاع ۱۴۰ متر نسبت به هم می‌باشند. عوامل اکولوژیکی مشابه باعث شد که این دو منطقه از نظر کموتایپ در کنار هم واقع شدند. به نظر می‌رسد این دو منطقه از نظر جمعیت مشابه یا حتی یک جمعیت باشند که تغییرات اسانس در آنها ناشی از تغییر ارتفاع است. ارتفاع و آب و هوا دو فاکتور مهم محیطی در تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان دارویی می‌باشند. در گروه دوم بوانات با ۴۷ ترکیب و فراشند با ۴۹ ترکیب قرار گرفتند. منطقه بوانات با ارتفاع ۱۷۵۰ متر در شمال استان فارس با آب و هوای سرد واقع شده است. در حالی که منطقه فراشند با ارتفاع ۸۰۰ متر در جنوب شرقی استان فارس واقع شده است. منطقه فراشند دارای آب و هوای گرم می‌باشد. با وجود فاکتورهای محیطی متفاوت، اکوتایپ این دو منطقه مشابه بودند. در گروه سوم، جمعیت میان جنگل و دراک در یک گروه جمعیت چشمه انجیر زیر شاخه آنها قرار گرفت. گیاه کلپوره در منطقه دراک با آب و هوای سرد از ارتفاع ۲۵۰۰ متری و در منطقه میان‌جنگل با آب و هوای گرم از ارتفاع ۱۷۵۰ متری جمع‌آوری شد. این دو منطقه از نظر توپوگرافی ۷۵۰ متر اختلاف ارتفاع دارند، با این حال در کنار یکدیگر در یک گروه قرار

مصوب موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور می‌باشد؛ بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و ریاست محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس به‌دلیل مساعدت در تأمین هزینه‌های آن اعلام می‌داریم.

تأثیرپذیری بیشتری از ارتفاع داشته باشد در حالی که برای گونه دیگر فاکتور دما تعیین کننده باشد.

سپاسگزاری

این مقاله از طرح پژوهشی به شماره ثبت ۶۲۱۲

References

1. Abd El-Wahab, M.A., Toaima, W.I.M. and Hamed, E.S. 2015. Effect of different planting locations in Egypt on *Salvia fruticosa* mill. Plants. Egyptian Journal of Desert Research, 65: 218-297.
2. Abtahi, S.M. and Bagherzadeh, K. 2014. Essential oil composition of *Teucrium polium* L. in different ecological conditions (Isfahan Province). Eco-Phytochemical Journal of Medical Plants, 2: 30-38.
3. Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, 1-804.
4. Amraei, M., Ghorbani, A., Seifinejad, Y., Mousavi, S.F., Mohamadpour, M. and Shirzadpour, E. 2018. The effect of hydroalcoholic extract of *Teucrium polium* L. on the inflammatory markers and lipid profile in hypercholesterolemic rats. Journal of Inflammation Research, 11: 265-272.
5. Ardestani, A., Yazdanparast, R. and Jamshidi, S. 2008. Therapeutic effects of *Teucrium polium* extract on oxidative stress in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Medicinal Food, 11: 525-532.
6. Awadh, N. A. A., Bhuwan, K., Chhetri, N., Dosoky, S., Shari, K., Al-Fahad, A.J.A., Wessjohann, L. and Setzer, W.N. 2017. Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities of *Ocimum forskolei* and *Teucrium yemense* (Lamiaceae) Essential Oils Medicines (Basel), 4(2): 17-24.
7. Baghizadeh, A., Moghaddari, M. and Bakhshi-Khaniki, G.H. 2017. Investigation of genetic and phytochemical diversity of *Teucrium Polium* L. germplasm in Kerman province by RAPD molecular marker and GC/MS method. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(4): 673-681.
8. Bahmanzadegan, A., Rowshan, V. and Zareian, F. 2017. Chemical constituents of the essential oil, static headspace analysis of volatile compounds, polyphenolic content and antioxidative capacity of *Trigonella elliptica* Boiss. grown in Iran. Analytical Chemistry Letters, 7(2): 261-270.
9. Ben Othmen, M., Bel Hadj salah-Fatnass, K., Ncibi, S., Elaissi, A. and Zourgui, L. 2017. Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. *gabesianum* (L.H.) from Tunisia. Physiology and Molecular Biology of Plants, 23(3):723-729.
10. British pharmacopoeia. 1988 British pharmacopoeia. London: HMSO, 2: 137-138.
11. Cozzani, S., Muselli, A., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., Tomi, F. and Casanova, J. 2005. Chemical composition of *Teucrium polium* subsp. *Capitatum* (L.) from Crosia. Flavour and Fragrance Journal, 20(4): 436-441
12. Dalir, M. 2011. Evaluation of Genetic, Morphology and Chemical Diversity *Thymusspp*. Thesis for M.Sc., Payam Noor University of Tehran.
13. Esmaili, A. and Amiri, H. 2009. Survy on antimicrobial effect and identify compounds substance *Teucriuom polium*. Journal of Esfahan University Pure Science, 31: 15-22.
14. Jamshidi, A.H., Amin zadeh, M., Azarnivand, H. and Abedi, M. 2006. The Effect of Height on the Quality and

- Quantity of the Essence of (*Thymus kotschyanus*), (a case study in damavand area, tar lake basin). Journal of Medicinal plants, 2(18):17-22.
15. Jamzad, Z. 2012. Lamiaceae. In: Assadi, M., Maassoumi, A. and Mozaffarian, V. (eds). Flora of Iran. Vol. 76. Research Institute of Forests & Rangelands, Tehran (In Persian).
 16. Kazemizadeh, Z., Habibi, Z. and Moradi, A. 2008. Chemical composition of the essential oils of two populations *Teucrium hyrcanicum* L. in two different localities. Journal of Medicinal Plants, 4(28):87-93.
 17. Kabuche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabuche, A., Aitkaki, Z. and Benlabed, K. 2005. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. International Journal of aromatherapy, 15(3): 129-133.
 18. Mahmoudi, R., Zare, P. and Nosratpour S. 2015. Application of *Teucrium polium* essential oil and *lactobacillus casei* in yoghurt. Journal of Essential Oil Bearing Plant. 18(2): 477-81.
 19. Mahmoudi, R. and Nosratpour, S. 2013. *Teucrium polium* L. essential oil: phytochemical component and antioxidant properties. International food research Journal, 20(4):1697-1701.
 20. Mirza, M. 2001. The quantitative and qualitative chemical composition of essential oil of *Teucrium polium*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 10: 27-38.
 21. Mitic, V., Jovanović, O., Stankov-Jovanović, V., Zlatkovic B. and Stojanovic, G. 2012. Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. *capitatum* from the Balkan Peninsula. Natural Product Communications, 7(1): 83-6.
 22. Mohammad-nejad, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A. and Akbarzadeh, M. 2006. A Study on the Effect of Height on the Quality and Quantity of the Active Ingredients of the Essential Oil of (*Rosmarinus officinalis* L.) which is Cultivated in two areas of Ma-zandaran province. Quarterly journal of ecophytochemistry of medicinal plants, 1(2): 36-42.
 23. Mohammadpour Vashvaei, R., Sepehri, Z., Jahantigh, M. and Javadian, F. 2015. Antimicrobial Activities of *Teucrium Polium* Against *Salmonella Typhimurium*. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 3(2): 149-152.
 24. Moghtader, M. 2009. Chemical composition of the essential oil of *Teucrium polium* L. from Iran. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 5: 843-846.
 25. Mozaffarian, V. 1996. A Dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser, Tehran, Iran.
 26. Niazmand, S., Esparham, M., Hassannia, T. and Derakhshan, M. 2011. Cardiovascular effects of *Teucrium polium* L. extract in rabbit. Pharmacognosy Magazine, 7(27): 260-264.
 27. Rechinger, K.H. 1982. Labiatae. In: Rechinger, K.H. (ed.) Flora Iranica, 150. 597pp. -Graz.
 28. Ricci, D., Franternale, D., Giamperi, L.A., Bucchini, F., Epifano, H., Burini, G. and Curini, M. 2005. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). Journal of Ethnopharmacology, 98: 195-200.
 29. Sabzeghabaie, A. and Asgarpanah, J. 2016. Essential oil composition of *Teucrium polium* L. fruits. Journal of Essential Oil Research, 28: 77-80.
 30. Sadeghi, H., Jamalpoor, S. and Shirzadi, M.H. 2014. Variability in essential oil of *Teucrium polium* L. of different latitudinal populations. Industrial Crops and Products. 54: 130-134.
 31. Węglarz, Z., Osińska, E., Geszprych, A. and Przyby, J. 2006. Intraspecific variability of wild marjoram (*Origanum vulgare* L.) naturally occurring in Poland. Revista Brasileira de Plantas Medicinaiis, 8: 23-26.

Comparison of phytochemicals of essential oils in ecotypes of *Teucrium polium* subsp. *polium* in Fars province

Rowshan, V.^{1*}, Zareiyani, F.², Bahmanzadegan, A.³, Hatami, A.⁴

¹Assistant Professor, Dept. of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran.

²M.Sc., Dept. of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

³M.Sc., Dept. of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

⁴M.Sc., Dept. of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

Received: 2018-6-25 ; Accepted: 2019-5-26

Abstract

Teucrium polium L. is a native plant of Iran that is used in traditional medicine. This study was designed to investigate the chemical composition of the essential oil in seven *T. polium* ecotypes with a range of 800 to 2500 altitudes in Fars province. To perform this study, the aerial parts of *T. polium* were collected in flowering stages and dried under laboratory conditions. Then, the essential oils were obtained by hydrodistillation method and analyzed by GC/MS. The results showed that the most important constituents of essential oils varied in different habitats and the main components were germacrene- D (22.6–6.7%), bicyclogermacrene (15.1–4.4%), α -pinene (16.6–0.8%), β -Pinene (9.2–0.8%), myrcene (9.5–1.7%) and (E)-Caryophyllene (13.9–4.2%). Comparison of the major constituents of the essential oils showed that the ecotypes collected from higher altitude areas had higher sesquiterpene than monoterpenes. Data analysis of the main constituents of the essential oils using Minitab software led to the identification of three distinct groups, indicating the existence of intra-species phytochemical diversity in this plant.

Keywords: Essential oil, Ecotype, *Teucrium polium*, Fars province.

*Corresponding author; v.rowshan@gmail.com