Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants, 1 (1): 49-64, (2022)

Evaluation of phytochemical diversity among some genotypes and different organs of *Verbascum* species in northwest of Iran

Amini Soniya[1], Fattahi Mohammad[2*], Nazemiyeh Hossein[3]

[1]Ph.D Student, Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[2]Associate Professor, Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Professor, Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

ABSTRACT INFO

Research Paper

Received: 08 Nov 2022

Accepted: 17 Jan 2023

ABSTRACT

Different organs of *Verbascum* species (mullein) have great importance in the pharmaceutical industry, because they are containing saponins, phenols, flavonoids, and mucilage. The west of Iran is one of the most important centers of mullein diversity. In order to recognize and utilize of potential of native genotypes in breeding programs, mullein diversity in northwest of Iran was studied in 40 regions of West Azerbaijan, East Azerbaijan, and Kurdistan provinces. The present study was done based on phytochemical diversity (total phenol content, flavonoid content, saponin content, and antioxidant activity). According to the results, notable diversity for *Verbascum* germplasm was recorded in northwest of Iran. Also, a significant difference among studied genotypes was observed. The highest amount of total phenol (44.35 mg GAE / g DW) was observed in the root organ of genotype G8 (*V. stachydiforme*). The highest amount of total flavonoids (6.32 mg QE / gDW) was observed in leaves of G2 (*V. erianthum*) genotype. Based on the results of present research G2, G8, G10, and G14 genotypes are introduced as superior genotypes in point of total phenol, total flavonoids, total saponin, and antioxidant activity. Therefore the introduced genotypes can be used as selected sources in breeding programs after supplementary studies.

Key words: Mullein, Northwest of Iran, Phenolic compounds, Total saponin.

How to cite this article:
Amini S, Fattahi M, Nazemiyeh H. 2022. Evaluation of phytochemical diversity among some genotypes and different organs of *Verbascum* species in northwest of Iran. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 1 (1): 49-64. (In Farsi)
DOI: 10.30479/ARMP.2023.18056.1006

©The Author(s).
Publisher: Imam Khomeini International University
ARMP is an open access journal under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/BY/4.0/)

*Corresponding Author Email: **mo.fattahi@urmia.ac.ir**

نشریه پژوهش‌های پیشرفته در گیاهان دارویی، دوره اول، شماره ۱، زمستان ۱۴۰۱، ص ۶۴-۴۹

بررسی تنوع فیتوشیمیایی بین برخی ژنوتیپ‌ها و اندام‌های مختلف گل ماهور در شمال غرب ایران

سونیا امینی[۱]، محمد فتاحی[۲*]، حسین ناظمیه[۳]

[۱]دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
[۲]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
[۳]استاد، مرکز تحقیقات ریزفناوری دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز

اطلاعات مقاله

علمی-پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۷

پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷

چکیده

اندام‌های گونه‌های مختلف گل ماهور (*Verbascum spp*) به دلیل برخورداری از ساپونین‌ها، فنل‌ها، فلاونوئیدها و موسیلاژ خواص و اهمیت بسزایی در صنایع دارویی دارند. غرب ایران یکی از مراکز اصلی تنوع گونه‌های مختلف گل ماهور به شمار می‌رود. با هدف شناخت و بهره‌برداری از ظرفیت ژنوتیپ‌های بومی در کارهای اصلاحی، تنوع ژنتیکی این گیاه در شمال غرب ایران (۴۰ منطقه از استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و کردستان) بر اساس تنوع فیتوشیمیایی (فنل کل، فلاونوئید کل، ساپونین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد که ژرم پلاسم متنوعی از گل ماهور در شمال غرب ایران وجود دارد و بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده شد. بیشترین مقدار فنل کل (۴۴٫۳۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) در اندام ریشه ژنوتیپ (*V. stachydiforme*) G8 و بیشترین مقدار فلاونوئید کل (۶٫۳۲ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک) در اندام برگ ژنوتیپ G2 (*V. erianthum*) مشاهده شد. بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد ژنوتیپ‌های G2، G8، G10 و G14 از نظر بسیاری از صفات (مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، ساپونین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی) بر دیگر ژنوتیپ‌ها برتری دارند و می‌توان بعد از مطالعات تکمیلی از آنها در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: ترکیبات فنلی، ساپونین کل، شمال غرب ایران، گل ماهور.

استناد به این مقاله

Amini S, Fattahi M, Nazemiyeh H. 2022. Evaluation of phytochemical diversity among some genotypes and different organs of *Verbascum* species in northwest of Iran. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 1 (1): 49-64. (In Farsi)

DOI: 10.30479/ARMP.2023.18056.1006

حق‌مؤلف © نویسندگان
ناشر: دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

*نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول: **mo.fattahi@urmia.ac.ir**

مقدمه

ژنوتیپ‌های یک گونه دارویی، کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه خود را برای سازگاری با شرایط اکولوژیکی مختلفی که در آن قرار می‌گیرند، تغییر می‌دهند. این تغییرات معمولاً ناپایدارند ولی اگر اوضاع محیطی یاد شده در محل رویش گیاه، پایدار شود در دراز مدت، نسل‌های بعدی برای سازگاری با محیط جدید انتخاب، و این سازگاری به تدریج به صفات موروثی و قابل انتقال به نتایج تبدیل می‌شوند؛ در نتیجه تیپ‌های متنوعی از یک گونه به وجود می‌آیند که این تنوع به تفاوت در دامنه فعالیت دارویی و بیولوژیکی آنها منجر می‌شود (Selseleh *et al*., 2019). انعطاف پذیری ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی، بروز این تنوع را امکان‌پذیر می‌سازد و به تدریج تحت تأثیر نیروی تکامل، ژنوتیپ‌هایی از یک گونه در مناطق جغرافیایی مختلف به وجود می‌آیند که از نظر فعالیت‌های نموی، فیزیولوژیکی، شیمیایی، گیاه‌شناسی و ژنتیکی از یکدیگر متمایز می‌شوند (Canter *et al*., 2005). با توجه به این دلایل، توده‌های بومی گیاهان دارویی به ویژه جمعیت‌های وحشی از نظر ویژگی‌های مورفوفنولوژیکی و نیز فیتوشیمیایی ناهمگن هستند؛ بنابراین در صورت بهره‌برداری و واردکردن یک گونه دارویی به صنعت، هر استراتژی که در نظر گرفته شود، اعم از بهره‌برداری از رویشگاه‌های طبیعی، اهلی کردن (در مورد جمعیت‌های وحشی) و یا اصلاح (انواع کشت‌شده)، نیازمند بررسی ژنتیکی، شناسایی هویت و ویژگی‌های شیمیایی آن گونه دارویی است (Bernath, 2002).

گل ماهور یا خرگوشک (*Verbascum* L.) با بیش از ۳۶۰ گونه در سرتاسر دنیا بزرگ‌ترین جنس از خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) است. تقریباً ۶۰ درصد از گونه‌های گل ماهور در جهان در مناطق آناتولیا (ترکیه) و شمال غرب ایران متمرکز است. مرکز اصلی تنوع این جنس آناتولیا است. ایران دارای ۴۲ گونه است که حدوداً ۲۰ گونه از آن (۴۸ درصد) در استان آذربایجان غربی، که در همسایگی آناتولیا است، پراکندگی دارد (Rechinger, 1981). گزارش‌های زیادی در مورد استفاده دارویی از این گیاه برای رفع مشکلات تنفسی از قبیل برونشیت، سرفه خشک، سیاه‌سرفه، سل و آسم در طب سنتی وجود دارد. برگ، ریشه و گل این گیاه خواص تسکین‌دهنده، ضد میکروبی، ضدالتهاب و آرام‌بخش دارند (Tatli and Akdemir, 2004). گونه‌های مختلف گل ماهور برای درمان دردهای روماتیسمی، هموروئید و ترمیم زخم‌های سطحی استفاده می‌شوند. گل‌ها اثر ضدالتهاب بر دستگاه ادراری دارند. عصاره ریشه برای کاهش دندان‌درد و همچنین رفع گرفتگی عضلات، تشنج و میگرن استفاده می‌شود. استفاده از آب گیاه یا پودر ریشه‌های گیاه باعث حذف سریع زگیل می‌شود (Panchal and Lamboli, 2010). اثر دارویی اندام‌های مختلف گل ماهور به دلیل وجود ترکیباتی چون ساپونین‌ها، ایریدوئید گلیکوزیدها، فنیل اتانوئیدها، مونوترپن‌ها، نئولیگنان گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، استروئیدها و اسپرمین آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیراشباع است. ایریدوئید گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، فنیل اتانوئیدها و ساپونین‌ها به ترتیب بیشترین مقدار را در این جنس دارا هستند (Tatli and Akdemir, 2004). Arrif و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند ساپونین‌ها و گلیکوزیدهای ایریدوئیدی بیشترین ترکیبات در جنس ورباسکوم هستند و سمیت گونه *V. balli* ناشی از غلظت زیاد ترکیبات ساپونینی آن است. از دیگر خواص بارز گونه‌های مختلف جنس ورباسکوم اثر آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی مواد مؤثر اندام‌های مختلف آن است. مطالعه Tatli و همکاران (۲۰۰۴) درباره برخی از گونه‌های جنس گل ماهور در ترکیه نشان داد که ساپونین عامل اصلی خاصیت ضد قارچی گونه‌های مختلف این جنس است. Karimian و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی فیتوشیمیایی عصاره بخش‌های هوایی (گل، برگ، ساقه) گونه *V. cheirantifolium* نشان دادند که بین ترکیبات اندام‌های هوایی گیاه از لحاظ کمیت و کیفیت، شباهت‌ها و تفاوت‌هایی وجود دارد. اندام‌های برگ و ساقه، ترکیبات متنوع‌تری نسبت به اندام گل دارند به طوری که برگ و ساقه دارای ۱۸ ترکیب و گل دارای ۱۶ ترکیب است. بیشترین ترکیب در هر سه اندام به ترکیبات بوتیل استر و بوتانونیک اسید مربوط است که نشان می‌دهد هر سه اندام توانایی بسیار زیادی در تولید ترکیبات یادشده دارند. Amini و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیقی تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی ۹ گونه گل ماهور را در استان آذربایجان غربی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد بین گونه‌های مختلف از نظر صفات مورفولوژیکی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین نوع گونه و اندام بر مقدار صفات فیتوشیمیایی در گل ماهور تأثیر معنی‌داری دارد. نتایج نشان داد که اندام برگ گل ماهور در مقایسه با اندام گل از مقدار بیشتری ترکیبات فنلی برخوردار است. این تحقیق به منظور ارزیابی تنوع فیتوشیمیایی در ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور در شمال غرب کشور و مقایسه بین اندام‌های گل، برگ و ریشه برای انتخاب بهترین اندام از نظر مقدار متابولیت ثانویه طراحی و اجرا شد.

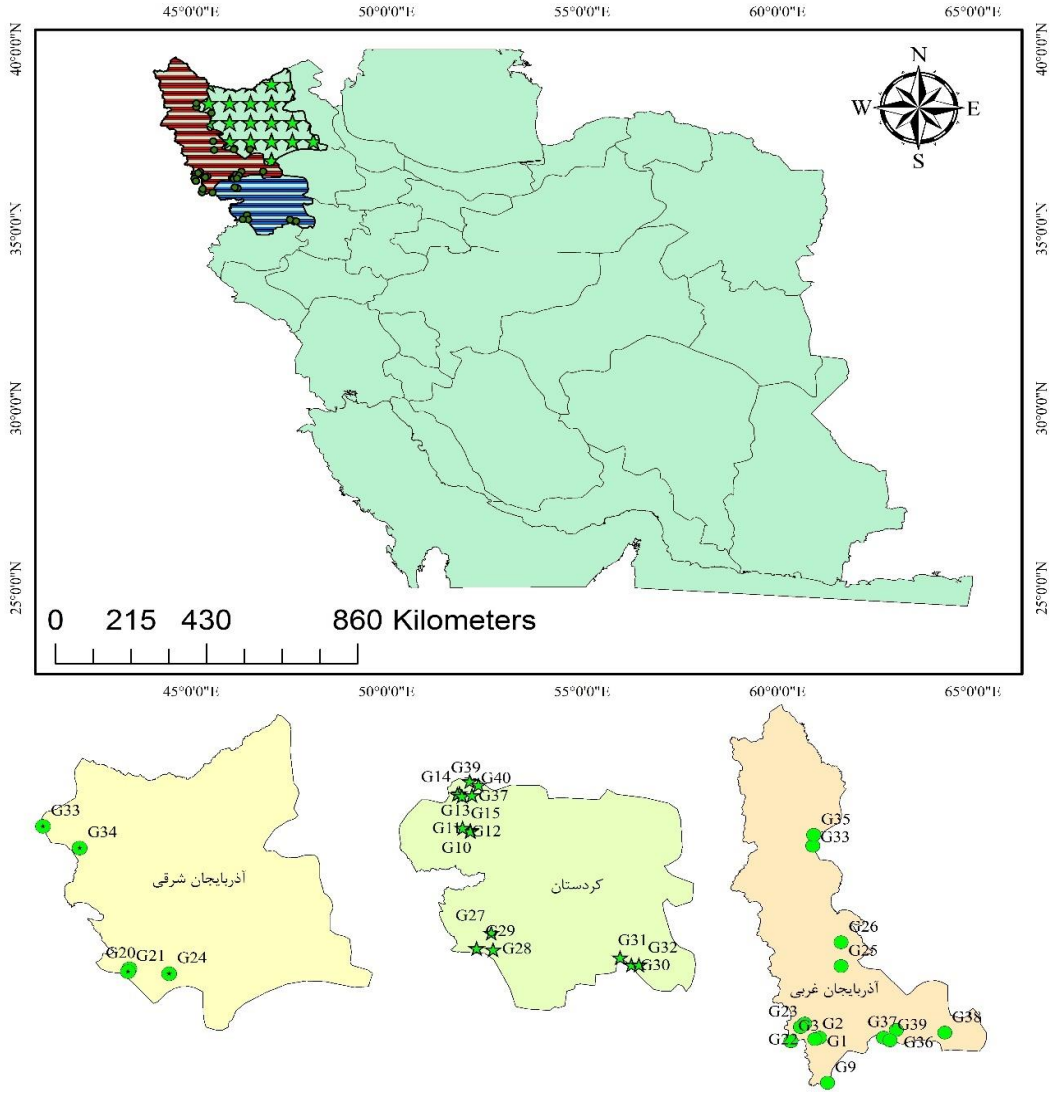
مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

انتخاب مناطق مورد مطالعه بر اساس فلور ایرانیکا و دیگر گزارش‌ها در زمینه پراکندگی جنس گل ماهور در شمال غرب کشور (منطقه ایران تورانی) صورت گرفت. سه استان شمال غرب کشور (آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و کردستان) که خاستگاه بسیاری از گونه‌های گل ماهور در ایران هستند برای جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و انجام آزمایش انتخاب شدند (شکل ۱). بررسی و شناسایی پراکنش گونه‌ها با بهره‌گیری از منابع مختلف در این زمینه و بازدید از مناطق متعدد در تیرماه ۱۳۹۸ انجام شد. مشخصات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه با استفاده از دستگاه GPS مشخص شد (جدول ۱). هنگام نمونه‌برداری برای شناسایی گونه‌های مختلف، نمونه هرباریومی تهیه، و همچنین مشخصات اصلی برای شناسایی گونه‌ها اندازه‌گیری و یادداشت شد.

ارزیابی فیتوشیمیایی

اندام برگ، گل و ریشه جمعیت‌های مختلف گل ماهور برای ارزیابی‌های فیتوشیمیایی از اوایل تیرماه جمع‌آوری شد. مهم‌ترین ویژگی‌های فیتوشیمیایی که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفتند عبارت است از: ساپونین تری ترپنوئیدی کل، فنل کل، فلاونوئید کل و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH.



شکل ۱- مناطق جمع‌آوری ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور در شمال غرب کشور

جدول ۱- مناطق جمع‌آوری ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور در شمال غرب کشور

ژنوتیپ	محل جمع‌آوری	گونه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر)
G1	آذربایجان غربی/مهاباد	*V. erianthum*	۳۶°۴۶'۱۵"	۴۵°۴۱'۱۹"	۱۴۰۷
G2	آذربایجان غربی/مهاباد	*V. erianthum*	۳۶°۴۴'۰۴"	۴۵°۳۶'۵۶"	۱۳۶۴
G3	آذربایجان غربی/پیرانشهر	*V. sinuatum*	۳۶°۴۰'۰۶"	۴۵°۰۹'۲۷"	۱۴۰۲
G4	آذربایجان غربی/پیرانشهر	*V. pseudo-digitalis*	۳۶°۳۳'۱۹"	۴۵°۱۲'۵۸"	۱۴۹۵
G5	آذربایجان غربی/پیرانشهر	*V. pseudo-digitalis*	۳۶°۳۳'۲۱"	۴۵°۱۲'۵۲"	۱۴۹۶
G6	آذربایجان غربی/سردشت	*V. haussknechtianum*	۳۶°۰۵'۵۶"	۴۵°۲۹'۵۶"	۱۰۳۳
G7	آذربایجان غربی/سردشت	*V. stachydiforme*	۳۶°۰۱'۵۱"	۴۵°۲۸'۲۶"	۱۲۸۲
G8	آذربایجان غربی/سردشت	*V. stachydiforme*	۳۶°۱۱'۱۵"	۴۵°۳۰'۰۷"	۱۲۲۸
G9	کردستان/ بانه	*V. punalense*	۳۶°۰۱'۰۳"	۴۵°۵۵'۴۲"	۱۵۷۴
G10	کردستان/سقز	*V. stachydiforme*	۳۶°۱۴'۱۱"	۴۶°۱۹'۰۸"	۱۵۸۴
G11	کردستان/سقز	*V. sublobatum*	۳۶°۱۳'۴۰"	۴۶°۱۹'۱۱"	۱۵۶۵
G12	کردستان/سقز	*V. szovitsianum*	۳۶°۱۵'۵۱"	۴۶°۱۲'۳۳"	۱۷۲۱
G13	آذربایجان غربی/بوکان	*V. szovitsianum*	۳۶°۴۱'۳۱"	۴۶°۰۷'۳۰"	۱۳۱۷
G14	آذربایجان غربی/بوکان	*V. szovitsianum*	۳۶°۴۰'۴۸"	۴۶°۰۵'۵۱"	۱۳۳۷
G15	آذربایجان غربی/بوکان	*V. szovitsianum*	۳۶°۳۹'۲۵"	۴۶°۰۹'۵۵"	۱۳۳۰
G16	آذربایجان غربی/ارومیه	*V. stachydiforme*	۳۷°۱۰'۲۲٫۵۳	۴۴°۵۲'۱٫۵۷"	۱۰۱۳
G17	آذربایجان غربی/ارومیه	*V. haussknechtianum*	۳۷°۱۰'۳۶٫۱۹"	۴۴°۵۱'۴۹٫۳۶"	۱۰۰۱
G18	آذربایجان غربی/ارومیه	*V. haussknechtianum*	۳۷°۱۱'۱۱٫۴۸"	۴۴°۴۸'۵۹٫۹۵"	۱۱۷۵
G19	آذربایجان غربی/ارومیه	*V. erianthum*	۳۷°۱۲'۱۷٫۸۴"	۴۴°۴۷'۳۴٫۲۷"	۱۲۵۱
G20	آذربایجان شرقی/مراغه	*V. erianthum*	۳۷°۲۳'۵٫۱۴"	۴۶°۱۱'۴۲٫۲۷"	۱۲۷۲
G21	آذربایجان شرقی/مراغه	*V. erianthum*	۳۷°۲۰'۹٫۶۲"	۴۶°۱۰'۳۶٫۰۳"	۱۵۰۰
G22	آذربایجان شرقی/نقده	*V. songaricum*	۳۶°۵۹'۴۴٫۰۱"	۴۵°۲۳'۴۶٫۲۷"	۱۳۱۵
G23	آذربایجان شرقی/نقده	*V. songaricum*	۳۶°۵۵'۸٫۱۷"	۴۵°۱۸'۲۰٫۸۹"	۱۵۳۶
G24	آذربایجان شرقی/بناب	*V. songaricum*	۳۷°۲۱'۳٫۱۸"	۴۶° ۵'۳۲٫۰۵"	۱۳۶۳
G25	آذربایجان شرقی/بناب	*V. songaricum*	۳۷°۱۹'۵۵٫۶۰"	۴۵°۵۹'۶٫۲۸"	۱۳۲۱
G26	آذربایجان شرقی/آذرشهر	*V. songaricum*	۳۷°۴۳'۹٫۶۹"	۴۵°۵۷'۲۷٫۰۰"	۱۴۱۷
G27	کردستان/مریوان	*V. stachydiforme*	۳۵°۳۸'۲۷٫۳۱"	۴۶°۴۳'۲۶٫۵۴"	۱۴۹۷
G28	کردستان/مریوان	*V. stachydiforme*	۳۵°۱۶'۳٫۸۸"	۴۶°۳۹'۲۷٫۱۹"	۱۳۸۶
G29	کردستان/مریوان	*V. stachydiforme*	۳۵°۲۶'۲۰٫۰۸"	۴۶°۳۲'۱۷٫۳۳"	۱۱۰۳
G30	کردستان/سنندج	*V. haussknechtianum*	۳۵°۲۰'۲۱٫۸۹"	۴۷° ۶'۵۸٫۳۲"	۱۷۹۹
G31	کردستان/سنندج	*V. haussknechtianum*	۳۵°۲۵'۳۴٫۸۲"	۴۷° ۵'۴۹٫۳۳"	۱۴۷۷
G32	کردستان/سنندج	*V. haussknechtianum*	۳۵°۲۱'۲۴٫۲۰"	۴۷° ۶'۳۱٫۹۶"	۱۵۰۲
G33	آذربایجان غربی/خوی	*V. sublobatum*	۳۸°۳۸'۹٫۷۹"	۴۵° ۱'۰٫۳۹"	۱۶۸۷

جدول ۱ (ادامه)- مناطق جمع‌آوری ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور در شمال غرب کشور

ژنوتیپ	محل جمع‌آوری	گونه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر)
G34	آذربایجان غربی/خوی	*V. sublobatum*	۳۸°۲۲'۳۰٫۶۱"	۴۵°۵۲'۱۱٫۵۹"	۱۳۲۰
G35	آذربایجان غربی/خوی	*V. sublobatum*	۳۸°۴۹'۵۲٫۷۳"	۴۵°۱۳'۴٫۶۲"	۱۴۳۸
G36	آذربایجان غربی/میاندوآب	*V. szovitsianum*	۳۶°۵۹'۴۹٫۲۲"	۴۶°۲۹'۵۶٫۱۰"	۱۴۲۹
G37	آذربایجان غربی/میاندوآب	*V. sublobatum*	۳۶°۵۰'۴۳٫۶۵"	۴۶° ۱'۵٫۵۲"	۱۳۴۵
G38	آذربایجان غربی/میاندوآب	*V. sublobatum*	۳۶°۵۹'۹٫۶۳"	۴۶° ۸'۵۲٫۵۱"	۱۳۰۲
G39	آذربایجان غربی/میاندوآب	*V. sublobatum*	۳۶°۴۸'۱۱٫۳۷"	۴۶°۲۲'۱۵٫۸۹"	۱۳۷۱
G40	آذربایجان غربی/میاندوآب	*V. sublobatum*	۳۶°۴۰'۴۶٫۴۱"	۴۶°۱۸'۵۲٫۱۵"	۱۵۶۸

عصاره‌گیری

اندام‌های خشک شده ژنوتیپ‌های مختلف با استفاده از نیتروژن مایع پودر شد و عصاره‌گیری متانولی از آنها با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام گرفت. یک گرم از هر نمونه با اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت نیم ساعت در دستگاه اولتراسونیک در دمای ۳۰ درجه عصاره‌گیری شد.

اندازه‌گیری فنل کل (TPC)

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی با استفاده از معرف فولین سیلیکاتیو صورت گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره از محلول استخراج شده اصلی برداشته شد؛ سپس ۱۸۰ میکرولیتر آب دی‌یونیزه و ۱۲۰۰ میکرولیتر فولین به مخلوط اضافه، و بعد از ۵ دقیقه به آن کربنات سدیم ۷٫۵ درصد افزوده شد. پس از آن نمونه‌ها ۴۵-۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. در نهایت جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفوتومتر (Model:DB-20S) قرائت شد. همچنین از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد (Ebrahimzadeh *et al*., 2008).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل (TFC)

برای سنجش میزان فلاونوئید، ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد، ۳۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد و ۱۰۰۰ میکرولیتر استات سدیم یک مولار مخلوط شد؛ سپس با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب مخلوط در طول موج ۳۸۰ نانومتر قرائت گردید. از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شد. میزان فلاونوئید کل نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang *et al*., 2002).

اندازه‌گیری ساپونین کل (TSC)

اندازه‌گیری ساپونین کل با روش vanillin-sulfuric acid انجام شد. پایه و اساس این روش بر واکنش اکسید شدن ساپونین‌های تری ترپنوئیدی با وانیلیک اسید مبتنی است. در این واکنش سولفوریک اسید به عنوان اکسید کننده استفاده می‌شود و مشخصه رنگ این واکنش بنفش (ارغوانی) است. برای این منظور به ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی گیاهی ۳۰۰ میکرولیتر معرف وانیلیک اسید ۰٫۷ درصد در سولفوریک اسید ۶۵ درصد اضافه شد. نمونه‌ها ورتکس شدند؛ سپس در حمام آب گرم با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفتند و پس از آن به منظور توقف واکنش، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب سرد قرار گرفتند. منحنی استاندارد با استفاده از دیوسژنین در غلظت‌های ۵۰ تا ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسم شد. میزان ساپونین کل در نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم دیوسژنین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Mostafa *et al*., 2013).

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH)

مقدار مشخصی از عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH، ۵ برابر رقیق شد. ۳ میکرولیتر از نمونه را داخل لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH (۶×۱۰^{-۵} مول بر لیتر) اضافه شد. محلول را تکان داده و در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب در ۵۱۷ نانومتر در اسپکتروفتومتر قرائت شد. در این روش ویتامین C (آسکوربیک اسید) به عنوان استاندارد استفاده شد. آزمایش‌ها سه بار تکرار، و میانگین آنها گزارش

شد. میزان IC_{50} (غلظتی از هر عصاره که لازم است تا ۵۰ درصد رادیکال‌ها پاک‌سازی شود) برای عصاره‌ها تعیین شد. در این آزمایش غلظت‌های ۳٫۱۲۵، ۶٫۲۵، ۱۲٫۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای همه عصاره‌ها تهیه شد. در نهایت درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH طبق فرمول ۱ محاسبه شد (Burits and Bucar, 2000):

$$\text{درصد مهار}=(A_{control}-A_{sample})/A_{control}\times 100 \quad (1)$$

که در آن:

$A_{control}$: جذب محلول بلانک در طول موج ۵۱۷ نانومتر

A_{sample}: جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌های به دست آمده با سه تکرار به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم شد. محاسبه همبستگی صفات و دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار R studio انجام شد.

نتایج

فنل کل (TPC)

مطابق نتایج جدول ۲، اثر ژنوتیپ، نوع اندام و اثر متقابل ژنوتیپ و اندام در سطح احتمال ۱ درصد، اثر معنی‌داری بر مقدار فنل کل در گیاه دارویی گل ماهور داشت. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد بیشترین مقدار فنل کل ۴۴٫۳۵ و ۴۲٫۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک به ترتیب در اندام ریشه ژنوتیپ (*V. stachydiforme*) G8 و اندام برگ ژنوتیپ G2 (*V. erianthum*) مشاهده شد. کمترین مقدار فنل کل ۰٫۱۸ و ۰٫۲۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک به ترتیب در اندام ریشه ژنوتیپ‌های (*V. pseudo-digitalis var. phoenicandrum*) G5 و (*V. sublobatum*) G11 مشاهده شد. با توجه به جدول ۳ ژنوتیپ‌های G7، G11، G23، G33 و G36 ترکیبات فنلی کمتری در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها در اندام‌های خود دارند و مقدار ترکیبات فنلی در اندام‌های ژنوتیپ‌های G1، G2، G8، G12، G32 و G35 در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها بیشتر است.

نمودار جعبه‌ای (Boxplot) از یک جعبه و دو میله که از آن بیرون آمده تشکیل شده است. این نمودار روشی غیر پارامتری برای بررسی توزیع داده‌ها است که مشخص می‌کند بیشترین مقادیر در کجا قرار دارد. با توجه به شکل ۲ در این نمودار میانه، که به وسیله خط پر رنگی داخل جعبه مشخص می‌شود، نقطه‌ای است که در آن حداقل نصف داده‌ها (۵۰ درصد) از آن مقدار کمتر باشد. خطوطی که از مستطیل خارج می‌شود شامل بیشترین و کمترین مقدار داده است که از لحاظ آماری پرت نیست. چارک اول (Q1) خط ابتدای جعبه است و نقطه‌ای است که نشان می‌دهد ۲۵ درصد داده‌ها از آن کوچک‌تر است. چارک سوم (Q3) خط انتهای جعبه است و نقطه‌ای است که نشان می‌دهد ۷۵ درصد داده‌ها از آن کوچک‌تر است. دامنه میان چارکی (IQR) فاصله بین چارک اول و سوم توسط این شاخص نشان داده می‌شود. داده‌هایی که از کمینه کوچک‌تر و یا از بیشینه بزرگ‌تر است، داده پرت به شمار می‌رود.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فنل کل	فلاونوئید کل	ساپونین کل	فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)
ژنوتیپ	۳۹	۲۶۱٫۱۶۶**	۴٫۴۶۷**	۲۲۹۲۰٫۹۸**	۸۵٫۰۷**
اندام	۲	۸۸۶٫۹۰۸**	۹۴٫۶۱۱**	۳۴۶۴۹٫۶۸**	۲۵۸٫۳۵**
ژنوتیپ×اندام	۷۸	۱۵۸٫۹۵۵**	۲٫۶۹۹**	۱۴۴۷۰٫۶۸**	۴۵٫۷۳**
خطا	۲۳۶	۰٫۱۶۰	۰٫۰۹	۵٫۴۸۶	۰٫۳۸۴
C.V %		۳٫۴۷	۴٫۵۰	۱٫۵۰	۱۵٫۳۴

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۳- میزان فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و ساپونین کل در اندام‌های گل، برگ و ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور

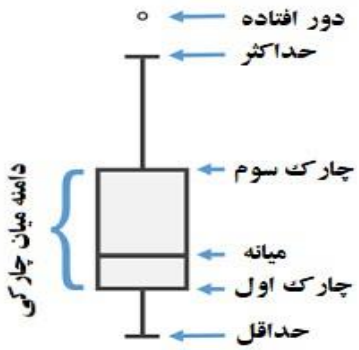
ژنوتیپ	گونه	فنل کل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک)			فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک)			فعالیت آنتی اکسیدانی (میکروگرم اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک)			ساپونین کل (میلی گرم دیوسژنین برگرم وزن خشک)		
		گل	برگ	ریشه	گل	برگ	ریشه	گل	برگ	ریشه	گل	برگ	ریشه
G1	*V. erianthum*	۲۶٫۴۳c	۱۲٫۵۳lm	۴٫۷۱p	۴٫۱۲e	۱٫۶op	۰٫۶۸qr	۱۰٫۰۱c	۱۰d-f	۶٫۸۳jk	۱۹۱٫۷۳e-g	۱۶۸٫۱۷kl	۱۲۲٫۸۹n
G2	*V. erianthum*	۵٫۷۵tu	۴۲٫۷۵a	۰٫۴۰۱v	۱٫۸۲q-s	۶٫۳۱a	۰٫۴۹st	۵٫۳۷jk	۱۴٫۵۲a	۷٫۷۳ij	۲۱۵٫۱۶ef	۱۲۱٫۴۱g	۴۰٫۴۲v
G3	*V. sinuatum*	۷٫۰۲s	۱۵٫۴۱h	۷٫۱۱no	۲٫۴k-m	۲٫۰۵kl	۰٫۸۷l-o	۷h	۹٫۶d-g	۱۱٫۶۵fg	۷۲٫۸p	۲۳٫۶۱v	۶۰٫۰۹t
G4	*V. pseudo-digitalis*	۶٫۱۶t	۲۴٫۸۴b	۴٫۱pq	۲٫۴۵j-l	۳٫۲۵d	۰٫۸۳m-p	۷٫۶۱g	۱۱٫۶۴bc	۵٫۱۱l	۱۷۰٫۲f-l	۱۸۶٫۸۴gh	۲۰۴٫۲۲j
G5	*V. pseudo-digitalis*	۰٫۹۲۳y	۱۰٫۵۸o-q	۰٫۱۷۹v	۱٫۷۴r-t	۱٫۶۲op	۰٫۴۶t	۴٫۳۶m	۷٫۴۹h-j	۱٫۶۳n-q	۱۳۰٫۳۶i-p	۱۹۳٫۲۲fg	۴۹٫۰۹u
G6	*V. haussknechtianum*	۲٫۸۴x	۹٫۳st	۱٫۶۲u	۱٫۸rs	۱٫۳g	۰٫۵۶st	۲٫۸۶o-q	۲٫۸۴no	۱٫۹۷m-p	۲۹۵٫۴۶b-d	۲۰۶٫۳۱de	۱۴۲٫۸۲m
G7	*V. stachydiforme*	۴٫۶۴v	۳٫۶۶x	۴٫۱۳pq	۲٫۰۳o-q	۱٫۲۸g	۰٫۶۸qr	۰٫۷۵w	۱٫۴۹op	۳٫۱۴m	۲۰۲٫۷۳e-g	۲۱۷٫۲۲c	۳۰۸٫۶۹b
G8	*V. stachydiforme*	۲۵٫۷۶d	۲۵٫۵۳b	۴۴٫۳۵a	۳٫۰۵h	۲٫۶۸gh	۳٫۰۵۴a	۱۹a	۷٫۰۹ij	۵٫۲۲l	۱۵۲٫۵g-n	۱۶۵٫۲۱l	۳۲۲٫۵۶a
G9	*V. punalense*	۱۳٫۱۲l	۷٫۱۵v	۸٫۲۶lm	۱٫۸۹o-q	۱٫۲۸g	۰٫۸۸l-n	۲٫۷۵p-r	۰٫۶۹p	۵٫۹۹kl	۲۱۴٫۴۳de	۱۳۵٫۵op	۹۸٫۲۲qr
G10	*V. stachydiforme*	۱۶٫۶۱g	۱۸٫۳۲de	۱۴٫۷۸d	۶٫۲۶a	۴٫۴۳b	۳٫۲b	۱۱٫۷۲bc	۶٫۰۷i	۱۲٫۹۹de	۳۲۰٫۱۶a-c	۲۸۸٫۹۶a	۲۱۱٫۶۹fg
G11	*V. sublobatum*	۳٫۵۱w	۷٫۳۳v	۰٫۲۱۳v	۱٫۵۴t	۱٫۲۲g	۰٫۴۶t	۱٫۵۴u	۵٫۴۴kl	۰٫۷۲p-r	۲۶۳٫۹۳b-d	۱۷۸٫۷۴h-j	۸۳٫۶۲s
G12	*V. szovitsianum*	۳۳٫۸۳a	۱۰٫۶۹o-q	۱٫۸۲u	۱٫۶۳op	۵٫۵۲c	۰٫۷۱p-r	۲t	۳٫۲۹mn	۰٫۸۵p-r	۳۶۵٫۶ab	۱۸۴٫۱۹g-i	۱۰۷٫۱۶p
G13	*V. szovitsianum*	۱۰٫۵۳m	۲۱٫۵۲c	۸٫۰۳m	۲٫۷۹i	۲٫۹۵e	۰٫۷۶n-q	۸٫۶e	۱۲٫۸۶b	۱۳٫۶۱c-e	۲۴۳٫۶cd	۱۵۰٫۳۹mn	۲۲۷٫۱۶e
G14	*V. szovitsianum*	۷٫۲۶rs	۱۸٫۹۷de	۸٫۱۵lm	۲٫۰۵o-q	۲٫۵۷h	۱٫۱۶e-h	۳٫۶۹n	۱۴٫۸۸a	۱۴٫۱۴a-d	۳۸۵٫۵۶a	۱۵۵٫۳۱m	۹۳٫۴۲r
G15	*V. szovitsianum*	۹٫۷۱n	۱۳٫۴۷j-l	۹٫۶ij	۳٫۲h	۱٫۹۲lm	۱٫۲۱ef	۲٫۳۸rst	۵٫۴۶kl	۱۵٫۳۵a	۱۹۸ef	۱۴۲٫۵۶no	۱۰۵٫۳۶pq
G16	*V. stachydiforme*	۲۳٫۳۳f	۷٫۸۲uv	۸٫۸۸kl	۳٫۲g	۱٫۵۳p	۰٫۸۵l-o	۳٫۶۷n	۳٫۳۳mn	۲٫۷۱mn	۱۱۰٫۲۳m-p	۱۵۳٫۸۱m	۱۸۴٫۹۶ij
G17	*V. haussknechtianum*	۶٫۹۳s	۱۰٫۱۷p-s	۱۲٫۸۳e	۲٫۶۹ij	۱٫۸۷mn	۱٫۹۵e-g	۰٫۶۳w	۳٫۸۲mn	۱۴٫۰۲b-d	۲۹۱٫۶۳a-c	۱۳۱٫۰۹p	۳۰۸٫۴۹b
G18	*V. haussknechtianum*	۸٫۷۶o	۱۶٫۵g	۷٫۵۹mn	۳٫۲h	۲٫۷۹fg	۰٫۷۲o-q	۴٫۶m	۱۰٫۸۷cd	۱۲٫۵۲ef	۱۷۷٫۴۳f-j	۱۹۹٫۵۹ef	۱۵۳٫۰۲l
G19	*V. erianthum*	۱۹٫۰۲i	۲۱٫۰۷c	۴٫۴pq	۴٫۷۶d	۳٫۴۸c	۰٫۸۳m-p	۵٫۶j	۵٫۲kl	۷٫۹۳h-j	۱۱۹٫۹k-p	۷۶٫۵۹st	۱۱۶٫۹۶no
G20	*V. erianthum*	۲۴٫۶۷e	۱۲٫۶۲k-m	۶٫۵۹o	۵٫۸۶b	۱٫۹۸lm	۰٫۵۹rs	۱۸٫۸۷a	۶٫۱۸jk	۴٫۹۸l	۲۵۶٫۱cd	۱۲۹٫۸۱p	۹۸٫۵۶qr
G21	*V. erianthum*	۶٫۸۳s	۱۰٫۶۴o-q	۸٫۲۱lm	۱٫۸۸p-r	۱٫۹۲lm	۰٫۸۸l-n	۸٫۲ef	۳٫۰۹n	۹h	۱۹۵٫۸e-g	۱۸۰٫۶۹h-j	۱۶۳٫۰۹k
G22	*V. songaricum*	۱۱٫۰۲m	۱۱٫۲۷no	۱۴٫۱۵d	۲٫۶۵ij	۲٫۰۶kl	۱٫۲e-g	۸٫۵۴e	۸٫۱۸g-i	۱۳٫۲۹de	۳۲۰٫۲۳a-c	۱۳۵٫۵۱op	۲۳۳٫۴۹d
G23	*V. songaricum*	۷٫۰۵s	۵٫۸۸w	۳٫۴۸rst	۱٫۴۹p	۲٫۰۳o-q	۰٫۴۷st	۳٫۱۸op	۲٫۸no	۲٫۳۳m-o	۱۸۶٫۵۶e-i	۲۴۱٫۰۴b	۵۳٫۴۹u
G24	*V. songaricum*	۷٫۵۲qr	۱۲٫۶۵k-m	۹٫۰۸jk	۲٫۱۶no	۲٫۲۶ij	۰٫۹۶j-l	۰٫۶۲w	۴٫۲۲l-n	۱۰٫۸۷g	۲۷۶٫۲۶cd	۱۷۳٫۳۱j-l	۱۱۳٫۴۹p
G25	*V. songaricum*	۲۱٫۸۲g	۱۳٫۵۸jk	۴٫۲۳pq	۳٫۹۵f	۲٫۲jk	۰٫۸۴l-o	۲٫۱۱st	۸٫۶۸f-h	۸٫۰۴hi	۱۷۲٫۵۳f-k	۱۷۸٫۲۲h-j	۵۴٫۶۲u
G26	*V. songaricum*	۵٫۳۳u	۹٫۷۵rs	۷٫۱۱no	۲٫۳۳l-n	۲٫۲۹ij	۰٫۷۲pq	۱٫۲۴uv	۳٫۳۱mn	۱۱٫۴۸fg	۱۳۵٫۷h-o	۱۰۱٫۹۱r	۱۰۸٫۶۲p
G27	*V. stachydiforme*	۸٫۲۴op	۱۸٫۰۴ef	۱۳٫۰۵e	۱٫۶۱st	۲٫۲۸ij	۱٫۲۷e	۵٫۰۵kl	۹٫۲۴e-g	۱۴٫۶a-c	۹۸٫۴۶n-p	۱۹۰٫۱۹fg	۵۸٫۱۶u
G28	*V. stachydiforme*	۳٫۴۸w	۵٫۲۸w	۱۱٫۱۶g	۰٫۷۵u	۱٫۲g	۱٫۰۶h-j	۰٫۹۸vw	۲٫۶۸no	۸٫۹Vh	۱۲۹٫۶۶i-p	۷۴٫۹۱st	۲۰۵٫۴۲gh
G29	*V. stachydiforme*	۱۳٫۱۲l	۱۴٫۲۸ij	۱۷٫۱۲c	۱٫۷۲no	۳٫۰۲h	۱٫۰۹f-i	۷٫۷۳g	۱۰٫۵۴c-e	۱۴٫۵۶a-c	۱۰۵٫۳۶n-p	۶۷٫۱۹tu	۱۱۱٫۷۶op
G30	*V. haussknechtianum*	۱۹i	۱۹٫۲۱d	۳٫۲۵st	۳٫۱۶h	۳٫۱۶d	۰٫۸۲m-p	۲٫۵۲q-s	۲٫۶۷no	۵٫۴۷l	۱۱۳٫۶l-p	۱۳۳٫۰۴op	۸۱٫۴۹s
G31	*V. haussknechtianum*	۲۰٫۰۳h	۹٫۶۵rs	۱۰٫۴۹gh	۳٫۶۳g	۱٫۶۱op	۱٫۵۶d	۶٫۱۳i	۰٫۳۸p	۱۵٫۲۸a	۱۱۴٫۵۶l-p	۱۱۹٫۵۴g	۲۶۴٫۳۶c
G32	*V. haussknechtianum*	۲۷٫۴۲b	۲۵٫۱۴b	۱۰٫۰۴hi	۵٫۶۹bc	۲٫۸۸ef	۱٫۰۸g-j	۱۱٫۲b	۹٫۱۴e-g	۱۳٫۳۳de	۹۰٫۴۳n-p	۱۷۷٫۰۶i-k	۲۳۰٫۳۶ef
G33	*V. sublobatum*	۷٫۲۵rs	۶٫۱۳w	۷٫۱۴no	۲٫۱۶no	۱٫۵۱p	۳٫۵a	۱٫۰۳vw	۶٫۱۵jk	۱۴٫۶۴a-c	۱۳۵٫۱۶h-o	۱۳۸٫۶۶op	۹۷٫۳۶qr
G34	*V. sublobatum*	۸٫۰۶pq	۱۰٫۸۸op	۳٫۹۱q-s	۲٫۱op	۱٫۸۲mn	۰٫۹k-m	۴٫۶۹lm	۴٫۶۷lm	۲٫۲۱m-o	۱۰۹٫۲۳m-p	۲۰۲٫۴۱e	۲۰۸٫۳۶hi

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

جدول ۳ (ادامه)- میزان فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و ساپونین کل در اندام‌های گل، برگ و ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور

ژنوتیپ	گونه	فنل کل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک)			فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک)			فعالیت آنتی اکسیدانی (میکروگرم اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک)			ساپونین کل (میلی گرم دیوسژنین برگرم وزن خشک)		
		گل	برگ	ریشه	گل	برگ	ریشه	گل	برگ	ریشه	گل	برگ	ریشه
G35	*V. sublobatum*	۱۰٫۵۳m	۱۱٫۹٤mn	۳۸٫۲٤b	۲٫۳٦lmn	۱٫٤۷p	۳٫٤۳a	۹٫۳d	۳٫۷۲mn	۸٫۵٦hi	۱۱٦٫٦۳k-p	۱۱۵٫۱۱g	۲۱۱٫۹٦h
G36	*V. szovitsianum*	۷٫۸۸pq	۸٫٤۲tu	۰٫۳۵v	۱٫۸۱rs	۱٫۹۱lm	۰٫۵۱st	۱٫۵u	۳٫۵۵mn	۲٫۵m-o	۱۹۵٫۳٦e-g	۲۱۳٫۲۹cd	۲۹٫۲۲w
G37	*V. sublobatum*	۱۳٫٦۹l	۸٫٤۰tu	۲٫۸۸t	۲٫٦ijk	۱٫۵٦op	۰٫۵٦st	۹٫٦۲cd	٤٫۲۲l-n	۰٫۳٤p-r	۸۷٫۳٦op	۱٦۵٫۳٦l	٤۱٫۲۲v
G38	*V. sublobatum*	۸٫۳۹op	۱٤٫۷۲hi	۱٫۲٤u	۲٫۱۷no	۲٫۳۹i	۰٫٤۸st	۳٫۲۷no	٦٫۵۸ik	۱٫۳۲o-r	۱۲۵٫۵٦k-p	۱۷۷٫۰۲h-k	٤۰٫۰۹v
G39	*V. sublobatum*	۹٫۸۹mn	۱٤٫۱۷ij	۹٫۷۵ij	۳٫٦۹g	۳٫۱۹d	۱٫۷۳c	۵٫٦۳j	۷٫۱۷ij	۱۵٫۰۵ab	۱۲٦٫۱۳k-p	٦۱٫۱۱u	۱۰۷٫٦۹p
G40	*V. sublobatum*	۱۵٫۹٦k	۱۷٫۱۷fg	۱۱٫۸۸f	۲٫۲٤m-o	۲٫۱٤jk	۱i-k	۷٫۹٤f	۹٫۳۷e-g	۱۲٫٦۱ef	۹۹٫۱٦n-p	۷۸٫۲۱s	۹۷٫۲۱qr

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.



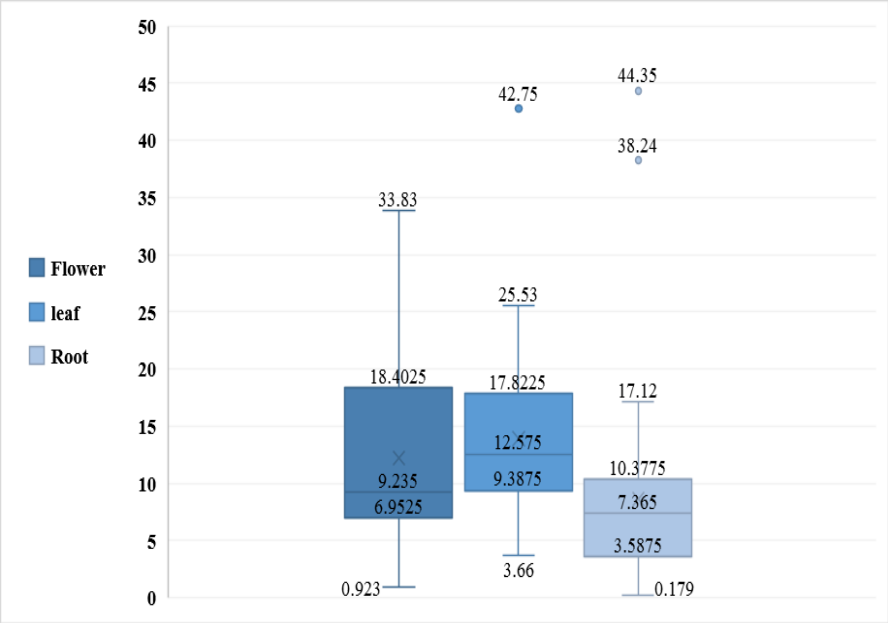
شکل ۲- توضیحات نمودار باکس پلات

با توجه به این توضیحات، نمودار جعبه‌ای برای نشان دادن توزیع پراکندگی فنل کل در سه اندام گل، برگ و ریشه رسم شد (شکل۳). نمودار جعبه‌ای اندام گل نشان می‌دهد مقدار فنل کل در اندام گل، دامنه تغییراتی بیشتری در مقایسه با دیگر اندام‌ها دارد؛ بنابراین می‌توان گفت مقدار فنل کل در اندام گل، بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ و شرایط محیطی قرار می‌گیرد. دامنه تغییرات در ریشه بین ۳٫۵۸ تا ۱۰٫۳۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک است که در مقایسه با دیگر اندام‌ها دامنه تغییرات کوچک‌تری است؛ پس می‌توان گفت اندام ریشه، کمتر تحت تأثیر ژنوتیپ و شرایط محیطی قرار می‌گیرد. داده‌های پرت در اندام برگ (٤۲٫۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و اندام ریشه (۳۸٫۲٤ و ٤٤٫۳۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) مشاهده می‌شود که این داده‌ها از بیشینه بزرگ‌تر است.

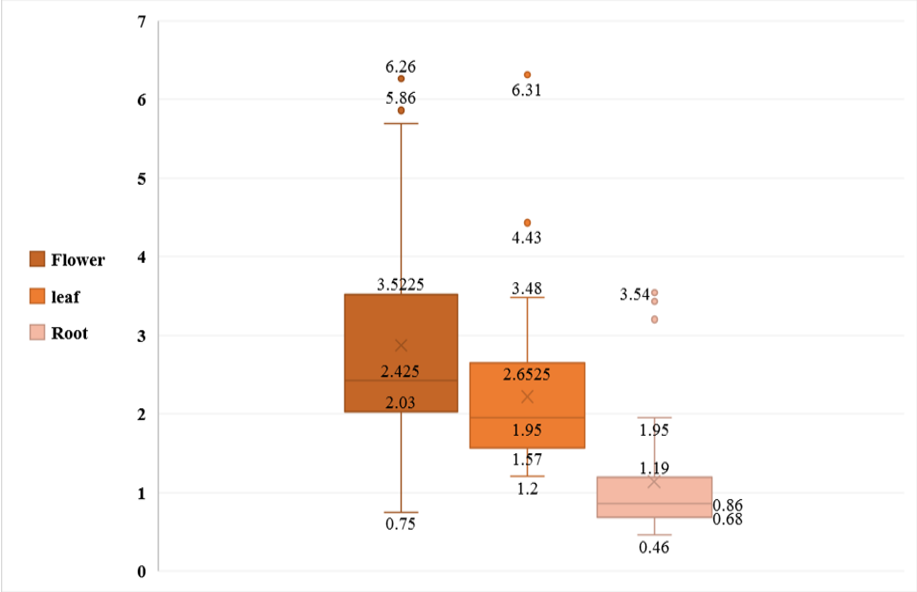
فلاونوئید کل (TFC)

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد ژنوتیپ، نوع اندام و اثر متقابل ژنوتیپ و اندام در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار فلاونوئید کل در گل ماهور دارد (جدول ۲). بیشترین مقدار فلاونوئید کل در اندام برگ ژنوتیپ G2 (*V. erianthum*) ٦٫۳۱ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک و اندام گل ژنوتیپ G10 (*V. stachydiforme*) ٦٫۲٦ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک مشاهده شد (جدول ۳). کمترین مقدار فلاونوئید کل در اندام ریشه ژنوتیپ G5 (*V. pseudo-digitalis var. phoenicandrum*) و G11 (*V. sublobatum*) مشاهده شد.

نمودار جعبه‌ای (شکل٤) نشان می‌دهد مقدار فلاونوئید در اندام گل، دامنه تغییرات بزرگ‌تری در مقایسه با دیگر اندام‌ها دارد. همچنین در نمودار جعبه‌ای اندام گل خط میانه به لبه پایینی مستطیل نزدیک‌تر است؛ بنابراین نتیجه می‌گیریم که داده‌ها به سمت مقادیر بزرگ‌تر، و دارای چولگی مثبت است؛ یعنی مقدار فلاونوئید کل در بیشتر از ۵۰ درصد ژنوتیپ‌ها بیش از ۲٫٤۲ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک است. میانه در اندام برگ ۱٫۹۵ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک و در اندام ریشه ۰٫۸٦ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک است.



شکل ۳- توزیع پراکندگی فنل کل در سه اندام گل، برگ و ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور



شکل ٤- توزیع پراکندگی فلاونوئید کل در سه اندام گل، برگ و ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور

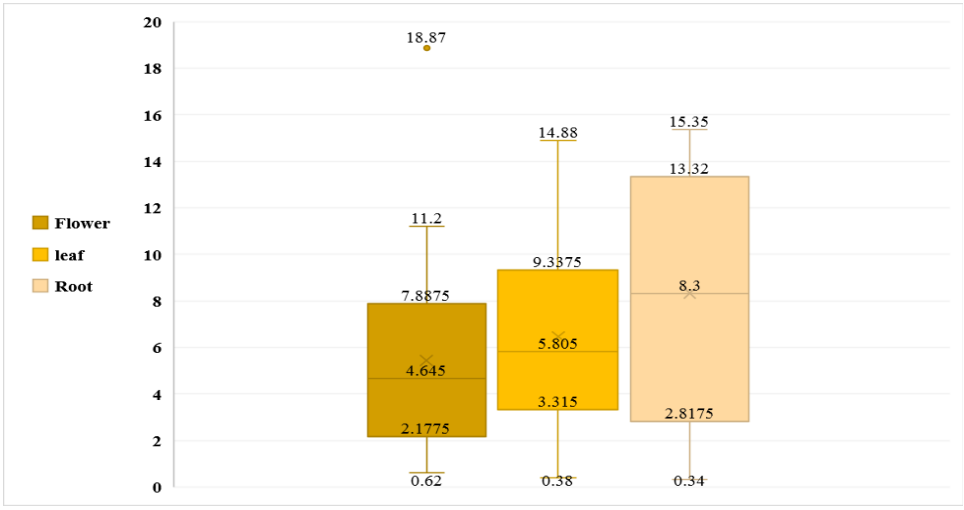
فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)

اثر ژنوتیپ، نوع اندام و اثر متقابل ژنوتیپ و اندام در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در گل ماهور دارد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد بیشترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در اندام گل ژنوتیپ G8 (*V. stachydiforme*) و ژنوتیپ (*V. erianthum*) G20 مشاهده شد (جدول ۳). نمودار جعبه‌ای نشان می‌دهد ارتفاع نمودار جعبه‌ای در اندام ریشه بیشتر از دیگر اندام‌ها است؛ بنابراین دامنه تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی در اندام ریشه، بیشتر از اندام گل و اندام برگ است (شکل۵).

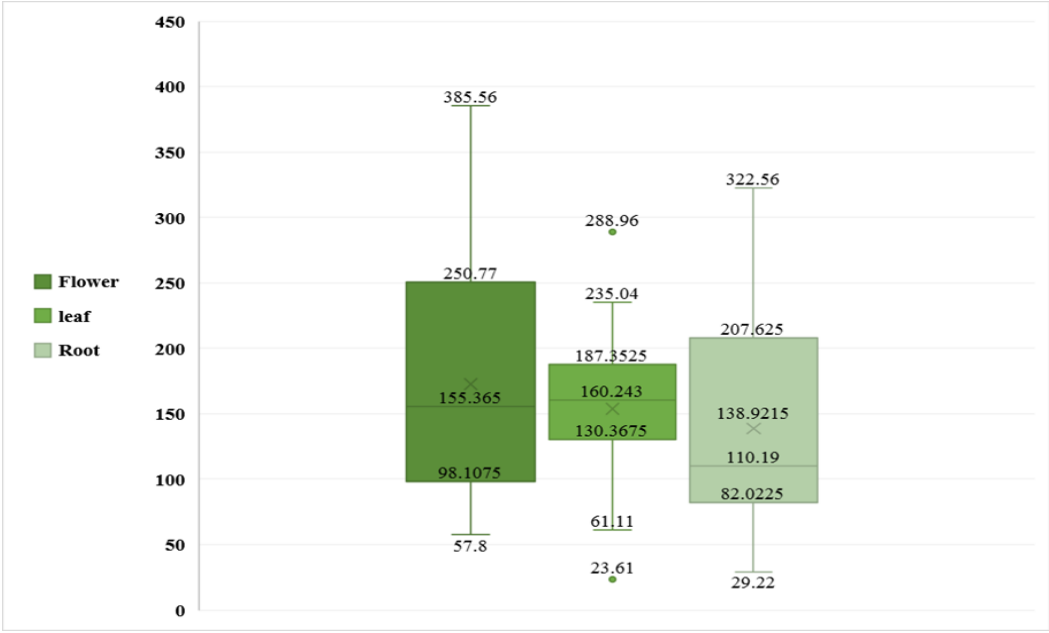
ساپونین کل (TSC)

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر ژنوتیپ، نوع اندام و اثر متقابل ژنوتیپ و اندام در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار ساپونین کل در گل ماهور دارد (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشخص شد بیشترین مقدار ساپونین کل اندام گل، اندام برگ و اندام ریشه به ترتیب در ژنوتیپ‌های G14 (*V. szovitsianum*)، G10 (*V. stachydiforme*) و G8 (*stachydiforme*) مشاهده شد (جدول ۳).

مقدار دامنه تغییرات ساپونین کل در اندام گل و اندام ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور در مقایسه با اندام برگ بیشتر است (شکل٦). میانه در نمودار جعبه‌ای اندام برگ ١٦٠,٢٤ میلی‌گرم دیوسژنین بر گرم وزن خشک است که در مقایسه با اندام گل (١٥٥,٣٦ میلی‌گرم دیوسژنین بر گرم وزن خشک) و اندام ریشه (١٣٨,٩٢ میلی‌گرم دیوسژنین بر گرم وزن خشک) بیشتر است؛



شکل ٥- توزیع پراکندگی فعالیت آنتی اکسیدانی در سه اندام گل، برگ و ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور

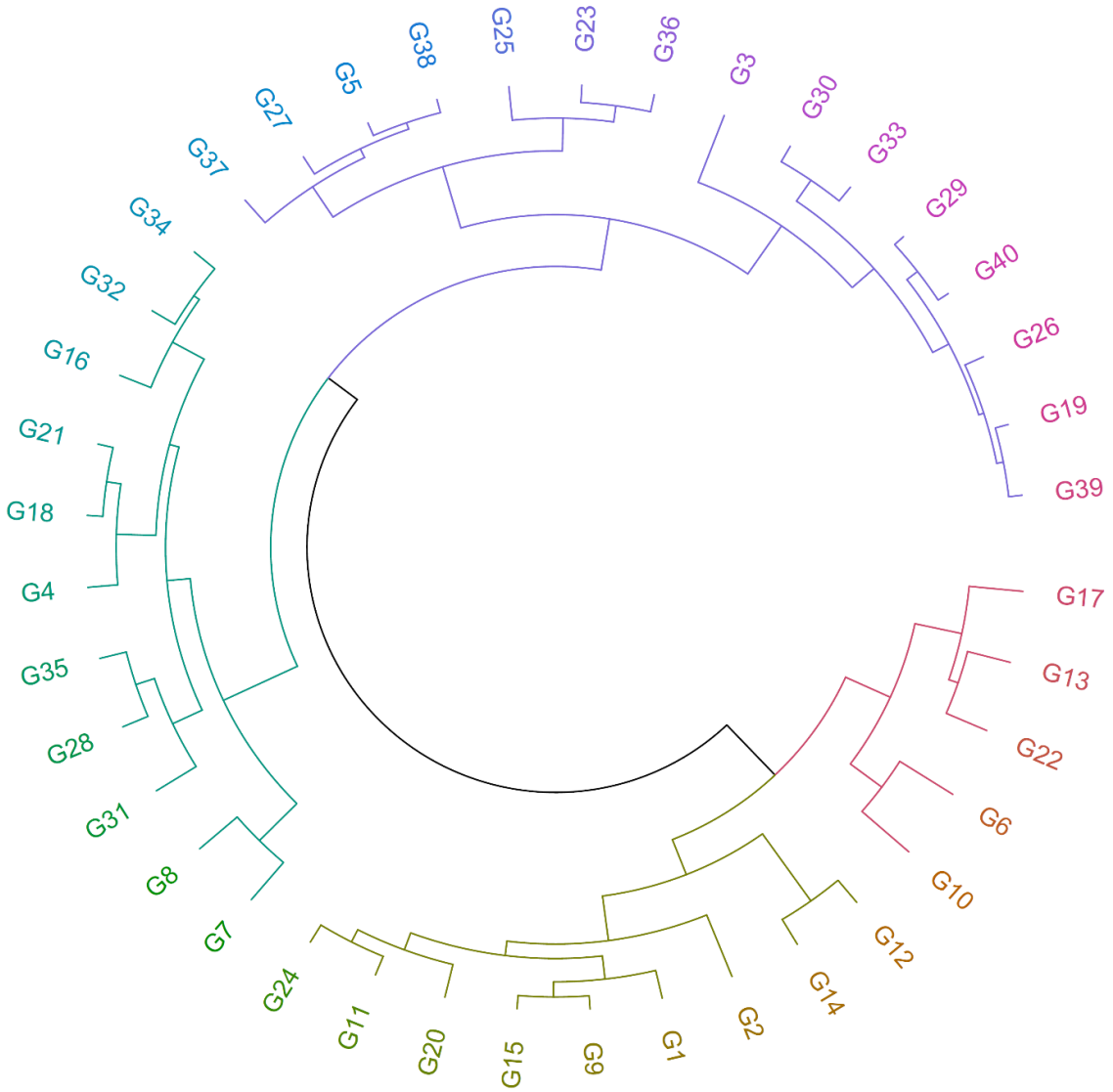


شکل ٦- مقایسه میانگین ساپونین کل در اندام‌های گل، برگ و ریشه ژنوتیپ‌های گل ماهور

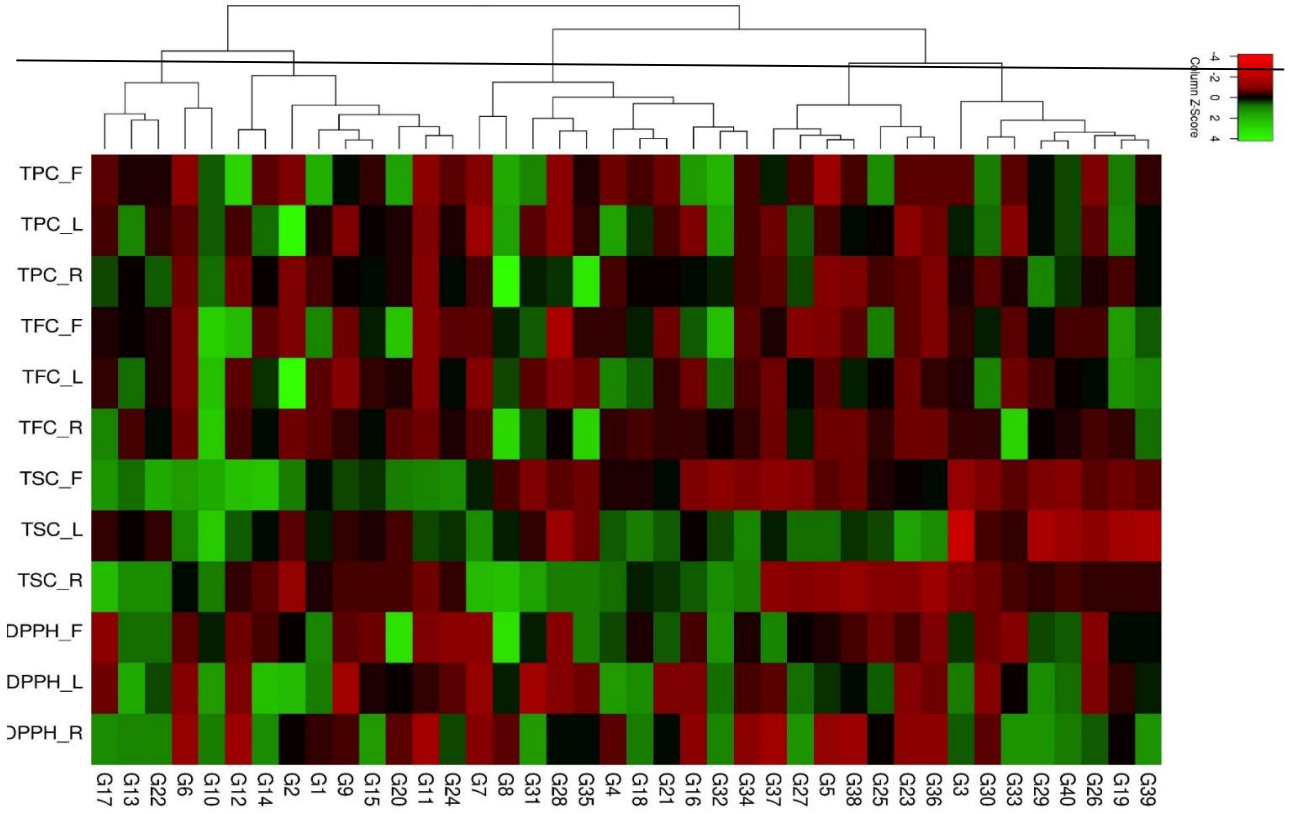
بنابراین می‌توان گفت مقدار ساپونین کل در اندام برگ در کمتر از ۵۰ درصد ژنوتیپ‌ها بیشتر از دیگر اندام‌ها است؛ چون مقدار عددی میانه در اندام برگ، بیشتر از دیگر اندام‌ها است.

دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها

دسته‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به روش complete و بر اساس ترکیبات اندازه‌گیری شده رسم شد (شکل‌های ۷ و ۸). بر اساس این خوشه‌بندی ژنوتیپ‌ها به ۵ گروه اصلی تقسیم شدند. در گروه اول ژنوتیپ‌های G17، G13، G22، G6 و G10 قرار گرفته‌اند. با توجه به نقشه حرارتی (شکل ۸) مشخص می‌شود این گروه بالاترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی اندام ریشه و بیشترین مقدار ساپونین کل در اندام گل را در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها دارد. ژنوتیپ‌های G12، G14، G2، G1، G9، G15، G20، G11 و G24 در گروه دوم قرار گرفتند. با توجه به نقشه حرارتی این گروه دارای مقدار زیادی ساپونین در اندام گل و مقدار متوسطی فنل کل در اندام‌های خود است. ژنوتیپ‌های G7، G8، G31، G28، G35، G4، G18، G21، G16، G32 و G34 به دلیل ساپونین زیاد در اندام ریشه در یک گروه قرار گرفتند. گروه چهار در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها کمترین مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و مقدار زیاد ساپونین در اندام برگ را داشت. ژنوتیپ‌های گروه پنجم به دلیل کمترین مقدار ساپونین در اندام‌های خود در یک گروه قرار گرفتند.



شکل ۷- کلاستربندی ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور



شکل ۸- کلاستربندی و نقشه حرارتی ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور

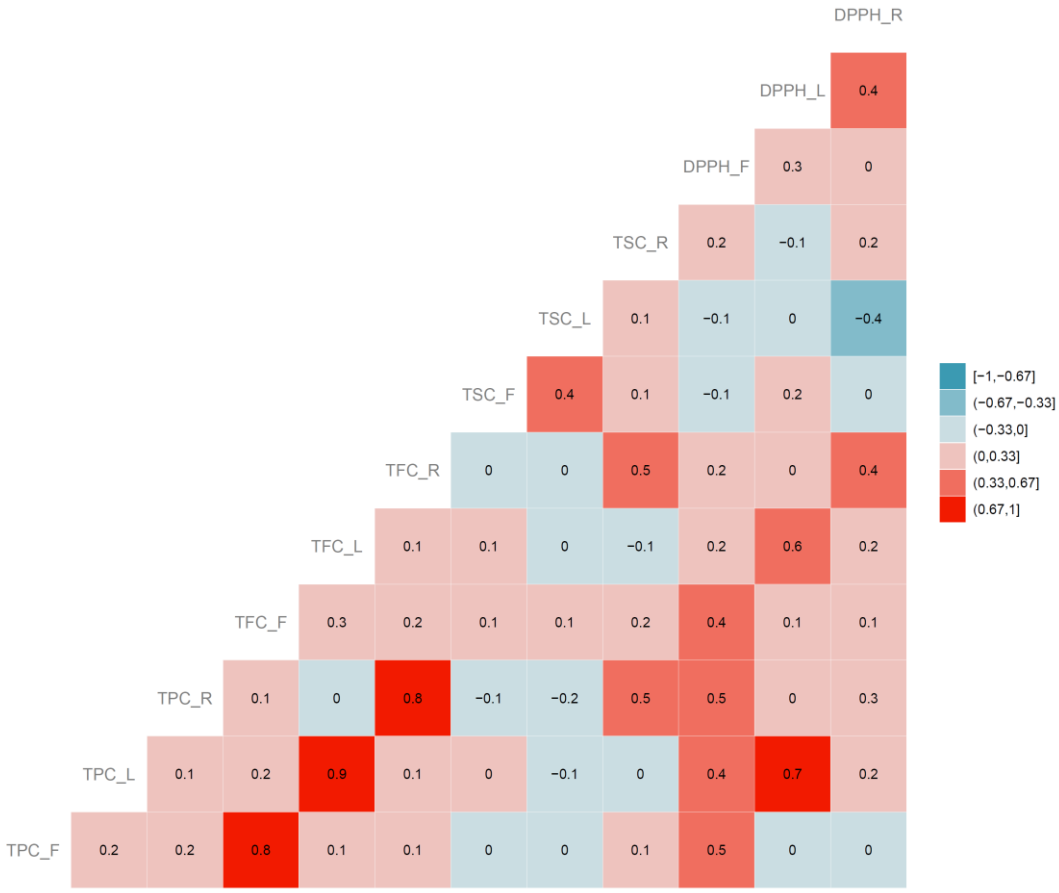
همبستگی بین ترکیبات فیتوشیمیایی

در شکل ۹، همبستگی بین ترکیبات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده به نمایش درآمده است. با توجه به شکل ۹، طیف رنگ آبی به منزله همبستگی منفی و طیف رنگ قرمز به منزله همبستگی مثبت است. با افزایش شدت رنگ، مقدار همبستگی افزایش می‌یابد. همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بین مقدار فنل کل و فلاونوئید کل در اندام گل ($r = 0.8$)، اندام برگ ($r = 0.9$) و اندام ریشه ($r = 0.8$) مشاهده شد. همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بین مقدار ترکیبات فنلی با مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در اندام‌های گل، برگ و ریشه مشاهده شد (شکل ۹). با افزایش مقدار ترکیبات فنلی گیاه، حضور عوامل هیدروکسیل در واکنش افزایش پیدا می‌کند؛ در نتیجه احتمال انتقال هیدروژن به رادیکال آزاد و توانایی مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Amini *et al.*, 2021).

بحث

گونه‌ها و ژنوتیپ‌های گیاهان دارویی که در شرایط مختلف محیطی رشد کرده‌اند از نظر فیتوشیمیایی ناهمگن هستند؛ بنابراین برای اهلی‌سازی و استفاده دارویی از این گیاهان، ارزیابی هویت ژنتیکی و شیمیایی آنها ضروری است (Bernath, 2002). بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد که ژنوتیپ‌های G2، G8، G10 و G14 از بسیاری جهات (مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، ساپونین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی) بر دیگر ژنوتیپ‌ها برتری دارند. این ژنوتیپ‌های برتر به شهرستان‌های استان آذربایجان غربی (مهاباد، سردشت و بوکان) و استان کردستان (شهرستان سقز) مربوط هستند. در ژنوتیپ‌های این تحقیق مقدار فنل کل در اندام برگ ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور از ۳٫۶۶ تا ۴۲٫۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک متغیر بود. در تحقیقی که توسط Amini و همکاران (۲۰۲۲) انجام شد، مقدار فنل کل در اندام برگ گونه‌های مختلف گل ماهور بین ۷٫۱۳ تا ۳۲٫۸۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک متغیر بود.

با توجه به تحقیقاتی که تاکنون انجام شده است، مشخص می‌شود، کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان علاوه بر ژنتیک و محیط، تحت تأثیر نوع اندام و مرحله نموی گیاه قرار



شکل ۹- همبستگی بین ترکیبات فیتوشیمیایی در اندام‌های مختلف ژنوتیپ‌های گل ماهور

خواهند گرفت. اندام‌های مختلف گیاهان از توان متفاوتی برای تولید متابولیت‌های ثانویه برخوردار هستند (Binava *et al.*, 2020). در تحقیقی مشخص شد اندام برگ گونه‌های مختلف گل ماهور در مقایسه با اندام گل این گیاه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری دارد (Amini *et al.*, 2017). بررسی دیگری روی گیاه زرشک نشان داد، بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در اندام برگ این گیاه موجود است (Zovko *et al.*, 2010). در تحقیقی مشخص شد بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در اندام برگ گیاه شابیزک و کمترین مقدار آن در ساقه است (Khatir Nameni and Mazandarani *et al.*, 2011). ترکیبات فنلی توسط نور خورشید در گیاهان ساخته، و در اندام‌های مختلف ذخیره می‌شود. سنتز این ترکیبات در گیاهان به بافت و اندام وابسته است و توسط فاکتورهای محیطی، ژنوتیپ و نوع عادت رشدی گیاه، سن گیاه، بلوغ برگ و... تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Amini *et al.*, 2017).

در نمودار جعبه‌ای، توزیع پراکندگی داده‌ها در هر اندام مشخص شده است. با توجه به نتایج داده‌های نمودارهای جعبه‌ای مشخص می‌شود مقدار فنل کل، فلاونوئید کل و ساپونین کل در اندام گل اکثر ژنوتیپ‌ها، بیشتر از دیگر اندام‌ها بود. در تحقیقی درباره گیاه دارویی مرزه سهندی، مشخص شد که نوع اندام و عوامل محیطی نقش بسیار زیادی در مقدار و تنوع مواد مؤثر این گیاه دارد (Tabatabaei *et al.*, 2007). گیاهان جنس *Verbascum* منبع سرشاری از ساپونین‌ها هستند. با توجه به ارزیابی انجام شده مشخص می‌شود مقدار قابل توجهی ترکیبات ساپونینی در اندام‌های هوایی و ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور وجود دارد. بیشترین مقدار ساپونین کل (۳۸۵٫۵۶ میلی‌گرم دیوسژنین بر گرم وزن خشک) در اندام گل ژنوتیپ (*V. szovitsianum*) G14 مشاهده شد. در تحقیقی مقدار ساپونین استخراج شده از ریشه و بخش‌های هوایی *V. speciosum* به ترتیب ۴۲٫۲۷ درصد و ۱۶٫۱۱ درصد بود که نشان داد مقدار ساپونین کل در اندام ریشه گل ماهور در مقایسه با بخش‌های هوایی بیشتر بود (Karmian and

(Ghasemlou, 2015). در تحقیقی دیگر مقدار ساپونین کل در پوست گیاه *Butea monosperm* ٤٦٥٫٦٦ میلی‌گرم بر گرم اکی والانت دیوسژنین بود (Petrichenko and Razumovskaya, 2004). در مطالعه‌ای ریشه گیاه کینوا در مقایسه با دیگر اندام‌ها (برگ‌ها، بذرها، ساقه و سبوس) بیشترین مقدار ساپونین کل را داشت (۱۳٫۳۹ گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک). Dung و همکاران (۲۰۱۹) مقدار ساپونین کل در اندام برگ *Launaea sarmentosa* را ۱۰٫۸ درصد گزارش کردند.

در این تحقیق همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی وجود دارد. نتایج تحقیقات پرشماری، همبستگی قوی بین محتوی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان را نشان می‌دهد (Fernandes *et al*.,2012; Sulaiman *et al*., 2011; Tawaha *et al*., 2007). با توجه به نتایج این بررسی اندام ریشه در مقایسه با اندام برگ و گل فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری از خود نشان داده است؛ در حالی که اندام ریشه ژنوتیپ‌ها در مقایسه با اندام‌های هوایی مقدار ترکیبات فنلی کمتری دارند. اگر چه ترکیبات فنلی، فعالیت ضد رادیکالی بالایی دارند، به نظر می‌رسد این ترکیبات تنها اجزای مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی نیستند و اثر همسو یا حتی متضاد آنها با ترکیبات دیگر آنتی اکسیدانی از جمله رنگیزه‌های کاروتنوئیدی، توکوفرل‌ها، ترپن‌ها و کربوهیدرات‌ها در مجموع تعیین‌کننده میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آنها است (Karamian *et al*., 2018). گونه‌های جنس *Verbascum* در سال‌های اخیر در صنعت داروسازی مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد شمال غرب کشور، تنوع فیتوشیمیایی قابل ملاحظه‌ای بین ژنوتیپ‌های مختلف گل ماهور دارد و برداشت از طبیعت به کاهش این تنوع منجر نشده است. این ممکن است به دلیل حجم محدود برداشت از این گونه‌ها باشد؛ زیرا گل ماهور در مناطق کوهستانی رشد می‌کند و دسترسی به آن دشوار است.

در هر حال با توجه به افزایش تقاضا برای منابع گیاهی، اجرای برنامه‌های کشت، اصلاح و بررسی تنوع ژنتیکی و فیتوشیمیایی بین ژنوتیپ‌های مختلف، ضروری به نظر می‌رسد. اساس ژنتیکی این تنوع، ما را قادر می‌سازد ارقام مناسب با سازگاری زیاد، ویژگی‌های رشد مطلوب و متابولیت‌های ثانویه غنی را به برنامه‌های اهلی سازی و اصلاح وارد کنیم.

References

Amini S, Hassani A, Alirezalu A, Maleki R. 2017. Investigation of genetic diversity among *Verbascum* species in West Azerbaijan province by morphological and phytochemical markers. Journal of Plant Production 24 (3): 123-142.

Amini S, Hassani A, Alirezalu A, Maleki R. 2020. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant activity in leaves of different different *Verbascum* L. species in West Azerbaijan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 36 (3): 466-482.

Arrif S, Benkhaled M, Long C, Lavaud C, David B. 2006. Glycosylated iridoids and a triterpene saponin from *Verbascum ballii* (Batt.) M. Qaiser. Biochemical Systematics and Ecology 3 (34): 259-262.

Bernath J. 2002. Strategies and recent achievments in selection of medicinal and aromatic plants. Acta Horticulturae 576: 115-128.

Binava S, Yavari A, Shokrpour M. 2020. A study on the quality and quantity of essential oil from different plant organs of *Salvia mirzayanii* Rech.F. & Esfand. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 35 (6): 914-924.

Burits M, Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy Research 14 (5): 323-328.

Canter PH, Thomas H, Ernst E. 2005. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. Trends in Biotechnology 23 (4): 180-185.

Chang Q, Zuo Z, Harrison F, Chow MSS. 2002. Hawthorn. The Journal of Clinical Pharmacology 42 (6): 605-612.

Dung PTN, Trinh PTN, Hung QT, Tuan NT, Lam TD. 2019. Saponin, polyphenol, flavonoid content and α-glucosidase inhibitory activity, antioxidant potential of *Launaea sarmentosa* leaves grown in ben tre province, Vietnam. In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 54 (1): 1-5.

Ebrahimzadeh M, Hosseinimehr S, Hamidinia A, Jafari M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacologyonline 1: 7-14.

Fernandes de Oliveira AM, Sousa Pinheiro L, Souto Pereira CK, Neves Matias W, Albuquerque Gomes R, Souza Chaves O, Simões de Assis T. 2012. Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species. Antioxidants 1 (1): 33-43.

Lim JG, Park HM, Yoon KS 2020. Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Science and Nutrition 8 (1): 694-702.

Karmian R, Ghasemlou F. 2015. Study of saponin content in aerial parts and roots of three *verbascum* l. Species. Iranian Journal of Plant Biology 28 (3):565-603.

Karamian R, Asadbeigy M, Yari S. 2018. Antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* L. extract and protective effect of

its leaf extract on ethanol-induced nephrotoxicity in male rats. Journal of Ilam University of Medical Sciences 26 (4): 1-12.

Khatir Nameni M, Mazandarani M. 2011. Of total flavonoids and phenolic different organs of medicinal plant Deadly nights hade (*Atropa belladonna* L.) in the jungle province Tvskstan. National Conference on Medicinal Plants 2: 2-7.

Mostafa A, Sudisha J, El-Sayed M, Ito SI, Ikeda T, Yamauchi N, Shigyo M. 2013. Aginoside saponin, a potent antifungal compound, and secondary metabolite analyses from *Allium nigrum* L. Phytochemistry Letters 6 (2): 274-280.

Panchal M, Murti K, Lambole V. 2010. Pharmacological properties of *Verbascum taphsus* – a review. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 5: 73-77.

Petrichenko VM, Razumovskaya TA. 2004. Composition of fatty acids from seeds of three *Verbascum* L. species grown in the Perm region. Rastitel'nye Resursy 40: 72-77.

Rechinger KH. 1981. Flora Iranica, Scrophulariaceae I, Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz Austria 134.

Sulaiman SF, Yusoff NAM, Eldeen IM, Seow EM, Sajak AAB, Ooi KL. 2011. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). Journal of Food Composition and Analysis 24 (1): 1-10.

Selseleh M, Hadian J, Nejad Ebrahimi S, Sonboli A, Georgiev MI, Mirjalili MH. 2019. Metabolic diversity and genetic association between wild populations of *Verbascum songaricum* (Scrophulariaceae). Industrial Crops and Products 137: 112-125.

Sharifnia F. 2007. Notes on the distribution and taxonomy of *Verbascum* in Iran. Iranian Journal of Botany 31 (1): 30-32.

Tabatabaei R, Khaligi A, Kashi A, Asnaashari S, Moghadam B, Delazar A. 2007. Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil of aerial parts of *Satureja sahendica* Bornm. Pharmaceutical Sciences 3: 1-6.

Tatli R, Akdemir SZ. 2004. Chemical constituents of *Verbascum* L. species. Journal of Pharmaceutical Sciences 29: 93-107.

Tawaha K, Alali FQ, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elimat T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry 104 (4): 1372-1378.

TatliI İİ, Akdemir ZŞ, Bedir E, Khan IA. 2004. Saponin, iridoid, phenylethanoid and monoterpene glycosides from *Verbascum pterocalycinum* var. mutense. Turkish Journal of Chemistry 28 (1): 111-122.

Zovko Koncic M, Kremer D, Karlovic K. 2010. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. Food and Chemical Toxicology 48: 2176-21.