بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی جمعیت‌های مختلف بومی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در ایران

قاسم اقلیما[۱]، محسن ثانی‌خانی[۲*]، عزیزاله خیری[۲]، جوادهادیان[۳]، میترا اعلائی[۲]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲] استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۳]دانشیار، گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۲۵

چکیده

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) گیاهی است از تیره پروانه‌آساها، علفی، چند ساله و ایران یکی از کشورهای صادر کننده ریشه آن محسوب می‌شود. این گیاه در مناطق مختلف ایران رویش دارد از این رو بررسی تنوع فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی مناطق مختلف حائز اهمیت است. این تحقیق به‌منظور بررسی محتوای ترکیبات ثانوی دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های به قطر ۲ سانتی‌متر از جمعیت‌های شیرین‌بیان در ۱۵ استان و ۳۰ منطقه ایران در سال ۱۳۹۶مهرماه برداشت و جهت آنالیز به آزمایشگاه‌های گروه باغبانی دانشگاه زنجان منتقل شد. میزان فنل کل (روش فولین سیکالتو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید)، آنتوسیانین (روش اختلاف pH) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در بین ۳۰ جمعیت از نظر تمامی صفات در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. صفات فنل کل بین ٤٥٦/٠٥ تا ٨٢٦ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم، فلاونوئید کل بین ۱۰۱۹/۲۵ تا ۲۲۹۱/٦۲میلی‌گرم کوئرسیتن بر ۱۰۰ گرم، میزان آنتوسیانین بین ٦/٨٩ تا ٢٦/٢٤ میلی‌گرم سیانیدین-۳- گلوکوزید در لیتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین ٦٢/٠٧ تا ٨٧/١٤ درصد متنوع بود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفت فنل کل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح یک درصد مشاهده شد، ولی با صفات فلاونوئید کل، آنتوسیانین و ارتفاع همبستگی معنی‌داری وجود نداشت. براساس نتایج حاصل از تجزیه کلاستر، ۳۰ جمعیت شیرین‌بیان در دو گروه اصلی قرار گرفتند. ارزیابی جمعیت‌های از نظر صفات فیتوشیمیایی تنوع بالایی را نشان داد که جمعیت‌های N، KA، BA، T، E، Y، M، MR و SB را می‌توان به‌عنوان جمعیت‌های برتر به‌منظور اهلی‌سازی و به‌نژادی گزینش و بکار گرفت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، ایران، تجزیه کلاستر، جمعیت بومی، شیرین‌بیان، فنل، فلاونویید

*نویسنده مسئول: sani@znu.ac.ir

مقدمه

جنس *Glycyrrhiza* متعلق به تیره Leguminosae و با حدود ۳۰ گونه است که به‌طور گسترده در سراسر جهان پخش شده‌اند. شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) یکی از قدیمی ترین و پرطرفدار ترین گیاهان دارویی در فارماکوپه‌های بسیاری از کشورهای آسیایی و اروپایی است (Ahmadi-Hosseini et al., 2014). به‌طور گسترده‌ای در چین، فرانسه، آلمان، هند، ایتالیا، روسیه، انگلستان و ایالات‌متحده آمریکا کشت می‌شود (Parvaiz et al., 2014). ریزوم شیرین بیان در صنایع مختلف غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ریشه شیرین‌بیان یک شیرین کننده طبیعی است که ۵۰ برابر شیرین تر از ساکارز است (Sanja et al., 2018; Mukhopadhyay and Panja, 2008). در بررسی‌های مختلف گزارش شده است که شیرین‌بیان به دلیل وجود ترکیبات ثانوی دارویی فعال دارای خواص آنتی اکسیدانی (Parvaiz et al., 2014)، ضد میکروبی (Saraf et al., 2013)، ضد تصلب شرائین (Asha et al., 2013)، ضد ویروسی (Wang et al., 2015)، ضد التهاب و ضد انعقادی (Farag et al., 2015) است.

ترکیبات فنلی (مانند اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید) متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در بسیاری از گیاهان وجود داشته و اهمیت زیادی در سلامت انسان دارند. ترکیبات فنلی از جمله متابولیت‌های ثانوی گیاهان هستند که از هسته‌های آروماتیک و یکیا چند گروه OH ساخته شده‌اند و به فنل‌های ساده، فنولیک اسیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، تانن‌های متراکم (پروسیانیدین‌ها)، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها تقسیم می‌شوند (Karaman et al., 2010). این ترکیبات به‌دلیل خصوصیات مهاری خود می‌توانند به عنوان عوامل کاهنده (دهنده‌های پروتون) در پاکسازی اکسیژن یکتایی (O_i) دخالت کرده و به دلیل ساختار شیمیایی متنوع، تفاوت‌هایی را در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان دهند (Tawaha et al., 2007). فلاونوئیدها از ترکیبات پلی‌فنلی با وزن مولکولی کم و دارای اسکلت دی‌فنیل‌پروپان ($C_6C_3C_6$) گروه بزرگی از این متابولیت‌های ثانوی هستند که تقریباً درهمه گیاهان وجود دارند و معمولاً در ٦ زیر گروه اصلیفلاونول‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاونون‌ها، فلاوانول‌ها وآنتوسیانیدین‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. تعداد و موقعیت گروه‌های OH- فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Karaman et al., 2010). مطالعات متعددی اهمیت شرایط محیطی را روی ترکیبات فنلی کل و نیز فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها گزارش نموده‌اند (Jovancevic et al., 2011). وجود ترکیبات آنتوسیانینی نیز در عصاره‌های به دست آمده از گیاه شیرین بیان به عنوان ترکیبات ثانوی دارویی با عملکرد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی اندام‌های مختلف این گیاه به اثبات رسیده است (Yazdi et al., 2011). گلیسیریزیک اسید موجود در ریشه شیرین‌بیان بسته به نوع گیاه، واریته و شرایط اقلیمی محل رویش بین ۵ تا ۲۰ درصد متغیر است (Esmaeili et al., 2019). با جمع‌آوری و بررسی ریشه‌های شیرین‌بیان ۱۲ منطقه مختلف ایران و تعیین مقدار اسیدگلیسیزیک در هر نمونه بر اساس فارماکوپه مشخص شد که میزان اسید گلیسیریزیک به‌دست‌آمده از کرمانشاه، سرحد فارس و کرمان بیشتر بوده و بنابراین از کیفیت بیشتری در صنایع داروسازی برخوردار بودند (Shabkhiz et al., 2016).

محققان گزارش کردند که عوامل بسیار زیادی از جمله آب و هوا، خاک، ارتفاع، اختلال درگونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش اندازه‌گیری‌های آنتی‌اکسیدان‌ها در میزان فنل و فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند که در این میان بر

تأثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است(Gairola et al.,2010). در فرایند اهلی‌سازی یک گیاه دارویی بررسی وشناخت کامل از شرایط اکولوژیکی گیاه و ارتباط شرایط اکولوژیکی با ویژگی‌های فیتوشیمیایی به‌منظور مدل‌سازی نیازهای اکولوژی گیاه در شرایط مزرعه و نیز شناخت جمعیت‌های با بهترین ویژگی‌های متابولیتی ضروریست (Heydari et al., 2019). تنوع ژنتیکی گیاهان طی هزاران سال ایجاد شده و درطبیعت به طور پایدار باقی مانده است. توده‌های بومی یک گیاه، ژرم‌پلاسم مناسبی برای برنامه‌های اصلاحی می‌باشند. بانک‌های ژن با جمع‌آوری، شناسایی و ارزیابی دقیق و حفاظت از ذخایر توارثی و توده‌های گیاه، اطلاعات مورد نیاز محققان را تأمین می‌کنند. روش‌های متداول اصلاح گیاهان زراعی براساس گزینش جمعیت‌های مطلوب از بین جوامع با تنوع ژنتیکی و فیتوشیمیایی می‌باشد. بنابراین، آگاهی از تنوع جمعیت‌ها شرط اصلی و اولین گام در اصلاح گیاهان می‌باشد (Hadian et al., 2011). با توجه به فراهم بودن شرایط اقلیمی متنوع در کشور می‌توان اقدام به گزینش بهترین رویشگاه‌ها از نظر متابولیت‌های ثانویه جهت کشت و اهلی سازی این گیاه اقدام نمود. بر این اساس، در این پژوهش ریشه‌های جمعیت‌های گیاه شیرین بیان از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری و محتوای برخی از متابولیت‌های مهم شامل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، آنتوسیانین و فعالیت آنتی اکسیدانی مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های گیاه: نمونه‌های ریشه شیرین بیان (*G. glabra*) با قطر دو سانتی‌متر در اواخر فصل رشد (مهرماه) در سال ۱۳۹۶ از ۱۵ استان و ۳۰ منطقه کشور جمع آوری گردید (جدول ۱). نمونه‌ها پس از جمع‌آوری در دمای آزمایشگاه خشک گردید و جهت عصاره گیری فرآوری شدند.

جدول ۱: معرفی مناطق جمع‌آوری جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

جمعیت	استان	شهرسان	کد	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع
1	کهکیلوله و بویر احمد	یاسوج	Y	51 5667	30 71 67	1870
2	فارس	سپیدان	SP	51 52 13	30 16 05	2240
3	فارس	اقلید	A	52 68 59	30 96 54	2300
4	فارس	کازرون	KAZ	51 65 83	29 61 83	860
5	فارس	باجگاه ممسنی	BAJ	50 31 07	30 07 13	920
6	فارس	داراب	D	54 55 21	28 75 11	1170
7	اصفهان	سمیرم	SM	51 17 03	30 42 31	2460
8	اصفهان	شهرضا	SH	51 52 06	32 01 05	1825
9	چهارمحال و بختیاری	شهرکرد	SK	50 86 49	23 21 50	2060
10	هرمزگان	حاجی آباد	HA	55 54 14	28 18 06	945
11	کرمان	سیرجان	SE	55 67 08	29 45 32	1766
12	کرمان	شهربابک	SB	55 36 67	30 21 67	1845
13	کرمان	بافت	BA	56 60 06	29 23 30	2300
14	کرمان	بردسیر	MS	56 57 50	29 92 64	2047
15	یزد	علی آباد تفت	TF	54 12 32	31 44 50	1600

16	یزد	مروست	MR	54 21 17	30 47 83	1544
17	خراسان شمالی	بجنورد	BJ	57 31 43	37 47 02	1070
18	خراسان رضوی	قوچان	Q	58 30 34	37 06 22	1350
19	خراسان رضوی	کاشمر	KA	58 48 19	35 23 64	1063
20	آذربایجان شرقی	اهر	AH	47 02 55	38 28 18	1341
21	آذربایجان غربی	مهاباد	M	45 44 51	36 54 28	1320
22	آذربایجان غربی	نقده	N	45 15 13	36 54 40	1299
23	آذربایجان غربی	پیرانشهر	P	45 11 19	36 37 15	1502
24	آذربایجان غربی	ربط	R	45 55 13	36 20 91	1480
25	اردبیل	مشکین شهر	MSH	47 39 56	38 23 39	1400
26	کردستان	سقز	SQ	46 12 52	36 22 13	1476
27	زنجان	سلطانیه	S	48 47 51	36 26 05	1663
28	قزوین	تاکستان	T	49 44 49	36 0 06	1265
29	ایلام	ایلام	E	46 24 41	33 38 02	1427
30	کرمانشاه	کرمانشاه	K	47 05 53	34 20 13	1400

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در جمعیت‌های مختلف شیرین‌بیان

منابع تغییرات		میانگین مربعات			
	درجه آزادی	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین	آنتی اکسیدان
جمعیت	۲۹	۲۶۰۱۱/۷۹**	۳۳۶۰/۵۷**	۷۳/۳۱**	**۹۷/۴۹****
بلوک	۲	۱۹/۲۸*	۴۰/۰۸**	۴/۲۲*	**۲/۲۹^{ns}**
خطا		۴/۱۵	۶/۶۶	۰/۴۲	۰/۹۵
ضریب تغییرات		۰/۴۱	۶/۰۴	۷/۴۷	۱/۴۹

^{ns}،**، * به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌داردرسطح ۱و ۵ درصد

استخراج عصاره: ابتدا خشک شدن نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد صورت گرفت. سپس نمونه‌ها پودر و به ازای ۱ گرم نمونه پودر گیاهی ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت و بعد از صاف شدن میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهصورت زیر اندازه‌گیری شد (Hamati et al., 2015)

اندازه‌گیری میزان فنل کل: برای اندازه‌گیری فنل کل ابتد ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۵ میلی‌لیتر فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط و سپس به آن ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیمیک مولار اضافه شد. برای شاهد بجای عصاره، تنها از متانولاستفاده شد و بعد فولین سیوکالچوو کربنات سدیماضافه گردید. جذب محلول فوق بعد از قرار گرفتندر ۳۰ دقیقه در تاریکی و حمام بخار ۴۰ درجه‌سانتیگراد، در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد (Slinkard and Singleton, 1977). برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت استانداردگالیک اسید (۰/۰۰۷۵ + ۰/۰۱ x = y، R^2 = ۰/۹۹۸) استفاده شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: به این منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱

میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرمآلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیمیک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی، تنها از متانول خالص استفاده شد. سپس مخلوط در نیم ساعت تاریکی قرار داده شده و سپسجذب آن بلافاصله در طول موج ٤١٥ نانومتر قرائت شد (Chang et al., 2002) جهت تعیین میزان فلاونوئید کل از منحنی استاندارد استفاده شد. به این منظور غلظتهای مختلفی از کوئرستین تهیه و بعد از خوانده شدن عدد جذب، منحنی استاندارد رسم شد.از معادله خط بدست آمده از منحنی استاندارد (y = ۰/۰۱۱۲ x + ۰/۰۰۰٤، R^2 = ۰/۹۸۵) جهت تعیین غلظت فلاونوئید کل استفاده شد.

اندازه‌گیری آنتوسیانین: روش اختلاف pH برای سنجش میزان آنتوسیانین بکار برده شد. پنج میلی لیتر عصاره به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژشد. سپس یک میلی لیتراز محلول رویی با پنج میلی لیتر محلول KCl-HCl با pH=۱ ویک میلی‌لیتر دیگر از محلول رویی با پنج میلی‌لیتر بافراستات ۰/۲ مولار با pH=٤/٥ رقیق شد. سپس جذب هر دو محلول در دو طول موج ٥١٠ نانومتر و ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت آنتوسیانین کل، با استفاده از فرمول زیر بر حسب میلی‌گرم سیانیدین-۳- گلوکوزید در لیتر بیانگردید (Giusti et al., 2001).

$$A)=(A_{520}pH_1 - A_{700}pH_1) * (A_{520}pH_{4/5} -)$$

$$(A_{700}pH_{4/5}جذب$$

$$(۵)\times(\frac{۴۴۵}{۲})\times(\frac{A}{۲۶۹۰۰}\times ۱۰۰۰)\times(۱۰۳) = (mg/l) آنتوسیانین کل$$

۱۰۳= عامل تبدیل

۲٦۹۰۰= ضریب مولی سیانیدین ۳- گلوکوزید

٤٤٥/۲= وزن ملکولی سیانیدین ۳- گلوکوزید

٥= ضریب رقت

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: در این آزمایش از روش درصد مهار را دیکال‌های DPPH استفاده شد (Ebrahimzadeh et al., 2008). ابتدا دو میلی‌لیتر از DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به لوله آزمایش اضافه و سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با آن مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از پایان واکنش بلافاصله جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ٥١٧ نانومتر قرائت شد. علاوه بر نمونه‌های مذکور یک لوله آزمایش به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد که تنها حاوی ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. فعالیت مهار رادیکال DPPH از فرمول درصد فعالیت خنثی کنندگی رادیکال (DPPH= 100(1 - AS/AC) محاسبه شد. در این معادله AC جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به عنوان شاهد، AS جذب DPPH به همراه نمونه می‌باشد که از متانول نیز به عنوان بلانک استفاده شد.

نتایج

تجزیه واریانس: تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بررسی صفات فیتوشیمیایی در بین‌جمعیت‌های مختلف شیرین‌بیان صورت گرفت. نتایج حاصل نشان داد که در بین ۳۰ جمعیت از نظر کلیه صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقادیرF مربوط به تکرار درون جمعیت‌ها برایصفت فلاونوئید کل در سطح یک درصد و برای صفات فنل کل و آنتوسیانیندر سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دارو برای بقیه صفات معنی‌دار نشد.

مقایسه میانگین صفات بین جمعیت‌های مختلف: نتایج مقایسه میانگین مربوط به جمعیت‌های مختلف

نشان داد (جدول ۳) که بیشترین فنل کل مربوط به جمعیت R (ربط) با میانگین ۸۲٦ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم و کمترین مربوط به جمعیت (S) سلطانیه با میانگین٤٥٦/٠٥ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم بود. مقایسه صفت آنتوسیانین بیانگر این واقعیت است که جمعیت MSH (مشکین‌شهر) با میانگین٢٦/٢٤ میلی‌گرم سیانیدین-۳- گلوکوزید در لیتر بیشترین و جمعیت D (داراب) با میانگین ٦/٨٩ میلی‌گرم سیانیدین- ۳- گلوکوزید در لیتر کمترینآنتوسیانین را دارد. مقایسه میانگینفلاونوئید کل نشان داد که جمعیت SB (شهر بابک) با میانگین ۲۲۹۱/٦۲ میلی‌گرم کوئرسیتن بر ۱۰۰ گرم بیشترین و جمعیت D (داراب) با میانگین ۱۰۱۹/۲۵ میلی‌گرم کوئرسیتن بر ۱۰۰ گرم کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی جمعیت N (نقده) با میانگین ۸۷/۱٤ درصد دارای بیشترین و جمعیت SM (سمیرم) با میانگین ٦۲/۰۷ درصد دارای کمترینخواص آنتی‌اکسیدانی بودند.

ضرایب همبستگی صفات: ضرایب همبستگی ساده پیرسون در جدول آمده است. صفت فنل کل با صفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح یک درصد، ولی با صفات فلاونوئید کل، آنتوسیانین و ارتفاع همبستگی معنی‌داری ندارد. صفت فلاونوئید کل با صفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد ولی با صفات فنل کل، آنتوسیانین و ارتفاع همبستگی معنی‌داری ندارد. ارتباط و همبستگی صفت ارتفاع با صفات فیتوشیمیایی معنی‌دار نشده است (جدول ۵).

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های صفات مورد مطالعه جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

جمعیت	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم سیانیدین- ۳- گلوکوزید در لیتر)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم)	آنتی‌اکسیدان (درصد)
A	٦٧٣/٨٦^{i}	۱۷/۷۲^{ghi}	۲۰۳۳/۰۳^{e}	۷۷/٤^{k}
AH	٦٣٧/٨٦^{i}	۱۵/۰۵^{k}	۱۵۹٤/۳^{r}	۸۳/٤٥^{cd}
BA	۷۹۵/٦۲^{c}	۲۵/۸٤^{a}	۱۹۵۰/٦۹^{g}	۷۸^{jk}
BAJ	۵۸٦/۸۱^{l}	۲۰/۱۹^{e}	۱۷۵۵/۵۹^{m}	۷۸/۳۳^{jk}
BJ	۵۸۲/۹۹^{m}	۱٦/۷۹^{hi}	۲۱۰۲/٤^{c}	۷۷/٦۲^{k}
D	٦۸۱/۳^{f}	٦/۸۹^{n}	۱۰۱۹/۲۵^{z}	۷٤/۳۹^{l}
E	۵٤٤/۰٦^{o}	۲۱/٤٤^{d}	۱٤٤۲/۹۸^{i}	۸۲/٦٤^{cdef}
HA	۵۸۳/۲۰^{m}	۱۱/۱۳^{l}	۱٦۲۱/۰۸^{q}	٦۹/۱٤^{m}
K	۵۸۹/۲۳^{l}	۱۱/۱٤^{l}	۱٦٤۱/۳۱^{p}	۸۲/۲٦^{def}
KA	۸۰۵/۲۹^{b}	۱۷/۷٦^{gh}	۲۱۲۹/۰۹^{b}	۷۸/۵۲^{ijk}
KAZ	۵٦۰/۲۸^{n}	۱٤/٤۲^{k}	۱۹۹۲^{f}	۷٤/٤^{l}
M	٦۰۵/٤٦^{j}	۲۵/۳۳^{ab}	۱۳۰۸/۷۹^{y}	۸۰/۰٦^{ghi}
MR	٦٤۳/۵۳^{h}	۲۳/۱^{c}	۱۷۳۵/۸^{n}	٦۷/۸۲^{m}
MS	٦۷۷/۳۲^{g}	۱٦/٤۵^{ij}	۱۸۳۳/۱۹^{j}	٦۸/۱۷^{m}
MSH	۵۲٦/۳۹^{q}	۲٦/۲٤^{a}	۱۷۹۵/۲۷^{k}	۸٤/۳۲^{bc}
N	۷۰۵/۲۰^{e}	۲٤/۵٦^{b}	۱٦۷۵/۱۹^{o}	۸۷/۱٤^{a}

P	٦٣٥/٣٢^{i}	٩/٥٨^{m}	١٤٤١^{u}	٨١/٥٧^{efg}
Q	٤٩٣/٦٤^{s}	١٧/٤٢^{ghi}	١٨٧٣/٠٤^{m}	٨٢/٣٣^{def}
R	٨٢٦/٠٠٧^{a}	١٥/٤٨^{jk}	١٤٠٠/٥٧^{v}	٧٣/٥٩^{l}
S	٤٥٦/٠٥^{t}	١٧/٨٥^{gh}	١٤٥١/٣١^{t}	٨٥/٦^{ab}
SB	٦٨٣/٣٢^{f}	١٧/٥١^{ghi}	٢٢٩١/٦٢^{a}	٧٥/٠٦^{l}
SE	٥٩٣/٢٣^{k}	١٤/٤٢^{k}	١٣٠٥/٥٤^{y}	٧٥/١٨^{l}
SH	٦٠٣/٦٩^{j}	١٩/٥٤^{ef}	٢٠٧٦/٦١^{d}	٧٩/١٨^{jik}
SK	٥١٢/٢٩^{r}	١١/٧٥^{l}	١١٦٥/٦٣^{z}	٧٨/٥٢^{jik}
SM	٦٧٧/٣٢^{g}	١٨/٤٧^{fg}	١٣٣١/٨٦^{w}	٦٢/٠٧^{n}
SP	٥٤٤/٦٣^{o}	١٥/٣٤^{jk}	١٢٣٠/٨١^{z}	٨١/٢٢^{fgh}
SQ	٥٨١/٤٦^{m}	١٥/٣٥^{jk}	١٤٩٠/٤٨^{s}	٧٩/٦٤^{jhi}
T	٧٧٩/٥^{d}	٢٠/٣٦^{e}	١٧٧٢/٥٢^{i}	٧٥/٣١^{l}
TF	٥٣٩/٢٦^{p}	١٠/٧٨^{l}	١٣١٤/٣٣^{x}	٨٣/٢٩^{cde}
Y	٦٨٤/٧٥^{f}	١٩/٤^{ef}	١٠١٩/٢٥^{z}	٨١/٣٥^{fgh}

جدول ٤: میانگین و دامنه صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

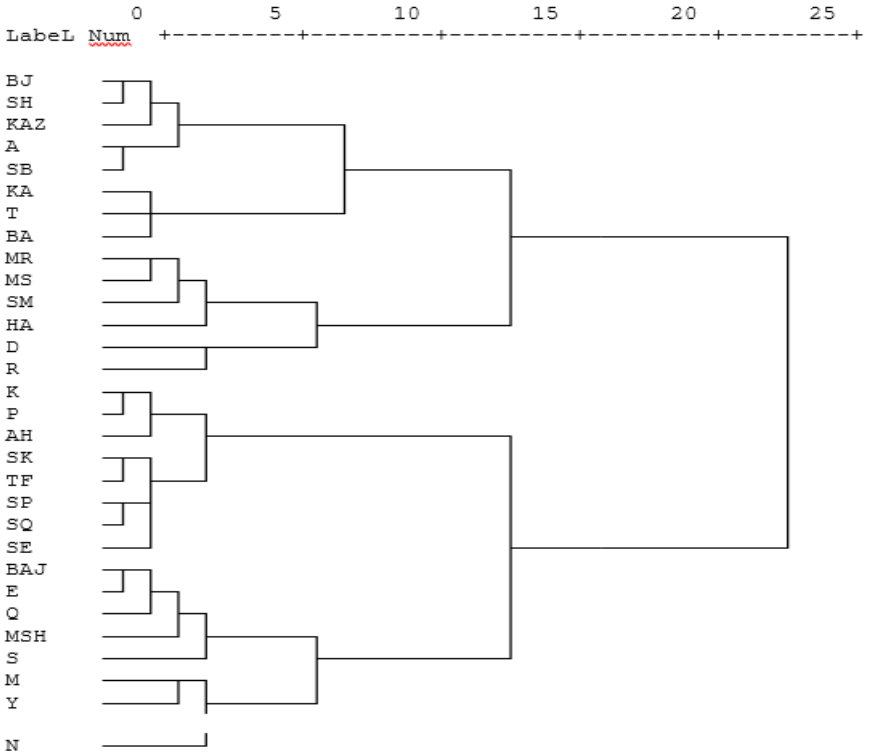
صفت	واحد اندازه گیری	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	حداقل
فنل	میلی‌گرم گالیک اسید بر ١٠٠ گرم	٦٢٥/٧٥	٩٢/٠٨	٨٢٧	٤٥٥
آنتوسیانین	میلی‌گرم سیانیدین- ٣- گلوکوزید در لیتر	١٧/٢٥	٤/٨٩	٢٨	٦/٥
فلاونوئید	میلی‌گرم کوئرستین بر ١٠٠ گرم	١٦٤٤	٣٣٠/٩١	٢٢٩٣	١٠١٧
آنتی اکسیدان	٪	٧٧/٩١	٥/٦٩	٨٧/٧	٦١

جدول ٥ : ضریب همبستگی پیرسون برای صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

صفات	ضرایب همبستگی				
	فنل	آنتوسیانین	فلاونوئید	آنتی اکسیدان	ارتفاع
آنتوسیانین	٠/١٧٥	١	١		
فلاونوئید کل	٠/١٥٤	٠/٣٧٢**			
آنتی اکسیدان	- ٠/ ٣٤٢**	٠/١٢٧	-٠/٠٣١	١	
ارتفاع	٠/٠٧	٠/١٠٩	- ٠/١٦٣	- ٠/١٨٢	١

^{ns}، **، * به‌ترتیب غیرمعنی‌دار ومعنی‌دار در سطح ١ و ٥ درصد

تجزیه خوشه‌ای: بر پایه خوشه‌بندی بدست آمده از تجزیه تحلیل داده‌ها فیتوشیمیایی، رابطه خویشاوندی بین جمعیت‌ها در شکل ١ نشان داده شده است که در فاصله ٢٥ واحد هم آنها را به دو گروه اصلی تقسیم نمود. ضریب کوفنتیک بین دندروگرام و ماتریس تشابه ٠/٨٩ بدست آمد که نشان دهنده برازش مناسب دندروگرام به ماتریس تشابه بوده است. گروه اول شامل جمعیت‌های A، BJ، KAZ،SH، BA، T، KA، SB، MR، MS،SM،HA، D و R که از نظر صفات آنتوسیانین، فلاونوئید کل و فنل کل دارای برتری بودند. گروه دوم شامل جمعیت K، P، AH، SP، SE، BAJ، SQ، SK، TF، E، Q، MSH، S، M، Y و N که از نظر صفت خواص آنتی‌اکسیدانی دارای برتری بودند.



شکل ۱: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات مورد مطالعه ۳۰ جمعیت براساس روش وارد با ضریب همبستگی کوفنتیک ۰/۸۹.

بحث

تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می تواند نتیجه نموگیاه در نظر گرفته شود که شامل تغییرات متابولیسمی،مورفوژنتیکی و تمایز می‌باشد. از طرفی، تولید این متابولیت‌هاناشی از بیان برخی از ژن‌های گیاه در شرایط خاص می باشد.گزارش شده است که تولید ترکیبات مؤثره گیاهی به‌دلیل فعالشدن مسیر سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که اغلب درگیاهان مختلف، به شکل متفاوتی دیده می‌شوند. در حالی کهمتابولیت‌های اولیه مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدهاکه در فرآیندهای متابولیکی اصلی گیاه درگیر می باشند، به شکل مشابهی در تمام گیاهان دیده می شوند. به نظر می رسد تولید متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر شرایط محیطی گیاه می باشد. بنابراین شناسایی شرایط مناسب جهت تولید متابولیت‌های خاص گیاه می‌تواند در افزایش تولید، متابولیت‌ها در محیط‌های کشت مصنوعی مؤثر باشد (Ibrahim et al., 2011).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، صفت فنل کل با صفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای همبستگی منفی و با صفت فلاونوئید کل همبستگی منفی معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بود. فاطیما و همکاران (۲۰۱۸) ارتباط منفی و قوی بین محتوای فنل و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل میوه زردآلو ارزیابی شده به روش DPPH (R^2 = -0.777, P≤ 0.01) گزارش نمودند. ارتباط بین ترکیبات فنلی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط مطالعات قبلی نیز گزارش شده است (Fattahi et al., 2013). صفات فیتوشیمیایی همبستگی معنی‌داری با ارتفاع نشان ندادند. البته علاوه بر فاکتور ارتفاع باید باید سایر فاکتورها (نور، دما، شیب محیط، رطوبت نسبی منطقه و میانگین بارندگی

سالیانه) را هم باید مدنظر قرار داد. شرایط خشکی و وجود UV از شرایط مساعد برای افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد (Karampor et al., 2015).

صفات فیتوشیمایی مورد مطالعه از قبیل فنل کل و فلاونوئید کل در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری را در بین جمعیت‌های مورد ارزیابی در مکان‌های مختلف از خود نشان دادند. این امر نشان دهنده وجود تنوع بالا از لحاظ صفات فیتوشیمیایی مورد بررسی و امکان گزینش برای این صفات در بین جمعیت‌های مورد مطالعه در شرایط محیطی مختلف می‌باشد. مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه نشان دهنده دامنه گسترده اختلاف در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات فیتوشیمیایی بود (جدول ۳).در این مطالعه بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل در جمعیت R مشاهده شد اما بیشترین مقدار فلاونویئدها در جمعیت SB دیده شد. ریشه‌های جمع آوری شده از جمعیت S کمترین فنل کل و جمعیت D کمترین فلاونوئید را نشان دادند. Sanja و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیشترین میزان فنل کل (۳۷/۲۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید کل (۵/۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) را در جمعیت فروسکاگوار صربستان گزارش دادند. اهمیت تأثیر شرایط محیطی مختلف در رویشگاه‌های متفاوتبر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان و حتی جلبک‌ها قبلاً نیز گزارش شده است (Cary and Wink, 1994; Jovancevic et al., 2011; Becerro and Paul, 2004; Hrouzek and Tomek, 2009; Gairola et al., 2010; Gobbo-Neto et al., 2010). تفاوت تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی *Lychnophora ericoides* به دست آمده از رویشگاه‌های مختلف برزیل، نیز توسط Gobbo-Neto و همکاران در سال ۲۰۱۰ گز ارش شده است. الگوی تولید وذخیره متابولیت‌های ثانویه در این گیاه بر اثر شرایط محیطی تغییر می‌کند (Gobbo-Neto et al., 2010). Jovancevic و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز در مطالعه محتوای ترکیبات فنلی در جمعیت‌های وحشی گیاه *Vaccinium myrtillus* دامنه کوه‌های مونتنگرو (صربستان) بیان کردند محتوای ترکیبات فنلی کل در مناطقی که میزان نور بیشتری داشتند، نسبت به سایر رویشگاه‌های بیشتر می‌باشد. پیشنهاده شده است که فعالیت آنزیم‌های درگیر در تولید ترکیبات فنلی در شرایط اقلیمی تعییر می‌یابد (Jovancevic et al., 2011).

در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین جمعیت‌های مختلف مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین در جمعیت MSH و کمترین آن در جمعیت D حاصل شد. همچنین بیشتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت N و کمترین آن در جمعیت SM مشاهده شد. در برخی از مطالعات، ظرفیت‌های متوسط و بالایی برای خنثی‌سازی رادیکال‌های DPPH، NO، OH و O_2 گزارش شده است (Saraf et al., 2013; Siracusa et al., 2011; Sultana et al., 2010). نتایج بالا تایید می‌کند که جغرافیا و اقلیم مناطق مختلف، تاثیر معنی‌داری در محتوای ترکیبات زیست فعال و فعالیت آن‌ها دارد. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت تاثیر عوامل محیطی و ژنی قرار می‌گیرد و به نظر می‌رسد تاثیر عوامل ژنتیک قوی‌تر از عوامل محیطی باشد (Martz et al., 2010). Gohari و همکاران با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از گیاهان دارویی و تعدادی از گونه‌های خانواده نعنائیان گزارش کردند که ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ها بسته به منطقه جغرافیایی، نوع بافت و زمان برداشت گیاه متفاوت می‌باشد (Gohari et al., 2011). گیاهان با شیوه‌های متفاوتی در برابر تنش‌های محیطی واکنش نشان می‌دهند که این اختلاف به علت تفاوت در

ژنتیک آن‌ها است. عوامل محیطی نقش مهمی در تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارند. گیاهخواری، کمبود مواد مغذی، اشعه ماورای بنفش، دما، حمله پاتوژن‌ها، ارتفاع و آسیب‌های فیزیکی از جمله عوامل محیطی مهم موثر بر تولید ترکیبات فنلی در گیاهان هستند. بیشتر گیاهان با قرار گرفتن در برابر عوامل محیطی تنش‌زا، تولید ترکیبات فنلی را در خود افزایش می‌دهند و از آنجایی که ترکیبات فنلی یکی از انواع آنتی‌اکسیدان‌های مهم طبیعی به شمار می‌روند، برای جامعه انسانی دارای اهمیت هستند. با توجه به این در محیط‌های طبیعی مجموعه‌ای از عوامل می‌توانند بر تولید این ترکیبات در گیاهان موثر باشند (Jafari et al., 2015).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که جمعیت‌های مختلف شیرین‌بیان دارای میزان بالایی از ترکیبات فنلی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند. نتایج حاصل نشان می‌دهد که ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی بین جمعیت‌ها تفاوت‌های بارزی وجود دارد که این تفاوت می‌تواند ناشی از گستره و پراکنش وسیع مناطق مورد مطالعه در این پژوهش باشد. در کل می‌توان نتیجه گرفت که تنوع و گستره زیاد کمیت این مواد موثره می‌تواند ناشی از تفاوت‌های آب‌وهوایی و جغرافیایی مکان‌ها رویش و ژنتیکی باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق زمینه انجام برنامه‌های اصلاحی برای افزایش برخی صفات فیتوشیمیایی امکان‌پذیر است و با زراعی کردن این گیاه دارویی با ارزش احیا و حفظ توده‌های موجود در کشور آسانگری می‌شود. در جمعیت‌های ارزیابی شده شیرین بیان در این پژوهش تنوع بالایی بین صفات فیتوشیمیایی مشاهده شد. با توجه به نتایج جمعیت‌های N، KA، BA، T، E، Y، M، MR و SB را می‌توان به عنوان جمعیت‌های برتر به منظور اهلی‌سازی و به‌نژادی گزینش و بکار گرفت.

References

1. Bernath, J. 2001. Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. In International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant, 576: 115-128.
2. Hajmehdipoor, H., Aminzade, Y., Hasanlo, T., Shekarchi, M., Abedi, Z. and Piralihamedani, M. 2008. Evaluation of the quality of liqurice roots collected from different habitats of Iran. Journal Medicinal Plant, 3(27): 47-5.
   Kalyoncu, I.H., Akbulut, M. and Coklar, H. 2009. Antioxidant capacity, total phenolics and some chemical properties of semi-matured apricot cultivars grown in Malatya, Turkey. World Appl. Science Journal, 6: 519-523.
4. Nikolova, M.T., Taskova, R.M. and Peev, D.R. 2005. Exudate flavonoid aglycones of Veronica: Ecological and systematic implications. Biochemical Systematics and Ecology, 33(12): 1258-1268.
5. *Nostoc* strains, originating from different climatic/geographic regions and habitats: Is their cytotoxicity environmentally dependent. Environ Toxico, 26: 20561.
6. Omidbagi, R. 2008. Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Razavi Publishing House. Mashhad, 47-50p.
7. Pharsi, M. and Bagheri, A. 1988. Principles of Plant Breeding. Publishers (SID), Mashhad, 230 p.
8. Plants Research, 4(18): 1825-1829.
9. Ahmadi Hosseini, S.M., Kazme Souri, M., Farhadi, N., Moghaddam, M. and Omid Baigi, R. 2014. Changes in Glycyrrhizin Content of Iranian licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Affected by Different Root Diameter and Ecological Conditions.

Agricultural Communications, 2(4): 27-33.
10. Amonrat, T., Soottawat, B., Wonnop, V., Eric, A. and Decker, C. 2008. The effect of antioxidants on the quality changes of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle during frozen storage. Journal Food Science and Technology, 41(1): 161-9.
11. Asha, M.K., Debraj, D., Prashanth, D., Edwin, J.R., Srikanth, H.S., Muruganantham, N., Dethe, S.M., Anirban, B., Jaya, B., Deepak, M. and Agarwal, A. 2013. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of a flavonoid rich extract of *Glycyrrhiza glabra* and its probable mechanisms of action. Journal Ethnopharmacol, 145: 581-586.
12. Becerro, M.A. and Paul, V.J. 2004. Effects of depth andlight on secondary metabolites production and cyanobacterial symbiontsof the sponge *Dysideagranulose*. *Marine Ecology Progress Series*, 280: 115 -28.
13. Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S. and Moschos, P. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extract of *Saliva tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chemistry, 90: 333-40.
14. Cary, D. and Wink, M. 1994. Elevation variation of quinlizidine alkaloid contents in a lupine (*Lupinus argenteus*) of the Rocky Mountains. Journal of Chemical Ecology, 20(4): 849-857.
15. 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(3): 178-82.
16. Chin, Y., Jung, H., Liu, Y., Su, B., Castoro, J., Keller, W., Pereira, W. and Kinghorn, D. 2007. Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice(*Glycyrrhizaglabra*). Agricultural and Food Chemistry, 55: 4691-7.
17. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J. and Hamidinia, A. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. Pharmacology Online, 1: 7-14.
18. Esmaeili, H., Karami, A., Hadian, J., Saharkhiz, M.J., and Nejad Ebrahimi, S., 2019. Variation in the phytochemical contents and antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* populations collected in Iran. Industrial Crops and Products, 137: 248-259.
19. Farag, M.A., Porzel, A. and Wessjohann, L.A. 2015. Unequivocal glycyrrhizin isomer determination and comparative in vitro bioactivities of root extracts in four *Glycyrrhiza* species. Advanced Research, 6: 99-104.
20. Fatima, T., Bashir, O., Gani, G., Bhat, T. and Jan, N. 2018. Nutritional and health benefits of apricots. International Journal of Unani and Integrative Medicine, 2(2): 50-90.
21. Fattahi, M., Nazeri, V., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R.M., Zamani, Z. and Palazon, J. 2013. Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild-growing populations of *Dracocephalum kotschyi* by LC-DAD-ESI-MS. Food Chemistry, 141: 139-146.
22. Gairola, S., Shariff, N. and Bhatt, A. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high-altitude medicinal plants: Issues needs immediate attention. Journal of Medicinal, 4(18):1825-1829.
23. Gairola, S., Shariff, N.M., Bhatt, A. and Kala, CP. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants: Issues needs immediate attention. Medicinal Plants Researcher, 4(18): 1825-1829.
24. Giusti, M., Monica, B. and Ronald, E. 2001. Characterization and measurement of Anthocyanin by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, F2.2.1-F2.2.13.
25. Gobbo-Neto, L., Guaratini, T., Pessoa, C., Moraes, M., Costa-Lotufo, L., Vieira, RF., Colepicolo, P. and Lopes, NP. 2010. Differential metabolic and biological profiles of *Lychnophora ericoides* from different localities in Brazilian *"Campos rupestres*. Brazilian Chemical Society, 21(4): 750-759.
26. Gohari, AR., Hajimehdipoor, H., Saeidnia, S., Ajani, Y. and Hadjiakhoondi, A. 2011. Antioxidant activity of some medicinal species using FRAP assay. Medicinal Plants, 10: 54-60.

27. Hadian, J., Mirjalili, M.H. and Ganjpoor, N. 2011. Morphological and phytochemical characterization of natural population of *Satureja khuzestanica*. Chemistry Biodiversity, 8: 1-15.
28. Heydari, A., Hadian, J., Esmaeili, H., Kanani, M.R., Mirjalili, M.H. and Sarkhosh, A. 2019. Introduction of *Thymus daenensis* into cultivation: Analysis of agro - morphological, phytochemical and genetic diversity of cultivated clones. Industrial Crops and Products, 131: 14-24.
29. Hrouzek, P. and Tomek, P. 2009. Cytotoxicology andsecondary metabolites production in terrestrial.
30. Ibrahim, MH., Jaafar, HZE., Rahmat, A. and Abdul Rahman, Z. 2011. The relationship between phenolics and flavonoids production with total nonstructural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia punila* benth. Under high CO_2 and nitrogen fertilization. Molecules, 16: 162-74.
31. Jafari, N., Naderi, P. and Ebrahimzadeh, M.A. 2015. Evaluation of phenolic content, total flavonoid and survey of antioxidant activity of leaves of Ficus carica and *Pterocarya fraxinifolia* trees using spectrophotometry and high performance liquid chromatograph methods. Iranian Journal of Plant Biology, 7(25): 1-16.
32. Jovancevic, M., Balijagic, J., Menkovic, N., Savikin, K., Zdunic, G., Jankovic, T. and Dekic-Ivankovic, M. 2011. Analysis of Phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) from Montenegro. Journal of Medicinal Plants Research, 5(6): 910- 4.
33. Karaman, S., Tutem, E., Bas-Kan, K.S. and Apak, R. 2010. comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. Food Chemistry, 120: 1201-9.
34. Karampor, M., Usefi, H. and Kohpaye, N. 2015. Investigating the relationship between climatic elements and vegetation of rangelands in Hormozgan province (A Case Study *Gymnocarpus decander*). Natural Ecosystems of Iran, 6 (3):41-48. (In Persian)
35. Kovalenko, P., Antonjuk, V. and Maliuta, S. 2004. Secondary metabolites synthesis in transformed cells of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Potentilla alba* L. as producents of radioprotective compounds. Ukrainica Bioorganica Acta, 1(2): 13-22.
36. Mukhopadhyay, M. and Panja, P. 2008. A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots. Separation Science and Technology, 63: 539-545.
37. Parvaiz, M., Hussain, K., Khalid, S., Hussnain, N. and Iram, N. 2014. A Review: Medicinal Importance of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae Family). Global Journal of Pharmacology, 8: 8-13.
38. Sanja, V., Filip, S., Izabella, S., Istvan, Z., Imre, O. and Suzana, J.S. 2018. Chemical composition, antioxidant and anticancer activity of licorice from Fruska Gora locality. Industrial Crops & Products, 112: 217-224.
39. Saraf, B.D., Inam, F. and Deo, S.S. 2013. Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extract roots of *Glycyrrhiza glabra* and HPLC analysis. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(2):157-160.
40. Shabkhiz, M.A., Eikani, M.H., Golmohammad, F. and Bashiri Sadr, Z. 2016. Optimized Pressurized hot water extraction of glycyrrhizic acid from Licorice roots. Innovative Food Technologies, 2(4): 11-21. (In Persian)
41. Siracusa, L., Saija, A., Cristani, M., Cimino, F., D'Arrigo, M., Trombetta, D., Rao, F. and Ruberto, G. 2011. Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves –chemical characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity. Fitoterapia, 82: 546-556.
42. Slinkard, K. and Singleton, V. 1977. Total phenolic analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28: 49-55.
43. Sultana, S., Haque, A., Hamid, K., Urmi, K. and Roy, S. 2010. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*.

Agriculture and Biology Journal of North America, 1: 957-960.

44. Szakiel, A., Pączkowski, C. and Henry, M. 2010. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. Phytochem. Rew, doi: 10.1007/s11101 -010-9177-x.
45. Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., mohammad, M. and El-Elimat, T. 2007. antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry, 104: 1372-8.
46. Vaya, J., Belinky, P.A., and Aviram, M., 1997. Antioxidant constituents from licorice roots isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. Free Radical Biology & Medicine, 23(2): 302-313.
47. Wang, L., Yang, R., Yuan, B., Liu, Y. and Liu, C. 2015. The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. Acta Pharmaceutica Sinica B, 5: 310-315.
48. Yazdi, A., Sardari, S., Sayyaha, M. and Hassanpour Ezzati, M. 2011. Evaluation of the Anticonvulsant Activity of the Leaves of *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* Grown in Iran, as a Possible Renewable Source for Anticonvulsant Compounds. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10 (1): 75-82.

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 7th Year, Volume Two, Summer 2019

Study and comparison of phytochemical and antioxidant activity in different native populations of *Glycyrrhiza glabra* L. from Iran

Eghlima, Gh.[1], Sanikhani, M.[2*], Kheiry, A.[2], Hadian, J.[3], Aelaei, M.[2]

[1]Ph.D. student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2]Assistant Prof., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[3]Associate Prof., Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 2018-12-3 ; Accepted: 2019-5-15

Abstract

Glycyrrhiza glabra L. belongs to the Fabaceae family, is a herbaceous, perennial and Iran is one of the countries exporting its root. This plant grows in different regions of Iran, hence the study of phytochemical and antioxidant diversity in different regions is important. This study was carried out to evaluate the content of secondary pharmaceutical compounds and antioxidant activity of licorice roots. Thus 2 cm diameter roots of licorice populations were collected from 15 provinces and 30 regions of Iran in 2017 in October and were transferred to the Horticulture Department laboratories of Zanjan University. Total phenol (Folin–Ciocalteu method), total flavonoid (Aluminum Chloride method), anthocyanin (pH difference method) and antioxidant activity (DPPH method) were studied. The analysis of variance were showed that among 30 populations, for all traits, there was a significant difference in the level of one percent. Total phenol contact ranged from 456.05 to 826 mg gallic acid per 100 g, total flavonoid ranged from 1909.25 to 292.62 mg of quercetin per 100 g, anthocyanin levels ranged from 6.89 to 26.24 mg cyanidine-3-glucoside in 1 Liter, the antioxidant activity varied between 62.07% and 87.14%. There was a significant and positive correlation between total phenol phenotype and antioxidant activity at 1% level, but there was no significant correlation with total flavonoid, anthocyanin and height. Based on the results of cluster analysis, 30 populution *G. glabra* were divided into two main groups. The evaluation of populations in terms of phytochemical traits showed a high variation that N, KA, BA, T, E, Y, M, MR, and SB populations could be selected as top populations for domestication and breeding purposes.

***Keywords*:** Anthocyanin, Antioxidant, Cluster analysis, Flavonoids, *Glycyrrhiza glabra* L., Iran, Native population, Phenol

*Corresponding author; sani@znu.ac.ir