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

وحید روشن[1*]، فرانه زارعیان[2]، عاطفه بهمن زادگان[3]، احمد حاتمی[4]

[1]استادیار، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

[2]کارشناس‌ارشد، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

[3]کارشناس‌ارشد، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

[4]کارشناس‌ارشد، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰٤/۰٤ 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 به‌منظور 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 دررصد)، بی-سیکلوژرماکرن (٤/٤ –۱۵/۱ درصد)، آلفا-پینن(۰/۸– ۱۶/۶ درصد)، بتا-پینن (۰/۸–۹/۲ درصد)، میریسن (۱/۷–۹/۵ درصد) وای-کاریوفیلن (٤/۲–۱۳/۹ درصد). مقایسه ترکیبات عمده اسانس‌ها نشان داد که اکوتیپ‌هایی که از مناطقی با ارتفاع بالاتر جمع آوری شده بودند، نسبت سزکوئی‌ترپن‌های 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، ژرماکرین-دی، فارس، *مریم نخودی*

*نویسنده مسئول: v.rowshan@gmail.com

مقدمه

جنس مریم نخودی یا کلپوره با نام علمی *Teucrium Polium* Boiss. از تیره نعنا می‌باشد. این جنس دارای ۲۰۰ گونه بوده که۱۲ گونه آن در ایران موجود است (Mozaffarian, 1996). برای این گونه دو واریته به نام‌های *T. polium* var. *gnaphalodes* Benth. و *T. polium* var. *tonsum* Stapf مشخص شده است (Rechinger,1982). گونه *T. polium* دارای پراکندگی وسیعی در کشور بوده و تقریبا در تمام مناطق ایران می‌روید. از نظر شکل برگ و کرک بسیار متنوع است و تفکیک واریته‌های آن بسیار مشکل و عمدتاً هم‌پوشانی صفات مشاهده می‌گردد (Jamzad, 2012). بیش از ۲۰۰۰سال است گونه‌های مختلف *Teucrium* به‌عنوان گیاه دارویی شناخته شده است (Kazemizadeh et al., 2008). در طب سنتی این گیاه به‌عنوان مدر، معرق، مقوی، ضددرد، ضدتب و بی اشتهایی مورداستفاده قرارمی‌گیرد. اما خواص دیگر آن نیز از جمله ضداسپاسم، ضد التهاب، ضد فشارخون، کاهش قند، ضدسرطانی، ضدمیکروبی وضداکسیدانی 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 می‌گردد (Niazmand et al., 2011). در بررسی‌های انجام شده روی گیاه کلپوره مشخص شده است که این گیاه حاوی مقادیری از گلیکوزیدها، تانن، ترپنوئید می‌باشد که در خواص آنتی اکسیداتیو سلولی و التیام گوارشی این گیاه موثر است (Amraei et al., 2018; Nasser et al., 2017; 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 ترکیبات در میوه *T. polium* به‌ترتیب شامل آلفا-پینن، المول، بتا-پینن، کوبنول و لیمونن گزارش گردید (Sabzeghabaie 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 می‌تواند روی مواد موثره گیاهان داروئی تاثیر گذار باشد، لذا پژوهشی به منظور بررسی ترکیبات اسانس اکوتیپ‌های مختلف گیاه *T. polium* subsp. *Polium* در مناطق مختلف استان فارس انجام گردید. همچنین خوشه‌بندی این اکوتیپ‌ها براساس ترکیبات اصلی اسانس آن‌ها صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

اندام هوایی گیاه کلپوره (*Teucrium polium* subsp. *Polium*) درمرحله گلدهی (خرداد ۹۵) از هفت منطقه استان فارس، شامل دراک، چشمه انجیر، آب موردی سروستان، قلات سروستان، میان‌جنگل فسا، بوانات و فراشبند به ترتیب با ارتفاع ۲۵۰۰، ۲۱۲۵، ۱۸۳۲، ۱۶۹۲، ۱۷۵۰، ۱۷۵۰ و ۸۰۰ متر از سطح دریا، جمع‌آوری 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 دستگاه‌های GC و GC/MS در شرایط

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 ستونHP-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 به‌مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی، درجه حرارت محفظه تزریق و ترانسفرلاین 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 ۵۰۰-۴۰ 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 به‌مدت 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 بازداری (RI)، طیف جرمی و مقایسه این مولفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و منابع و 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) ودرصد 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 نیزدر 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 درمنطقه 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-کاریوفیلن ۱۱/۶ درصد، آلفا-پینن ۹/۹ درصد، والریانول ۹/۹ درصد، ژرماکرن-دی ۶/۷ درصد (سزکویی‌ترپن) و ترکیبات عمده منطقه قلات سروستان شامل آلفا-پینن (۱۳/۵

درصد)، ژرماکرن-دی (۹/۵ درصد) و ترانس- کاریوفیلن (۰/۹ درصد) بودند.

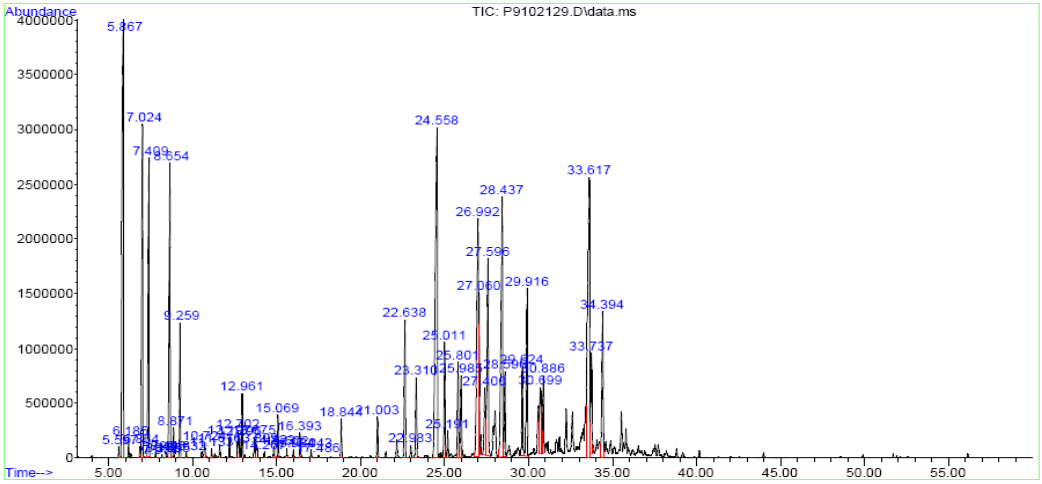
جدول ۱: مقایسه ترکیب‌های شناسایی شده کلپوره در جمعیت‌های مورد مطالعه در استان فارس

ردیف	ترکیب	نمایه بازداری	در صد ترکیب						
			آب موردی	فراشبند	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	۱٤/۱	۱٦/٦	۱۳/۵	۱۰/۱	۰/۸	۷/۱
۳	Camphene	۹٤۷	۰/۲	۰/۳	۰/٤	۰/۳	t	t	۰/۲
٤	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	٤/۵	۰/۸	٤/٦
٦	Myrcene	۹۹۳	۵/۹	۷/۲	۹/۵	۷/٤	۵/٤	۱/۷	۵/٦
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	*p*-Cymene	۱۰۲۵	t	۰/۱	t	t	t	t	۰/۱
۱۱	Limonene	۱۰۲۹	۵/۵	۷/۰	۸/۲	٦/۹	٤/۲	۱/۸	۵/۳
۱۲	1,8-Cineole	۱۰۳۰	t	t	۰/۱	t	t	t	t
۱۳	(*Z*)–β-Ocimene	۱۰۳۵	۰/۳	۰/٤	۰/٤	۰/٤	۰/۲	۰/۱	۰/٤
۱٤	(*E*)–β–Ocimene	۱۰٤٦	۱/٦	۱/۹	۲/۳	۱/۸	۱/۲	۰/٦	۱/۹
۱۵	γ–Terpinene	۱۰۵٦	t	t	۰/۱	t	t	t	۰/۱
۱٦	*cis*-Sabinene hydrate	۱۰۷۰	۰	۰	۰	۰	۰	t	t
۱۷	Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۱	t	۰/٤
۱۸	Linalool	۱۰۹۸	۰/۱	۰/۲	۰/۳	۰/٤	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	۱۱۲٤	۰/۳	۰/۳	۰/٤	۰/۳	۰	۰/۲	۰/٤
۲۲	*trans*-Pinocarveol	۱۱۳۷	۰/٤	۰/۳	۰/٦	۰/٦	۰/۱	۰/٤	۰/۵
۲۳	*cis*-Verbenol	۱۱۳۹	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۲	t	۰/۱	۰/٤
۲٤	*trans*-Verbenol	۱۱٤۳	۰/۹	۰/۷	۱/٤	۱/۳	۰/۳	۰/۷	۱/۱
۲۵	Pinocarvone	۱۱٦۰	۰/۳	۰/۲	۰/٤	۰/۵	۰/۱	۰/۲	۰/۳
۲٦	Borneol	۱۱٦٤	۰/۳	t	۰/٤	۰/۳	۰/۱	t	۰/٤
۲۷	Terpinen-4-ol	۱۱۷۵	t	t	۰/۱	t	t	t	۰/۲
۲۸	α–Terpineol	۱۱۸۸	۰/۲	۰/۲	۰/٤	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۳
۲۹	Myrtenal	۱۱۹۵	۰/٦	۰/٤	۰/۸	۰/۹	۰/۳	۰/٦	۰/۷
۳۰	Verbenone	۱۲۰۷	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۲	t	t	۰/۳
۳۱	*trans*-Carveol	۱۲۱٦	۰/۱	t	۰/۱	۰/۱	t	۰/۱	۰/۲
۳۲	Nerol	۱۲۲٦	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
۳٤	Carvone	۱۲٤۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	t	۰/٦	۰/۲

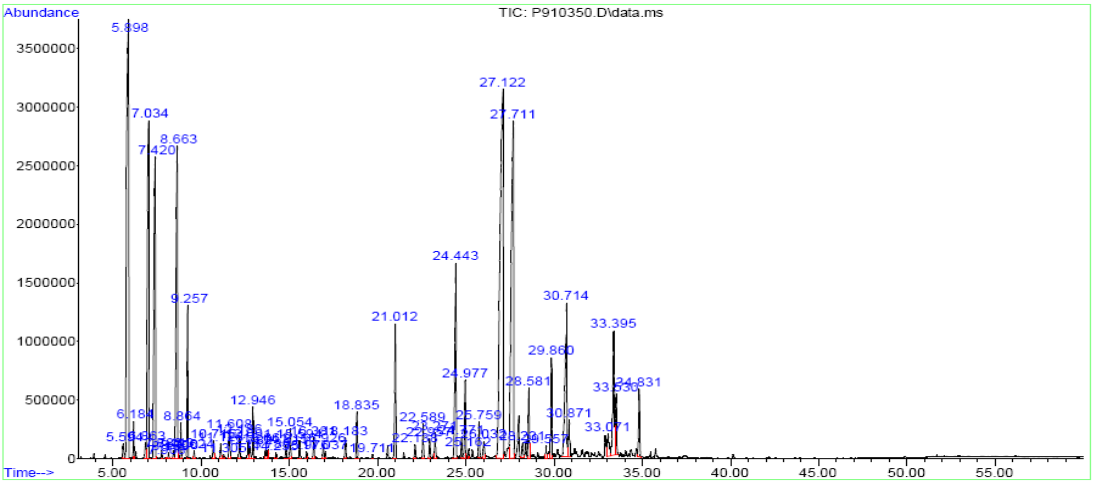
۳۵	Geraniol	۱۲۵۳	t	۰	t	t	۰	t	t
۳۶	Geranial	۱۲۶۷	۰	۰/۳	۰	۰	۰	۰	t
۳۷	Bornyl acetate	۱۲۸٤	۰/۵	۰/۷	۰/۷	۰/٦	۰/۳	۰/٦	۰/٦
۳۸	Thymol	۱۲۹۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱	۰/۱
۳۹	Carvacrol	۱۲۹۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰/٤	۰/۲
٤۰	Undecanal	۱۳۰٤	۰	t	۰	۰	۰	۰	۰
٤۱	δ–Elemene	۱۳۳۵	۰/۷	۲/۲	۱/٤	۰/۷	۲/۸	۱/۳	۱/٦
٤۲	Neryl acetate	۱۳٦۰	۰	۰/۲	۰/۲	۰	۰	۰/۵	۰
٤۳	α–Copaene	۱۳۷٤	۲/۳	۰/۵	t	۲/٤	t	۱/۷	۳/۸
٤٤	β–Bourbonene	۱۳۸۲	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/٦	۱/۵	۰/۹
٤۵	β–Elemene	۱۳۹۰	۱/۳	۰/٤	۰/٦	۰/٦	۰/٤	۰/۹	۰/۹
٤٦	(*E*)-Caryophyllene	۱٤۲۱	۱۱/۰	٤/۲	۸/۰	۸/۹	۱۳/۹	۱۰/٦	۹/۹
٤۷	β–Copaene	۱٤۳۰	۰	۰/۳	۰/۲	۰	۰	۰/۳	۰/۳
٤۸	γ–Elemene	۱٤۳۲	۱/۹	۱/۲	۰/۵	۰/٦	۰/۸	۰/۷	۰/۸
٤۹	α–Guaiene	۱٤۳۷	۰/٤	۰/۱	۰/٦	۰/۵	۰/٤	۱/٦	۰/۲
۵۰	α–Humulene	۱٤۵۲	۱/۵	۰/٦	۰/۹	۱/۱	۱/۵	۱/٤	۱/۷
۵۱	(*E*)–β–Farnesene	۱٤۵٦	۱/٦	۰	۰/٦	۰/٤	۱/٤	۰/۵	۰
۵۲	Allo-Aromadendrene	۱٤٦۰	۰	۰/٤	۰	۰	۰	۰	۰/٤
۵۳	Germacrene D	۱٤۸۱	٦/۷	۱۸/۳	۱۳/٤	۹/۵	۲۲/٦	۲۰/۵	۱۳/۷
۵٤	β-Selinene	۱٤۹۰	۱/۷	۰	۰	۰/۱	۰	۰	۰/۱
۵۵	Valencene	۱٤۹٤	۱/٦	۰	۰/۷	۰/۹	۰	۰	۰/۹
۵٦	Bicyclogermacrene	۱٤۹٦	٤/٤	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
٦۰	7-epi–α–Selinene	۱۵۱۸	٦/٦	۰	۲/۱	۲/۸	۰/۸	۱/۲	۵/۹
٦۱	δ–Cadinene	۱۵۲۲	۱/۳	۱/۲	۰/٤	۱/٤	۰/۸	۱	۲/٤
٦۲	(*E*)-γ-Bisabolene	۱۵٤۱	۰	۰	۰	۰	۰	۱/۳	۰
٦۳	Elemol	۱۵٤۹	۱/٦	۰/۲	t	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۱
٦٤	Germacrene B	۱۵۵٦	۳/٤	۱/۷	۰/٦	۱/۰	۰/۹	۱/٦	۱/۲
٦۵	(E)-Nerolidol	۱۵٦٤	۰	۰	۰	۰	۰/۳	۳/۵	۰
٦٦	Spathulenol	۱۵۷٦	۱/۲	٤/۳	۲/۷	۲/۰	٤/۱	۱۰/۷	٦/۹
٦۷	Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۱/۳	۰/۷	۱/۱	۱/۳	۲/۱	۳/٤	۲/۲
٦۸	Isolongifolan-7-α-ol	۱٦۱۷	۰	۰	۰	۲/۳	۰	۰	۰
٦۹	epi-α-Cadinol	۱٦٤۲	۰	۰/۷	۰	۰	۰	۰	۰/۷
۷۰	β-Eudesmol	۱٦٤۹	۰	۲/۸	۰/۲	۱/۱	۱/۹	۰/۹	۰
۷۱	α-Cadinol	۱٦۵۲	۰	۱/۳	۰/۸	۰	۱/۳	۱/٤	۱/۲
۷۲	Valerianol	۱٦۵۵	۹/۹	۰	۰	۳/۱	۰	۰	۰
۷۳	7-epi-α-Eudesmol	۱٦۵۸	۱/٦	۰	۰	۵/۷	۰	۰	۰
۷٤	Elemol acetate	۱٦۷٦	۳/۱	۰	۰	۰/۳	۰	۰	۰

۷۵	14-hydroxy-α-Humulene	۱۷۱٤	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۸	۰
۷٦	n-Hexadecanoic acid	۱۹٦۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۸	۰
۷۷	epi-13-Manool	۲۰۵۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰/٤	۰
۷۸	Phytol	۲۱۱٤	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۳	۰
	مجموع		۹۹/۸	۹۹/٤	۹۹/۲	۹۹/۵	۹۹/۱	۹۷/۸	۹۸/٤

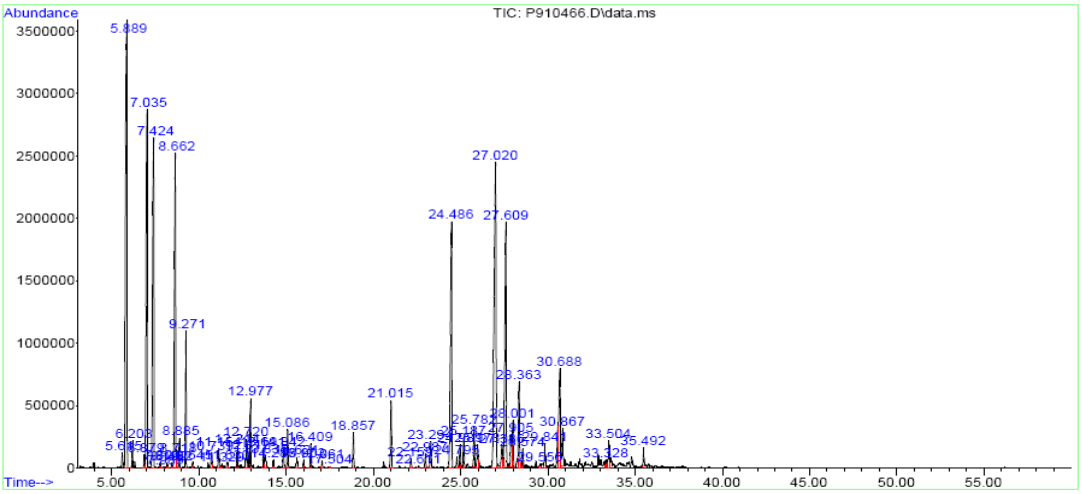
ترکیبات عمده منطقه فراشبند آلفا-پینن (۱٤/۱ درصد)، بتا-پینن (۷/۳ درصد)، میرسین (۷/۲ درصد)، ژرماکرن-دی (۱۸/۳ درصد) و بی‌سیکلو ژرماکرن (۱۲/۷ درصد) بودند. در منطقه بوانات ترکیبات عمده شامل آلفا-پینن (۱٦/٦ درصد)، بتا-پینن (۸/۹ درصد)، میرسین (۹/۵ درصد)، ژرماکرن-دی (۱۳/٤ درصد) و بی‌سیکلو ژرماکرن (۷/۹ درصد) بودند. ترکیبات ژرماکرن-دی (۲۲/٦ درصد)، بی‌سیکلوژرماکرن (۱۵/۱ درصد)، ترانس-کاریوفیلن (۱۳/۹ درصد) و آلفا-پینن (۱۰/۱ درصد) از ترکیبات عمده منطقه دراک بودند. در حالیکه ترکیبات شاخص منطقه میان جنگل شامل ژرماکرن-دی (۱۳/۷ درصد)، ترانس-کاریوفیلن(۹/۹ درصد) و آلفا-پینن (۷/۱ درصد) بودند و ترکیبات اصلی منطقه چشمه‌انجیر شامل ژرماکرن-دی (۲۰/۵ درصد)، بی‌سیکلوژرماکرن (۱۳ درصد)، ترانس-کاریوفیلن (۱۰/٦ 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).



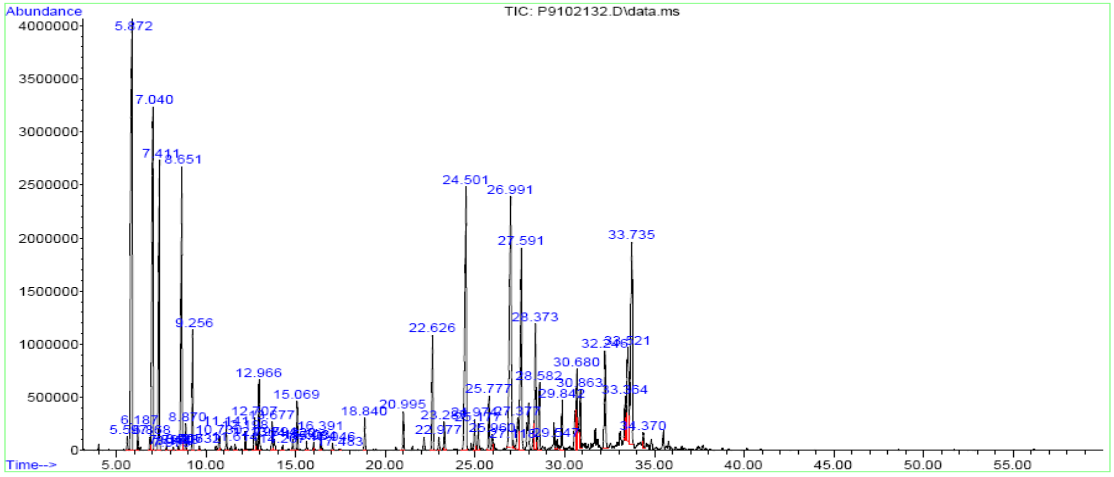
شکل ۱: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گل دهی در منطقه آب موردی



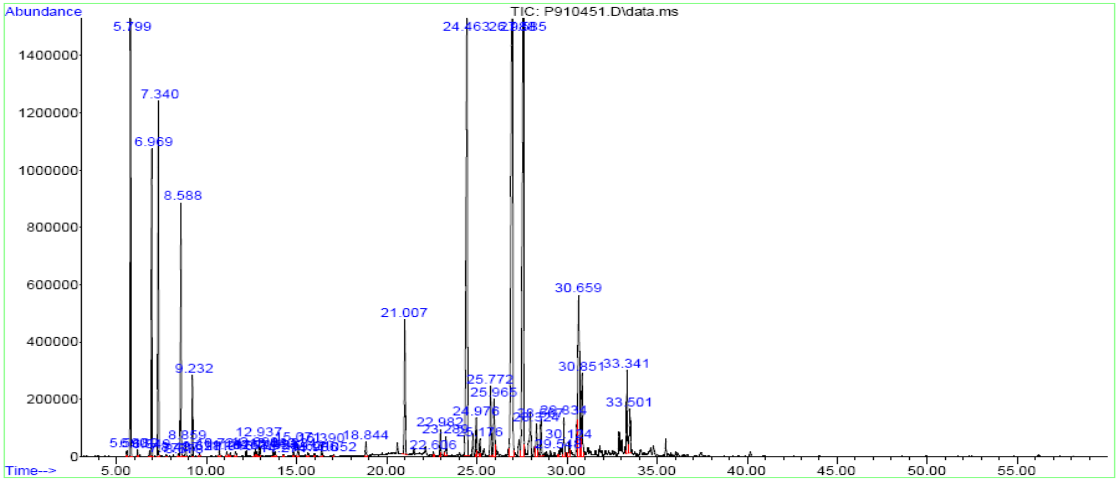
شکل۲: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی فراشبند



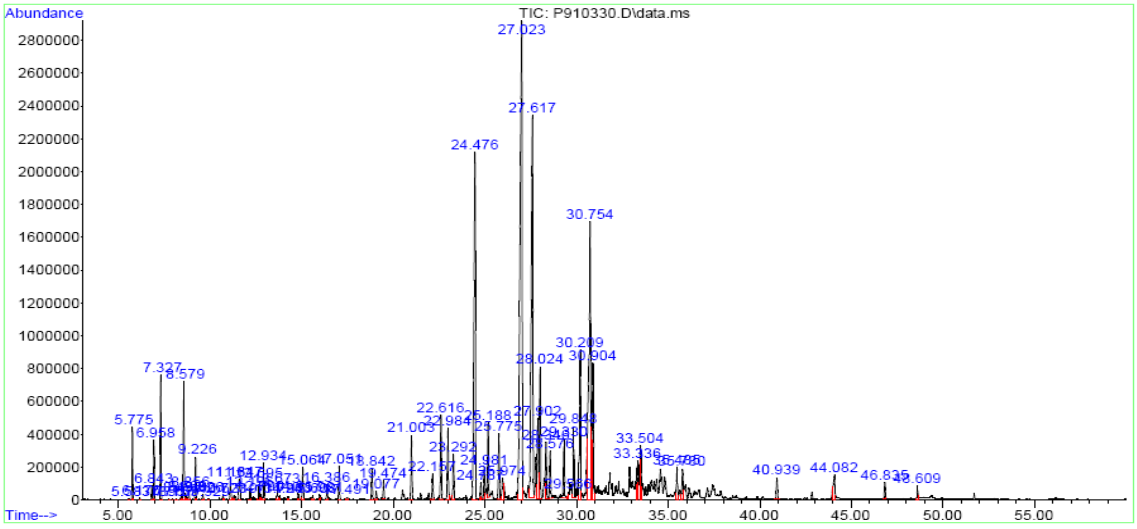
شکل۳: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در بوانات



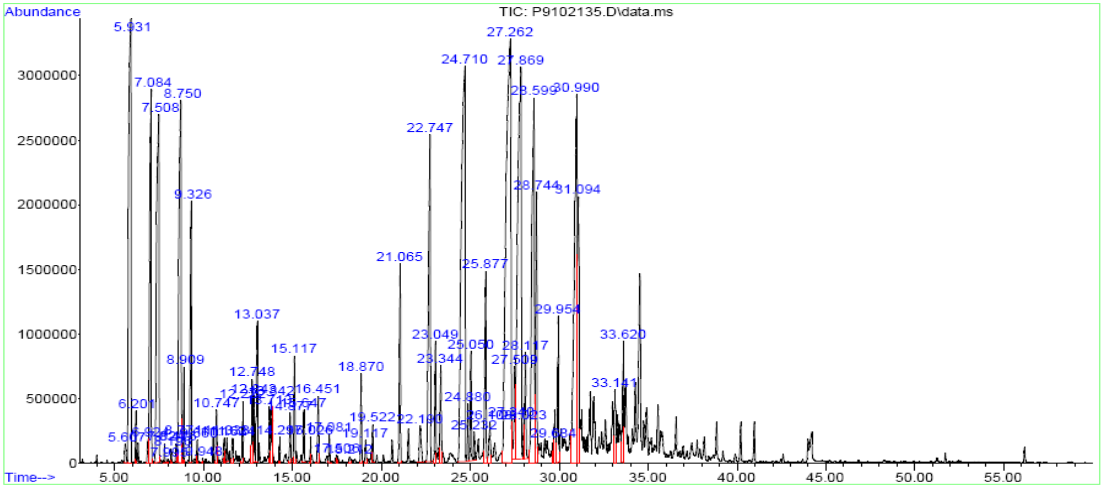
شکل٤: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در قلات



شکل ۵: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در دراک



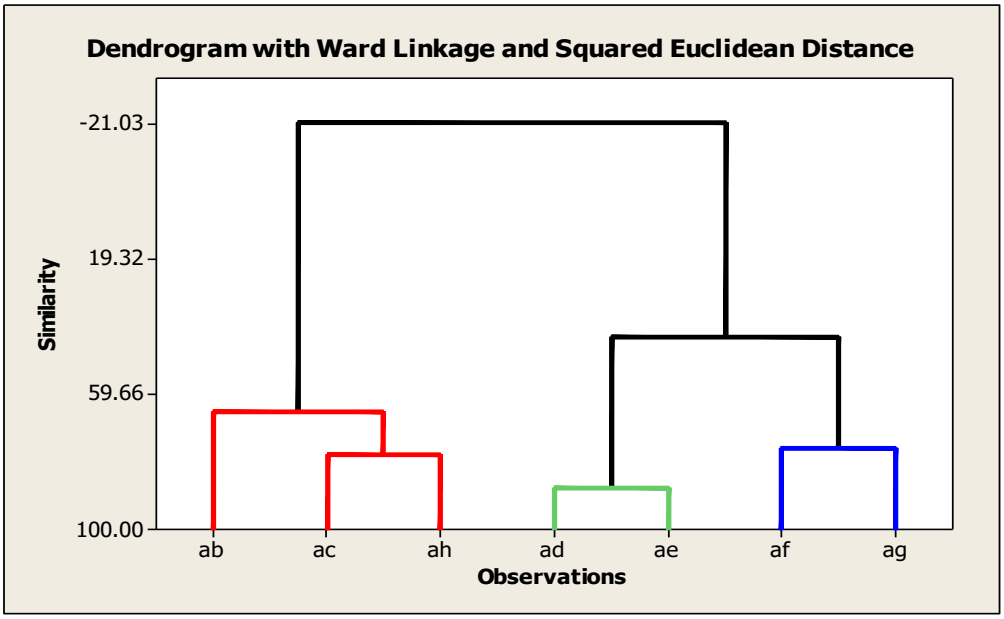
شکل ٦: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی درچشمه انجیر



شکل۷: کروماتوگرام اسانس کلپوره در مرحله گلدهی در میان جنگل

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

ترکیبات اسانس	مقدار اسانس (درصد)						
	میان جنگل فسا	چشمه انجیر	دراک	قلات سروستان	بوانات	فراشبند	آب موردی
ژرماکرن دی	۱۳/۷	۲۰/۵	۲۲/٦	۹/۵	۱۳/٤	۱۸/۳	٦/۷
آلفا-پینن	۷/۱	۰/۸	۱۰/۱	۱۳/۵	۱٦/٦	۱٤	۹/۹
بی سیکلو ژرماکرن دی	۹/۲	۱۳	۱۵/۱	۹/۵	۷/۹	۱۲/۷	٤/٤
بتا-پینن	٤/٦	۰/۸	٤/۵	۹/۲	۸/۹	۷/۳	۵/۹
میرسین	۵/٦	۰/۷	۵/٤	۷/٤	۹/۵	۷/۲	۵/۹
ترانس- کاریوفیلن	۹/۹	۱۰/٦	۱۳/۹	۸/۹	۸	٤/۲	۱۱
والریانول	۰	۰	۳/۱	۰	۰	۰	۹/۹
لیمونین	۵/۳	۱/۸	٤/۲	٦/۹	۸/۲	۷	۵/۵
اسپاتولنول	٦/۹	۱۰/۷	٤/۱	۲	**۲/۷**	٤/۳	۱/۲
کاریوفیلن اکساید	۲/۲	۳/٤	۲/۱	۱/۳	۱/۱	۰/۷	٦/٦



نمودار ۱: خط برش روی کلاستر مناطق بر اساس شباهت ٦۰ درصد ترکیبات عمده جمعیت‌ها ab، منطقه ۱: چشمه انجیرac؛ منطقه ۲: دراکah؛ منطقه ۷: میان جنگل فسا ad؛ منطقه ۳: فراشبند ae؛ منطقه ٤: بوانات af؛ منطقه ۵: آب موردی ag؛ منطقه ٦: قلات سروستان

بحث

بر اساس جدول ۲ بیشترین درصد ژرماکرن-دی و بی سیکلو ژرماکرن-دی در منطقه دراک (۲۵۰۰متر ارتفاع از سطح دریا) به‌ترتیب با ۲۲/٦ و ۱۵/۱ درصد و چشمه انجیر (۲۱۲۵ متر ارتفاع از سطح دریا) به‌ترتیب ۲۰/۵ و ۱۳ درصد گزارش شد. در پژوهش‌های متعددی اثر شرایط اکولوژیک روی گیاهان داروئی مانند *T.Polium* (Baghizadeh et al., 2017; Abtahi and Bagherzadeh, 2014)، *Salvia fruticosa* (Abd El-Wahab et al., 2015) و

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 تأثیر ارتفاع بر کمیت وکیفیت مواد مؤثره اسانس گیاه *Thymus serpyllum* و *Rosmarinus officinalis* نشان داده شد کیفیت وکمیت اسانس این گیاهان تأثیر پذیر از شرایط اقلیمی نظیر اختلاف ارتفاع می‌باشد (Mohammad nejad et al., 2006; Jamshidi et al., 2006).

بیشترین میزان آلفا و بتا- پینن 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-پینن بودند، این نتایج با جمعیت های منطقه سروستان و قلات مطابقت دارد (Baghizadeh et al., 2017). همچنین در کرواسی و اسپانیا، آلفا-پینن و بتا-پینن بیشترین میزان ترکیبات اسانس را در *T.Polium* تشکیل می‌دادند (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 می داد (Kabuchi et al., 2005). ترکیبات ژرماکرن-دی و بی سیکلو ژرماکرن-دی از گروه سزکوئی‌ترپن‌ها می‌باشند در حالی که آلفا و بتا-پینن از گروه منوترپن‌ها می‌باشد، به نظر می‌رسد گیاهانی که از ارتفاعات بالاتر جمع آوری شده اند میزان سزکوئی‌ترپن 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 سزکوئی‌ترپن‌ها به مونوترپن‌ها در ارتفاعات بالا بیشتر از ارتفاع پایین می‌باشد. همچنین در مناطق با ارتفاع بالاتر میزان ترانس- کاریوفیلن و کاریوفیلن 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-کاریوفیلن بود، ولی دردو جمعیت دیگر بیشترین ترکیبات اسانس مانند منطقه بوانات و قلات سروستان، آلفا-پینن گزارش گردید. در دو جمعیت انارک و نطنز هم، ترانس- پینوکارول ترکیب اصلی اسانس را تشکیل می دادند (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 بارندکی تفاوت چندانی ندارند زیرا منطقه قلات سروستان در جنوب استان است و این مناطق دارای میزان بارندگی ۲۰۰میلی 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-پینن، بتا-پینن و کاریوفیلن‌اکساید گزارش کردند، مطابقت دارد (Ben Othman et al., 2017; Moghtader, 2009; Esmaili and Amiri, 2009; Mirza, 2001). از طرفی میزان بالای ژرماکرن-دی و بی‌سیکلوژرماکرن در تمام جمعیت‌ها با نتایج اسماعیلی و امیری (Esmaili and Amiri, 2009) مطابقت دارد ولی بی‌سیکلوژرماکرن در نتایج Mirza گزارش نشد (Mirza, 2001). ترکیب والریانول 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

مجموع میزان سزکوئی‌ترپن‌ها نزدیک به دو سوم منوترپن‌ها 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 میلی متر در سال است. با توجه به ارتفاع کم، میزان سزکوئی‌ترپن 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 ۱٤۰ 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 ٤۷ ترکیب و فراشبند با ٤۹ 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 فراشبند با ارتفاع ۸۰۰ متر در جنوب شرقی استان فارس واقع شده است. منطقه فراشبند 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 و جمعیت چشمه انجیر زیر شاخه آن‌ها قرارگرفت. 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 گرفته‌اند. به نظر می‌رسد فاکتورهای ژنتیکی این دوکموتایپ 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 کیلومترفاصله هستند. مشخص است که با وجود شرایط اکولوژیکی نسبتاً مشابه، منطقه چشمه انجیر زیر شاخه دو جمعیت دراک و میان جنگل قرارگرفت. در مطالعه باقی‌زاده و همکاران (Baghizadeh et al., 2017) در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای داده‌های فیتوشیمیایی گیاه *T.polium* در استان کرمان، نمونه‌های مورد نظردرسه گروه طبقه‌بندی شدند. در تحقیقی که توسط دلیر (Dalir, 2011) روی جمعیت‌های *Thymus* spp. صورت گرفت، براساس تجزیه خوشه‌ای، صفات فیتوشیمیای ۱۳ جمعیت در ۲ گروه دسته‌بندی شدند.

نتیجه‌گیری نهایی

این تحقیق نشان داد که در بعضی از مناطق ترکیبات سزکویی‌ترپن 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 (فراشبند) ولی آب و هوای گرمتری داشتند. در جمعیت‌های بوانات و قلات، مونوترپن‌ها 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 بودو 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

تاثیرپذیری 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 ٦٢١٢ 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.

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 *Thymus*spp. 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. Lamaiceae. 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. InternationalJournal 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: phytochemiacl 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 Medicinais, 8: 23-26.

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

Rowshan, V.[1*], Zareiyan, F.[2], Bahmanzadegan, A.[3], Hatami, A.[4]

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

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

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

[4]M.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)-Caryophylle (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