

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

قاسم اقلیما<sup>۱</sup>، محسن ثانی‌خانی<sup>۲\*</sup>، عزیزاله خیری<sup>۱</sup>، جوادهادیان<sup>۳</sup>، میترا اعلانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری، فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

<sup>۲</sup>استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

<sup>۳</sup>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 پروانه‌آسها، 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 آنتی‌اکسیدانی مناطق مختلف حائز اهمیت است. این تحقیق به منظور 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 ۴۵۶/۰۵ تا ۸۲۶ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم، فلاونوئید کل بین ۱۰۱۹/۲۵ تا ۲۲۹۱/۶۲ میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم، میزان آنتوسیانین بین ۶/۸۹ تا ۲۶/۲۴ میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلوکوزید در لیتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین ۶۲/۰۷ تا ۸۷/۱۴ 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, BA, T, E, Y, M, MR و SB را می‌توان به‌عنوان جمعیت‌های برتر به‌منظور اهلی‌سازی و به‌نژادی‌گزینش و بکار گرفت.

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

یکتایی (O<sub>i</sub>) 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<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>) گروه بزرگی از این متابولیت‌های ثانوی هستند که تقریباً در همه گیاهان وجود دارند و معمولاً در ۶ زیر گروه اصلیفلاونول‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاونون‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانیدین‌ها 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 آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی اندام‌های مختلف این گیاه به اثبات رسیده است (Yazdi et al., 2011). گلیسیریزیک اسید موجود در ریشه شیرین بیان بسته به نوع گیاه، وارسته و شرایط اقلیمی محل رویش بین ۵ تا ۲۰ درصد متغیر است (Esmaeili et al., 2019). با جمع‌آوری و بررسی ریشه‌های شیرین بیان 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

جنس *Glycyrrhiza* متعلق به تیره Leguminosae و با حدود ۳۰ گونه است که به‌طور گسترده در سراسر جهان پخش شده‌اند. شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) یکی از قدیمی‌ترین و پرطرفدارترین 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 ایالات متحده آمریکا کشت می‌شود (Parvaiz et al., 2014). ریزوم شیرین بیان در صنایع مختلف غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ریشه شیرین بیان 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 شیرین بیان به دلیل وجود ترکیبات ثانوی دارویی فعال دارای خواص آنتی‌اکسیدانی (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 یک یا 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 به دلیل خصوصیات مهاری خود می‌توانند به عنوان عوامل کاهنده (دهنده‌های پروتون) در پاکسازی اکسیژن

(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 آنتی‌اکسیدانی 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 جمع‌آوری گردید (جدول ۱). نمونه‌ها پس از جمع‌آوری در دمای آزمایشگاه خشک گردید و جهت عصاره‌گیری فرآوری شدند.

تأثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه تأکید شده است (Gairola et al., 2010). در فرایند اهلی سازی یک گیاه دارویی بررسی و شناخت کامل از شرایط اکولوژیکی گیاه و ارتباط شرایط اکولوژیکی با ویژگی‌های فیتوشیمیایی به منظور 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 در طبیعت 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

جدول ۱: معرفی مناطق جمع‌آوری جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

جمعیت	استان	شهرسان	کد	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع
1	کهگیلوه و بویر احمد	ياسوج	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 نفت	TF	54 12 32	31 44 50	1600

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

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

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

\*\*ns، \* به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد

سدیمیک مولار اضافه شد. برای شاهد بجای عصاره، تنها از متانول استفاده شد و بعد فولین سیوکالچوو کربنات سدیم اضافه گردید. جذب محلول فوق بعد از قرار گرفتن در ۳۰ دقیقه در تاریکی و حمام بخار ۴۰ درجه سانتیگراد، در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد (Slinkard and Singleton, 1977). برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت  $y = 0.01x + 0.0075$  استاندارد گالیک اسید ( $R^2 = 0.998$ ) استفاده شد.

اندازه گیری فلاونوئید کل: به این منظور ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱

**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 میلی لیتر 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 آنتی اکسیدانی به صورت زیر اندازه گیری شد (Hamati et al., 2015)

**اندازه گیری میزان فنل کل:** برای اندازه گیری فنل کل ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی با ۵ میلی لیتر فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط و سپس به آن ۴ میلی لیتر کربنات

۵ = 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 به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از پایان واکنش بلافاصله جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. علاوه بر نمونه‌های مذکور یک لوله آزمایش به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که تنها حاوی ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. فعالیت مهار رادیکال DPPH از فرمول درصد فعالیت خنثی‌کنندگی 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 بین جمعیت‌های مختلف شیرین بیان 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. مقادیر F مربوط به تکرار درون جمعیت‌ها برای صفت فلاونوئید کل در سطح یک درصد و برای صفات فنل کل و آنتوسیانین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار و برای بقیه صفات معنی‌دار نشد.

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

میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم 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 سپس جذب آن بلافاصله در طول موج ۴۱۵ 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  $(R^2 = 0/985, y = 0/0112x + 0/0004)$  جهت تعیین غلظت فلاونوئید کل استفاده شد.

**اندازه‌گیری آنتوسیانین:** روش اختلاف pH برای سنجش میزان آنتوسیانین بکار برده شد. پنج میلی‌لیتر عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی با پنج میلی‌لیتر محلول KCl-HCl با pH=۱ و یک میلی‌لیتر دیگر از محلول رویی با پنج میلی‌لیتر بافر استات ۰/۲ مولار با pH=۴/۵ رقیق شد. سپس جذب هر دو محلول در دو طول موج ۵۱۰ 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).

$$A) = (A_{520pH1} - A_{700pH1}) * (A_{520pH4.5} - )$$

جذب  $(A_{700pH4.5})$

$$(mg/l) = \left( \frac{A}{26900} \times 1000 \right) \times \left( \frac{445}{2} \right) \times (5)$$

۱۰۳ = عامل تبدیل

۲۶۹۰۰ = ضریب مولی سیانیدین ۳- گلوکوزید

۴۴۵/۲ = وزن ملکولی سیانیدین ۳- گلوکوزید

جمعیت N (نقده) با میانگین ۸۷/۱۴ درصد دارای بیشترین و جمعیت SM (سمیرم) با میانگین ۶۲/۰۷ درصد دارای کمترین خواص آنتی اکسیدانی بودند. **ضرایب همبستگی صفات:** ضرایب همبستگی ساده پیرسون در جدول آمده است. صفت فنل کل با صفت فعالیت آنتی اکسیدانی همبستگی منفی و معنی داری در سطح یک درصد، ولی با صفات فلاونوئید کل، آنتوسیانین و ارتفاع همبستگی معنی داری ندارد. صفت فلاونوئید کل با صفت فعالیت آنتی اکسیدانی دارای همبستگی مثبت و معنی دار در سطح یک درصد می باشد ولی با صفات فنل کل، آنتوسیانین و ارتفاع همبستگی معنی داری ندارد. ارتباط و همبستگی صفت ارتفاع با صفات فیتوشیمیایی معنی دار نشده است (جدول ۵).

نشان داد (جدول ۳) که بیشترین فنل کل مربوط به جمعیت R (ربط) با میانگین ۸۲۶ میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم و کمترین مربوط به جمعیت (S) سلطانیه با میانگین ۴۵۶/۰۵ میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم بود. مقایسه صفت آنتوسیانین بیانگر این واقعیت است که جمعیت MSH (مشکین شهر) با میانگین ۲۶/۲۴ میلی گرم سیانیدین-۳- گلوکوزید در لیتر بیشترین و جمعیت D (داراب) با میانگین ۶/۸۹ میلی گرم سیانیدین-۳- گلوکوزید در لیتر کمترین آنتوسیانین را دارد. مقایسه میانگین فلاونوئید کل نشان داد که جمعیت SB (شهر بابک) با میانگین ۲۲۹۱/۶۲ میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم بیشترین و جمعیت D (داراب) با میانگین ۱۰۱۹/۲۵ میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. از نظر خواص آنتی اکسیدانی

جدول ۳: مقایسه میانگین های صفات مورد مطالعه جمعیت های مختلف شیرین بیان

آنتی اکسیدان (درصد)	فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم)	آنتوسیانین (میلی گرم سیانیدین-۳- گلوکوزید در لیتر)	فنل کل (میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم)	جمعیت
۷۷/۴ <sup>k</sup>	۲۰۳۳/۰۳ <sup>e</sup>	۱۷/۷۲ <sup>ghi</sup>	۶۷۳/۸۶ <sup>i</sup>	A
۸۳/۴۵ <sup>cd</sup>	۱۵۹۴/۳ <sup>f</sup>	۱۵/۰۵ <sup>k</sup>	۶۳۷/۸۶ <sup>i</sup>	AH
۷۸ <sup>jk</sup>	۱۹۵۰/۶۹ <sup>g</sup>	۲۵/۸۴ <sup>a</sup>	۷۹۵/۶۲ <sup>c</sup>	BA
۷۸/۳۳ <sup>jk</sup>	۱۷۵۵/۵۹ <sup>m</sup>	۲۰/۱۹ <sup>e</sup>	۵۸۶/۸۱ <sup>l</sup>	BAJ
۷۷/۶۲ <sup>k</sup>	۲۱۰۲/۴ <sup>c</sup>	۱۶/۷۹ <sup>hi</sup>	۵۸۲/۹۹ <sup>m</sup>	BJ
۷۴/۳۹ <sup>l</sup>	۱۰۱۹/۲۵ <sup>z</sup>	۶/۸۹ <sup>n</sup>	۶۸۱/۳ <sup>f</sup>	D
۸۲/۶۴ <sup>cdef</sup>	۱۴۴۲/۹۸ <sup>i</sup>	۲۱/۴۴ <sup>d</sup>	۵۴۴/۰۶ <sup>o</sup>	E
۶۹/۱۴ <sup>m</sup>	۱۶۲۱/۰۸ <sup>q</sup>	۱۱/۱۳ <sup>l</sup>	۵۸۳/۲۰ <sup>m</sup>	HA
۸۲/۲۶ <sup>def</sup>	۱۶۴۱/۳۱ <sup>p</sup>	۱۱/۱۴ <sup>l</sup>	۵۸۹/۲۳ <sup>l</sup>	K
۷۸/۵۲ <sup>ijk</sup>	۲۱۲۹/۰۹ <sup>b</sup>	۱۷/۷۶ <sup>gh</sup>	۸۰۵/۲۹ <sup>b</sup>	KA
۷۴/۴ <sup>l</sup>	۱۹۹۲ <sup>f</sup>	۱۴/۴ <sup>k</sup>	۵۶۰/۲۸ <sup>n</sup>	KAZ
۸۰/۰۶ <sup>ghi</sup>	۱۳۰۸/۷۹ <sup>y</sup>	۲۵/۳۳ <sup>ab</sup>	۶۰۵/۴۶ <sup>j</sup>	M
۶۷/۸۲ <sup>m</sup>	۱۷۳۵/۸ <sup>n</sup>	۲۳/۱ <sup>c</sup>	۶۴۳/۵۳ <sup>h</sup>	MR
۶۸/۱۷ <sup>m</sup>	۱۸۳۳/۱۹ <sup>j</sup>	۱۶/۴۵ <sup>lj</sup>	۶۷۷/۳۲ <sup>g</sup>	MS
۸۴/۳۲ <sup>bc</sup>	۱۷۹۵/۲۷ <sup>k</sup>	۲۶/۲۴ <sup>a</sup>	۵۲۶/۳۹ <sup>q</sup>	MSH
۸۷/۱۴ <sup>a</sup>	۱۶۷۵/۱۹ <sup>o</sup>	۲۴/۵۶ <sup>b</sup>	۷۰۵/۲۰ <sup>e</sup>	N

۸۱/۵۷ <sup>efg</sup>	۱۴۴۱ <sup>u</sup>	۹/۵۸ <sup>m</sup>	۶۳۵/۳۲ <sup>i</sup>	P
۸۲/۳۳ <sup>def</sup>	۱۸۷۳/۰۴ <sup>m</sup>	۱۷/۴۲ <sup>ghi</sup>	۴۹۳/۶۴ <sup>s</sup>	Q
۷۳/۵۹ <sup>l</sup>	۱۴۰۰/۵۷ <sup>v</sup>	۱۵/۴۸ <sup>jk</sup>	۸۲۶/۰۷ <sup>a</sup>	R
۸۵/۶ <sup>ab</sup>	۱۴۵۱/۳۱ <sup>t</sup>	۱۷/۸۵ <sup>gh</sup>	۴۵۶/۰۵ <sup>t</sup>	S
۷۵/۰۶ <sup>l</sup>	۲۲۹۱/۶۲ <sup>a</sup>	۱۷/۵۱ <sup>ghi</sup>	۶۸۳/۳۲ <sup>f</sup>	SB
۷۵/۱۸ <sup>l</sup>	۱۳۰۵/۵۴ <sup>y</sup>	۱۴/۴ <sup>k</sup>	۵۹۳/۲۳ <sup>k</sup>	SE
۷۹/۱۸ <sup>ijk</sup>	۲۰۷۶/۶۱ <sup>d</sup>	۱۹/۵۴ <sup>ef</sup>	۶۰۳/۶۹ <sup>l</sup>	SH
۷۸/۵۲ <sup>ijk</sup>	۱۱۶۵/۶۳ <sup>z</sup>	۱۱/۷۵ <sup>l</sup>	۵۱۲/۲۹ <sup>r</sup>	SK
۶۲/۰۷ <sup>n</sup>	۱۳۳۱/۸۶ <sup>w</sup>	۱۸/۴۷ <sup>fg</sup>	۶۷۷/۳۲ <sup>g</sup>	SM
۸۱/۲۲ <sup>fgh</sup>	۱۲۳۰/۸۱ <sup>z</sup>	۱۵/۳۴ <sup>jk</sup>	۵۴۴/۶۳ <sup>o</sup>	SP
۷۹/۶۴ <sup>lhi</sup>	۱۴۹۰/۴۸ <sup>s</sup>	۱۵/۳۵ <sup>jk</sup>	۵۸۱/۴۶ <sup>m</sup>	SQ
۷۵/۳۱ <sup>l</sup>	۱۷۷۲/۵۲ <sup>i</sup>	۲۰/۳۶ <sup>e</sup>	۷۷۹/۵ <sup>d</sup>	T
۸۳/۲۹ <sup>cde</sup>	۱۳۱۴/۳۳ <sup>x</sup>	۱۰/۷۸ <sup>l</sup>	۵۳۹/۲۶ <sup>p</sup>	TF
۸۱/۳۵ <sup>fgh</sup>	۱۰۱۹/۲۵ <sup>z</sup>	۱۹/۴ <sup>ef</sup>	۶۸۴/۷۵ <sup>f</sup>	Y

جدول ۴: میانگین و دامنه صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

صفت	واحد اندازه‌گیری	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	حداقل
فصل	میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم	۶۲۵/۷۵	۹۲/۰۸	۸۲۷	۴۵۵
آنتوسیانین	میلی گرم سیانیدین - ۳ - گلوکوزید در لیتر	۱۷/۲۵	۴/۸۹	۲۸	۶۷۵
فلاونوئید	میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم	۱۶۴۴	۳۳۰/۹۱	۲۲۹۳	۱۰۱۷
آنتی‌اکسیدان	%	۷۷/۹۱	۵/۶۹	۸۷/۷	۶۱

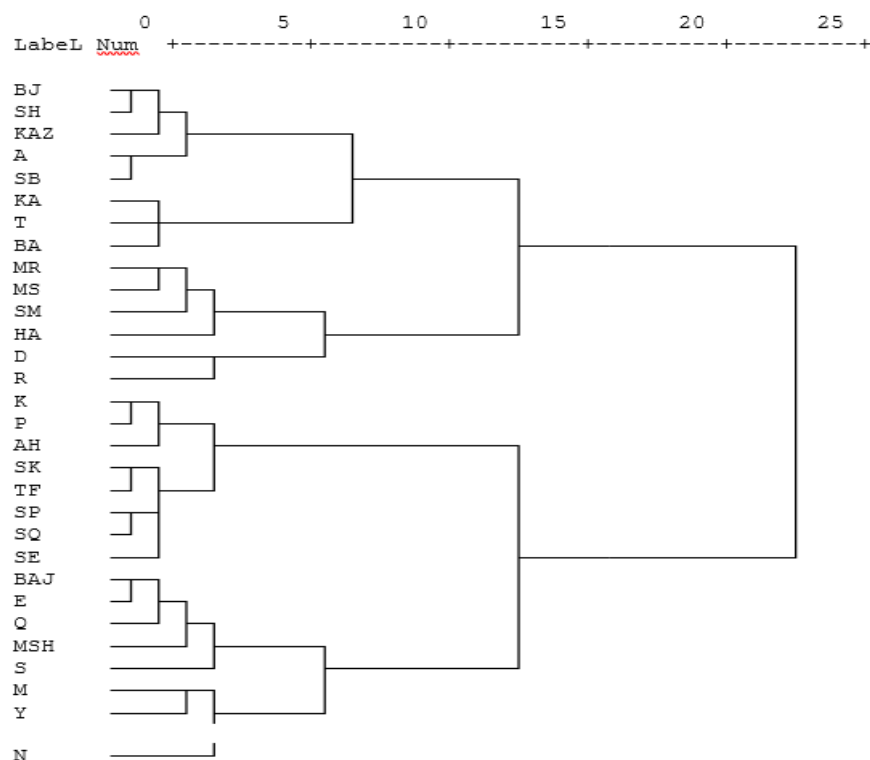
جدول ۵: ضریب همبستگی پیرسون برای صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف شیرین بیان

صفات	ضرایب همبستگی			
	فصل	آنتوسیانین	فلاونوئید	آنتی‌اکسیدان
آنتوسیانین	۰/۱۷۵	۱	۱	۱
فلاونوئید کل	۰/۱۵۴	۰/۳۷۲ <sup>**</sup>	۱	۱
آنتی‌اکسیدان	- ۰/۳۴۲ <sup>**</sup>	۰/۱۲۷	- ۰/۰۳۱	۱
ارتفاع	۰/۰۷	۰/۱۰۹	- ۰/۱۶۳	- ۰/۱۸۲

<sup>\*\*</sup>، <sup>ns</sup> به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد

شامل جمعیت‌های A, B, J, KAZ, SH, BA, T, KA, SB, MR, MS, SM, HA, D و R که از نظر صفات آنتوسیانین، فلاونوئید کل و فصل کل دارای برتری بودند. گروه دوم شامل جمعیت K, P, AH, SE, SP, BAJ, SQ, SK, TF, E, Q, MSH, S, M, Y و N که از نظر صفت خواص آنتی‌اکسیدانی دارای برتری بودند.

**تجزیه خوشه‌ای:** بر پایه خوشه‌بندی بدست آمده از تجزیه تحلیل داده‌ها فیتوشیمیایی، رابطه خویشاوندی بین جمعیت‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است که در فاصله ۲۵ واحد هم آنها را به دو گروه اصلی تقسیم نمود. ضریب کوفنتیک بین دندروگرام و ماتریس تشابه ۰/۸۹ بدست آمد که نشان دهنده برازش مناسب دندروگرام به ماتریس تشابه بوده است. گروه اول



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

## بحث

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 آنتی‌اکسیدانی کل میوه زردآلو ارزیابی شده به روش DPPH ( $R^2 = -0.777$ ,  $P \leq 0.01$ ) 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 سایر فاکتورها (نور، دما، شیب محیط، رطوبت نسبی منطقه و میانگین بارندگی

تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌تواند نتیجه نمو گیاه در نظر گرفته شود که شامل تغییرات متابولیسمی، مورفولوژیکی و تمایز می‌باشد. از طرفی، تولید این متابولیت‌ها ناشی از بیان برخی از ژن‌های گیاه در شرایط خاص می‌باشد. گزارش شده است که تولید ترکیبات مؤثره گیاهی به دلیل فعال شدن مسیر سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که اغلب در گیاهان مختلف، به شکل متفاوتی دیده می‌شوند. در حالی که متابولیت‌های اولیه مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها که در فرآیندهای متابولیسمی اصلی گیاه درگیر می‌باشند، به شکل مشابهی در تمام گیاهان دیده می‌شوند. به نظر می‌رسد تولید متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر شرایط محیطی گیاه می‌باشد. بنابراین شناسایی شرایط مناسب جهت تولید متابولیت‌های خاص 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. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم‌های درگیر در تولید ترکیبات فنلی در شرایط اقلیمی تغییر 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<sub>2</sub> گزارش شده است (Saraf et al., 2013; Siracusa et al., 2010; Sultana et al., 2011). 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

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 فیتوشیمیایی 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 فلاونوئیدها 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 تاثیر شرایط محیطی مختلف در رویشگاه‌های متفاوت بر 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 گزارش شده است. الگوی تولید و ذخیره متابولیت‌های ثانویه در این گیاه

توجهی دارند. نتایج حاصل نشان می‌دهد که ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی 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 Y, E, T, BA, KA, N, M, MR و SB را می‌توان به عنوان جمعیت‌های برتر به منظور اهلی‌سازی و به‌نژادی‌گزی‌نش و بکار گرفت.

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 می‌تواند 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 شیرین بیان دارای میزان بالایی از ترکیبات فنلی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل

#### References

- 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.
- Hajmehdipoor, H., Aminzade, Y., Hasanlo, T., Shekarchi, M., Abedi, Z., and Piralihamedani, M. 2008. Evaluation of the quality of liquorice 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.
- 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.
- Nostoc strains, originating from different climatic/geographic regions and habitats: Is their cytotoxicity environmentally dependent. Environ Toxicol., 26: 20561.
- Omidbagi, R. 2008. Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Razavi Publishing House. Mashhad, 47-50p.
- Pharsi, M., and Bagheri, A. 1988. Principles of Plant Breeding. Publishers (SID), Mashhad, 230 p.
- Plants Research, 4(18): 1825-1829.
- 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., Muruganatham, 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 and light on secondary metabolites production and cyanobacterial symbionts of the sponge *Dysidea granulose*. *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 *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90: 333-40.
  14. Cary, D., and Wink, M. 1994. Elevation variation of quinolizidine alkaloid contents in a lupine (*Lupinus argenteus*) of the Rocky Mountains. *Journal of Chemical Ecology*, 20(4): 849 - 57.
  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 (*Glycyrrhiza glabra*). *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. Esmaili, 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): 05-09.
  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 kotschy* 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): 1825-9.
  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): 750-9.
  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., Esmaili, 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 and secondary metabolites production in terrestrial.
30. Ibrahim, M.H., Jaafar, H.Z.E., 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<sub>2</sub> 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 products 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., Hussain, 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., Paćzkowski, 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.

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

Eghlima, Gh.<sup>1</sup>, Sanikhani, M.<sup>\*2</sup>, Kheiry, A.<sup>2</sup>, Hadian, J.<sup>3</sup>, Aelaei, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

<sup>2</sup>Assistant Prof., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

<sup>3</sup>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 content 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 population *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