جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی محتوای متابولیت‌های ثانویه ریشه گیاه شیرین‌بیان در برخی رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان

حکیمه علومی*، ندا حسیبی

استادیار، گروه اکولوژی، مرکز بین‌المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، ماهان، کرمان
*آدرس مکاتبه: کرمان، ماهان، مرکز بین‌المللی علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، پژوهشکده علوم محیطی، گروه اکولوژی، کدپستی: ۷۶۳۱۱۳۳۱۳۱، تلفن و نمابر: ۶۲۲۸۰۱ (۰۳۴۲)
پست الکترونیک: oloumi.ha@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۷ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۶/۲

چکیده

مقدمه: ریشه‌ها و ریزوم‌های گیاه دارویی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) که به دلیل داشتن خواص متعدد و وجود بیش از ۱۰۰ ترکیب متفاوت شامل تری‌ترپن ساپونین (گلیسیریزین) و ترکیبات فنلی آن در طب سنتی بسیار کاربرد دارد به شکل خودرو در بسیاری از مناطق استان کرمان رویش دارد.

هدف: با توجه به کاربرد ریشه‌های شیرین‌بیان در صنعت دارویی، هدف از انجام این پژوهش، مقایسه محتوای برخی ترکیبات بیوشیمیایی مهم در داروسازی و صنایع غذایی، در ریشه این گیاه جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی مختلف در استان کرمان بود.

روش بررسی: در این پژوهش محتوای ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات جاذب اشعه ماوراء بنفش (UV)، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و گلیسیریزین جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان شامل اندوهجرد، بافت، بردسیر، راین، زنگی‌آباد و کوهبنان مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج: بیشترین میزان گلیسیریزین به عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره این گیاه در اندوهجرد مشاهده شد در حالی‌که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل در ریشه‌های جمع‌آوری شده از شهر بابک وجود داشت. ریشه‌های به دست آمده از بافت و کوهبنان نیز به ترتیب بیشترین مقدار تانن را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاه بسته به شرایط مختلف آب و هوایی، متغیر می‌باشد و در بین ریشه‌های به دست آمده از مناطق مختلف استان، ریشه‌های گیاهان رشد یافته در شرایط با ارتفاع پست‌تر بالاترین کیفیت را از نظر ماده موثره گلیسیریزین دارا می‌باشند و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در ریشه‌های به دست آمده از مناطق مرتفع‌تر وجود دارد.

گل‌واژگان: شیرین‌بیان، ریشه، متابولیت‌های ثانویه، استان کرمان

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* که در استان کرمان به آن متکی (Motkii) می‌گویند گیاهی است چندساله و از خانواده بقولات (Fabaceae) که ارتفاع آن به ۱ تا ۲ متر می‌رسد. برگ‌های آن به فرم شانه‌ای مرکب فرد می‌باشند که برگچه‌های آن دارای حالت چسبناکی هستند. گل‌های شیرین‌بیان به رنگ‌های آبی یا آبی متمایل به ارغوانی و گاهی زرد دیده می‌شوند. ریشه‌ها و ریزوم‌های این گیاه دارای پوستی قهوه‌ای رنگ هستند که در زیر آن بخش زردرنگی دیده می‌شود که دارای طعم شیرینی می‌باشند [۱]. واژه Glycyrrhiza در یونان قدیم به معنای قند ریشه می‌باشد [۲].

رقم اروپایی شیرین بیان (Licorice) در اکثر مناطق جهان به خصوص میان دو عرض جغرافیایی ۳۰ و ٤٥ درجه در نیمکره شمالی زمین می‌روید و بومی مناطق مدیترانه‌ای، روسیه مرکزی و جنوبی، شبه جزیره آناتولی و ایران می‌باشد [۳]. این گیاه در ایران نیز پراکنش بسیار وسیعی دارد و در استان‌هایی چون خراسان (شمالی و رضوی)، آذربایجان شرقی و غربی، زنجان، گلستان، کردستان، فارس، اصفهان، تهران، کرمان و غیره مشاهده می‌شود. شیرین‌بیان یکی از گیاهان دارویی است که بیشتر به صورت بهره‌برداری از طبیعت به بازار مصرف می‌رسد و کمتر مورد کشت و کار قرار می‌گیرد [۲] و جالب است که ریشه این گیاه به صورت خشک شده یا عصاره، یکی از مهم‌ترین اقلام صادراتی کشورمان در بخش گیاهان دارویی است. استان کرمان نیز یکی از رویشگاه‌های مهم شیرین‌بیان می‌باشد که سالانه مقدار زیادی از ریشه‌های آن به صورت پودر به خارج از کشور صادر می‌شود و برای صنایع مختلف از جمله غذایی و داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱].

کیفیت گیاهان دارویی با توجه به ویژگی‌های ژنتیکی، بیوماس گیاهی و محتوای متابولیت‌های ثانویه آنها مشخص می‌شود. گیاهان دارویی در شرایط بهینه کنترل شده محیطی (از جمله فاکتورهای فیزیکی شامل رطوبت نسبی، دما، خاک، نور و ...) کیفیت بهتری دارند [٤]. متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در فرآیندهای زیستی گیاه شامل تولید مثل، رقابت و حفاظت در برابر شکارگرها بازی می‌کند [٥]. 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. مطالعات متعددی اهمیت شرایط محیطی را روی ترکیبات فنلی کل و نیز فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها گزارش نموده‌اند [٦].

شیرین‌بیان از جمله گیاهانی است که از قدیم برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌شده است که به دلیل تولید بسیاری از متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی از جهت دارویی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در شیرین‌بیان ماده فلاونوئیدی وجود دارد که خاصیت دفع اسپاسم عضلات را دارد. همچنین مشخص شده ترکیبات مختلف فنلی مستخرج از ریشه شیرین‌بیان در درمان بیماری ایدز انسانی و مهار فعالیت سلولی HIV اهمیت دارد [۷، ٤]. وجود تانن‌ها و ترکیبات آنتوسیانینی نیز در عصاره‌های به دست آمده از گیاه شیرین بیان به عنوان ترکیبات شایع در بخش‌های مختلف این گیاه به اثبات رسیده است [۸]. مهم‌ترین ترکیب موجود در ریشه‌های این گیاه گلیسریزین است که مقدار آن با توجه به شرایط جغرافیایی و آب و هوایی و واریته گیاه بین ۲ تا ۱۵ درصد (%w/w) متغیر می‌باشد [۲،۹]. گلیسریزین (Glycyrrhizin) (GLY) یک ترکیب ساپونینی و تری‌ترپن می‌باشد که فعالیت آن خاص ریشه شیرین بیان می‌باشد. گلیسیریزین مهم‌ترین ترکیب ریشه این گیاه می‌باشد که ۵۰ – ۳۰ برابر از سوکروز شیرین‌تر بوده و شامل یک باند اگلیکون (ساختمان ۵ حلقه‌ای تری‌ترپنوئیدی) به دو مولکول گلوکورونیک اسید می‌باشد [۲]. گزارش شده است که شرایط محیطی مختلف مانند ویژگی‌های اقلیمی، تغییرات فصلی و شرایط نور، دما، رطوبت و خاک می‌تواند ترکیبات ساپونینی گیاهان را نیز تحت تأثیر قرار دهد [۱۰]. در ایران نیز مطالعاتی در زمینه تاثیر شرایط اقلیمی بر محتوای متابولیت‌ها انجام گرفته است که از جمله می‌توان به بررسی ترکیبات فنلی در برخی گیاهان خوراکی ایران و هند [۱۱] و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

نیز گیاه تیموس رویشگاه‌های مرکز و غرب ایران [۱۲] اشاره نمود. به عنوان مثال Ghasemi و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند میزان ارتفاع تأثیر قابل توجهی در تولید مواد مؤثره گیاه تیموس دارد [۱۲].

با توجه به فراهم بودن شرایط اقلیمی مناسب در استان کرمان می‌توان بسته به هدف بهره‌برداری از این گیاه، مناسب‌ترین رویشگاه را انتخاب و به کشت این گیاه در منطقه و گسترش رویشگاه اقدام نمود. شناسایی بهترین رویشگاه همچنین می‌تواند در شناسایی عوامل محیطی مؤثر بر تولید ترکیبات مؤثره این گیاه نیز مورد استفاده قرار گیرد. در این پژوهش مقدماتی ریشه‌های گیاه شیرین‌بیان از رویشگاه‌های اصلی استان کرمان جمع‌آوری شد و محتوای برخی متابولیت‌های مهم در ریشه شیرین‌بیان شامل ترکیبات فنولی کل، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات جاذب اشعه ماوراء بنفش (UV)، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها و گلیسیریزین مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

انتخاب رویشگاه

بر اساس گزارش‌های به دست آمده از مرکز تحقیقات کشاورزی استان کرمان، گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) در اکثر زمین‌های زراعی استان کرمان به صورت علف هرز می‌روید، به ویژه این گیاه در زمین‌هایی که به دلایلی کشت نشده و یا آیش مانده‌اند به سرعت گسترش پیدا می‌کند.

در استان کرمان حدود ۱۰۰ هزار هکتار به خصوص در شهرستان‌های بافت، بردسیر، سیرجان و شهر بابک زیر پوشش شیرین‌بیان قرار دارد.

در این پژوهش، ریشه‌های شیرین‌بیان خودرو از مهم‌ترین رویشگاه در شهرستان‌های بافت، بردسیر، راین، اندوهجرد، زنگی‌آباد، کوهبنان و شهر بابک با نمونه‌برداری کاملاً تصادفی، با ۳ تکرار جمع‌آوری و میزان برخی متابولیت‌های ثانویه آن که در ذیل ذکر شده، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. اطلاعات اقلیمی مناطق در جدول شماره ۱ آمده است.

محتوای فلاونوئیدها و سایر ترکیبات جاذب اشعه ماوراء بنفش

سنجش محتوای فلاونوئیدها و سایر ترکیبات اشعه UV بر اساس روش Krizek و همکاران در سال ۱۹۹۸ انجام گرفت [۱۳]. مقدار ۰/۵ گرم از بافت ریشه با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول: استیک اسید، نسبت ۹۹ به ۱ (v/v)) عصاره‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب ۸۰ Co قرار گرفت و با استفاده از اسپکروفتومتر UV-VIS WPA (مدل S2100 Diod array) شدت جذب در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت شد. نتایج بر اساس درصد جذب (A%) گزارش شد.

جدول شماره ۱- اطلاعات اقلیمی رویشگاه‌های شیرین‌بیان

شهر	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر)
اندوهجرد	۵۷° ۱´	۳۰° ۳´	۸۸۱
بافت	۵۶° ۳۶´	۲۹° ۱۷´	۲۲۸۷
بردسیر	۵۶° ۳۵´	۲۹° ۵۶´	۲۰۴۷
راین	۵۷° ٤٤´	۲۹° ۵۹´	۲۲۰۱
زنگی‌آباد	۵۶° ۵۸´	۳۰° ۱۵´	۱۷۱۹
شهربابک	۵۵° ۸´	۳۰° ۸´	۱۸٤۵
کوهبنان	۵۶° و ۱۷´	۳۱° و ۲۵´	۲۳۰۳

میزان آنتوسیانین‌ها

برای سنجش میزان آنتوسیانین‌ها به روش Wagner در سال ۱۹۷۹، ۰/۱ گرم بافت ریشه در هاون حاوی ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (الکل متیلیک ۹۹/۵ و اسید کلریدریک خالص به نسبت ۹۹ به ۱) ساییده شد. دوباره ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی به آن اضافه شد. عصاره حاصل به لوله آزمایش در پیچ‌دار منتقل و سپس به مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. عصاره حاصل پس از ۲٤ ساعت، به مدت ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ گرم سانتریفوژ شد. شدت جذب عصاره حاصل در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-Visible خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین‌ها از ضریب خاموشی $mM^{-1}\ cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ استفاده شد [۱٤]. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی $mM^{-1}\ cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ و فرمول $A=\varepsilon bc$ استفاده شد. در این فرمول A، میزان جذب خوانده شده در طول موج ۵۵۰ نانومتر، ε، ضریب خاموشی b، عرض کووت (۱ سانتی‌متر) و c غلظت بر حسب میکرومول می‌باشد.

محتوای تانن‌ها

در این سنجش که بر اساس روش Luthar در سال ۱۹۹۲ انجام گرفت [۱۵]، مقدار ۰/۵ گرم بافت ریشه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری شد و ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرارگرفت. ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۵ میلی‌لیتر معرف وانیلین (وانیلین ۱ درصد، HCl ۸ درصد با نسبت ۵۰:۵۰ در متانول) حل و به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس شدت جذب هر نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر از HCl ٤ درصد به جای معرف وانیلین به عنوان شاهد استفاده شد و میزان تانن‌ها بر اساس درصد جذب محاسبه شد.

مقدار ترکیبات فنلی کل

مقدار ۲۵ میلی‌گرم بافت ریشه در ۳ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد همگن شد و به مدت ۲٤ تا ۷۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به مخلوط حاصل ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد و مدت ۱ ساعت در تاریکی گرفت. سپس شدت جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد [۱٦]. برای محاسبه غلظت ترکیبات فنلی، از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد. جهت رسم منحنی استاندارد غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید، تهیه شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول‌های استاندارد، در لوله آزمایش ریخته شد. سایر مراحل مشابه با نمونه‌های مجهول انجام گرفت. پس از رسم منحنی استاندارد، از معادله به دست آمده برای تعیین غلظت ترکیبات فنلی استفاده شد.

محتوای گلیسیریزین

محتوای گلیسیریزین ریشه‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع و دستگاه HPLC استفاده شد. سیستم Agilent HP-1100 (با لامپ دارای حد تعیین و شدت بین ۱۹۰ تا ۹۵۰ نانومتر) و ستون Zorbax SB-C8 (Agilent, USA) (150×4.6 mm i.d.; 5µm) برای این آنالیز استفاده شد. تمام محلول‌ها، با آب دیونیزه تهیه شد. جداسازی به روش ایزوکراتیک و با استفاده از فاز متحرک آب – استیک اسید – استونیتریل با نسبت ۳۸:۱:٦۱ و جریان ۱ ml/min و حجم تزریق ۱۰ µl انجام گرفت.

جهت تهیه محلول استاندارد گلیسیریزین با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، مقدار ۱۰ میلی‌گرم مونوآمونیوم گلیسیریزینات در ۱۰۰ میلی‌لیتر فاز متحرک حل و غلظت‌های کمتر با استفاده از این محلول تهیه شد. محلول سپس از فیلتر ۰/۲ میکرولیتر عبور داده شدند. مدت زمان جداسازی (Retention time) ۲۱ دقیقه بود و تشخیص کمی مقدار گلیسیریزین با استفاده از منحنی به دست آمده از محلول‌های استاندارد انجام گرفت.

آماده‌سازی نمونه جهت آنالیز HPLC

مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بافت ریشه خشک و پودر شده با استفاده از ۵۰ میلی‌لیتر آب عصاره‌گیری شد و تا زمان حل شدن کامل، ورتکس شد. عصاره به دست آمده از فیلتر ۰/۲ میکرولیتر عبور داده شد. محلول حاصل جهت تزریق به دستگاه HPLC استفاده شد.

شرایط کروماتوگرافی مایع

ابتدا دیتکتور UV به مدت ۱۵ دقیقه گرم شد و قبل از تزریق نمونه فاز متحرک به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایش از ستون جداسازی عبور داده شد. سپس با استفاده از سرنگ ۱۰ میکرولیتر، نمونه‌ها به دستگاه تزریق شدند. جداسازی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در طول موج ۲٤٥ نانومتر انجام شد [۱۷].

آنالیزهای آماری

داده‌های آماری مناطق (با ۳ تکرار) با استفاده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد و نرم‌افزار SPSS (ver 17) آنالیز شدند.

نتایج

فلاونوئیدها و سایر ترکیبات اشعه UV

بیشترین مقدار این ترکیبات بر اساس شدت جذب در طول موج ۲۷۰ و ۳۰۰ نانومتر در ریشه‌های به دست آمده از منطقه زنگی‌آباد دیده شد در حالی‌که کمترین مقدار آن در طول موج ۲۷۰ و ۳۰۰ نانومتر به ترتیب در ریشه‌های به دست آمده از اندوهجرد و راین مشاهده شد. در طول موج ۳۳۰ نانومتر ریشه‌های شهر بابک و زنگی‌آباد به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار ایت ترکیبات را با ضریب اطمینان ۹۵ درصد نشان دادند. بیشترین میزان فلاونوئیدهای کل و سایر ترکیبات اشعه UV در راین و کمترین آن در کوهبنان مشاهده شد.

آنتوسیانین‌ها و تانن‌ها

ریشه‌های جمع‌آوری شده از بافت بیشترین مقدار آنتوسیانین را نشان دادند در حالی که ریشه‌های سایر مناطق تفاوتی در محتوای آنتوسیانین نشان ندادند. مشابه آنتوسیانین، بیشترین مقدار تانن‌ها نیز در بافت مشاهده شد در حالی که در ریشه‌های اندوهجرد محتوای آن کمترین مقدار را نشان داد.

ترکیبات فنلی کل

ریشه‌های به دست آمده از شهر بابک و اندوهجرد به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار ترکیبات فنلی کل را نشان دادند. بین محتوای ترکیبات فنلی کل در ریشه‌های بافت، بردسیر و راین نیز تفاوتی مشاهده نشد.

محتوای گلیسیریزین

بیشترین مقدار گلیسیریزین در ریشه‌های گلیسیریزین اندوهجرد مشاهده شد در حالی‌که کمترین آن متعلق به ریشه‌های کوهبنان بود. محتوای گلیسیریزین ریشه‌های به دست آمده از زنگی‌آباد پس از اندوهجرد بیشترین مقدار را نشان داد. بین محتوای گلیسیریزین در ریشه‌های شیرین‌بیان مناطق بافت و راین نیز تفاوتی مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌تواند نتیجه نمو گیاه در نظر گرفته شود که شامل تغییرات متابولیسمی، مورفوژنتیکی 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 حالی‌که متابولیت‌های اولیه مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها که در فرآیندهای متابولیکی 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 می‌تواند در افزایش تولید این متابولیت‌ها در محیط‌های کشت مصنوعی مؤثر باشد [۱۹، ۱۸].

در این مطالعه بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل در شهر بابک مشاهده شد اما بیشترین مقدار فلاونوئیدها و سایر ترکیبات اشعه UV در طول موج ۲۷۰ و ۳۰۰ نانومتر در زنگی‌آباد دیده شد که مقدار این ترکیبات در طول موج ۳۳۰ نانومتر در این منطقه کمترین میزان را نشان داد. ریشه‌های جمع‌آوری شده از بافت مقدار آنتوسیانین و تانن بیشتری نسبت به سایر مناطق نشان داد. نتایج نشان داد که ریشه‌های جمع‌آوری شده از اندوهجرد کمترین میزان تانن‌ها و ترکیبات فنلی کل را تجمع می‌دهند. در حالی‌که بیشترین میزان گلیسیریزین در این منطقه مشاهده شد که پس از آن، بیشترین مقدار گلیسیریزین در زنگی‌آباد مشاهده شد. بر اساس این نتایج و مطالعه ارتفاع مناطق، به نظر می‌رسد که مناطقی که کمترین ارتفاع را دارند، بیشترین میزان گلیسیریزین را در ریشه‌ها تجمع می‌دهند. در حالی‌که کمترین مقدار این ترکیب در بافت و راین با بیشترین ارتفاع مشاهده شد. همچنین چنانکه از نتایج به دست می‌آید میزان ترکیبات فنلی و به ویژه تانن‌ها در مناطق با ارتفاع کمتر، کمترین میزان را در ریشه نشان می‌دهند.

بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد احتمالاً در شرایطی که میزان تولید متابولیت‌های ثانویه به سمت تولید ترکیبات فنلی هدایت شود، میزان تولید گلیسیریزین به عنوان ماده مؤثره مهم گیاه شیرین‌بیان کاهش می‌یابد. بنابراین محتوای ترکیبات فنلی ارتباط عکس با محتوای گلیسیریزین دارد و الگوی تولید این متابولیت‌ها در شرایط متفاوت محیطی در گیاه شیرین‌بیان تفاوت دارد.

اهمیت تأثیر شرایط محیطی مختلف در رویشگاه‌های متفاوت بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان و حتی جلبک‌ها قبلاً نیز گزارش شده است [۲۲،۲۱،۲۰،۱۸،٦،٥]. تفاوت در پروفایل تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی *Lychnophora ericoides* به دست آمده از رویشگاه‌های مختلف که بومی برزیل می‌باشد، نیز توسط Gobbo-Neto و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز گزارش شده است. این محققان بیان نمودند که الگوی تولید و ذخیره متابولیت‌های ثانویه در گیاه بر اثر شرایط محیطی تغییر می‌کند [۲۲]. افزایش محتوای فنولیک‌ها و فلاونوئیدها بسته به شرایط محیطی شامل دی‌اکسیدکربن و ازت قبلاً در *Labisia pumil* نیز گزارش شده است [۱۹]. محققان گزارش نمودند که افزایش در تولید کربوهیدرات‌های غیرساختاری می‌تواند منجر به افزایش تولید فنولیک‌ها و فلاونوئیدها در این گیاه شود. از طرفی، افزایش در قندهای محلول دلیل افزایش محتوای فلاونوئیدها در گیاه پیاز ذکر شده است [۱۹]. Cary و Wink در سال ۱۹۹٤ نیز در مطالعه محتوای آلکالوئیدهای گیاه *Lupinus argeneteus* در کوه‌های راکی گزارش نمودند که با افزایش ارتفاع، محتوای این متابولیت‌ها کاهش می‌یابد. آنها بیان نمودند که فصل رشد طولانی‌تر در ارتفاعات پایین‌تر می‌تواند منجر به رشد سریع گیاه شود که خود به نوبه می‌تواند مقادیر بیشتری از منابع را به متابولیت‌های ثانویه جهت محافظت گیاه اختصاص دهد [٥]. 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 دریافت نور بیشتری داشتند، نسبت به سایر رویشگاه‌ها بیشتر می‌باشد. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم‌های درگیر در تولید ترکیبات فنلی در شرایط مختلف اقلیمی تغییر می‌یابد. این محققان همچنین نقش طول جغرافیایی را در افزایش میزان آنتوسیانین‌ها گزارش نمودند [٦]. از طرفی Ghasemi و همکاران در سال ۲۰۱۱، میزان ارتفاع را مؤثرترین عامل در تولید ترکیبات مؤثره گیاه *Thymus daenensis* در رویشگاه‌های مختلف مناطق غرب و مرکزی ایران بیان نمودند [۱۲].

بر اساس نتایج می‌توان چنین بیان کرد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در مناطق مرتفع‌تر مانند بافت و راین که کمترین میزان گلیسیریزین را در ریشه گیاه شیرین‌بیان نشان دادند، وجود دارد که می‌تواند به دلیل تأثیر شرایط نوری شامل شدت تابش

اشعه مرئی یا ماوراء بنفش به عنوان عوامل تنش بر تولید متابولیت‌های ثانویه باشد. همچنین محتوای گلیسیریزین که مهم‌ترین متابولیت ثانویه در این گیاه می‌باشد در منطقه اندوهجرد بیشترین میزان را نشان می‌دهد. بر این اساس می‌توان چنین نتیجه گرفت که شرایط محیطی مختلف می‌تواند محتوا و الگوی تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاه شیرین‌بیان تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین، می‌توان عوامل مؤثر بو تولید متابولیت‌های مهم این گیاه، میزان همبستگی عوامل محیطی شامل نور، دما، بارش و ... در مناطق مختلف را با تولید متابولیت‌های ثانویه ارزیابی نمود و از نتایج آن جهت ارتقاء کیفیت محصول در محیط‌های کشت مصنوعی استفاده نمود.

منابع

1. Chaudhary SA, Gadhvi KV, Chaudhary AB, 2010. Comprehensive review on world herb trade and most utilized medicinal plant. *Int. J. App. Biol. Pharmaceut. Tech*. 1 (2): 510 - 7.

2. Sabbioni C, Mandrioli R, Ferranti A, Bugamelli F, Saracino M, Forti G, Fanali S, Raggi M. Separation and analysis of glycyrrhizin, and 18_-glycyrrhetic acid in liquorice roots by means of capillary zone electrophoresis. *J. Chromat. A.* 2005; 1081: 65 – 71.

3. Usal M, Picci V, Atzei A. Glycyrrhizin Variability in subterranean organs of Sardinian *Glycyrrhiza glabra* Subspecies *Glabra* VAR. *Glabra*. *J. Nat. Prod.* 1995; 5 (11): 1727 - 9.

4. Kovalenko PG, Antonjuk VP, Maliuta SS. Secondary metabolites synthesis in transformed cells of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Potentilla alba* L. as producents of radioprotective compounds. *Ukrainica Bioorganica Acta*. 2004; 1, 2: 13 - 22.

5. Cary DB, Wink M. Elevation variation of quinlizidine alkaloid contents in a lupine (*Lupinus argenteus*) of the Rocky Mountains. *J. Chem. Ecol.* 1994; 20 (4): 849 - 57.

6. Jovancevic M, Balijagic J, Menkovic N, Savikin K, Zdunic G, Jankovic T, Dekic-Ivankovic M. Analysis of Phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) from Montenegro. *J. Med. Plants Res*. 2011; 5 (6): 910 - 4.

7. Chin Y, Jung H, Liu Y, Su B, Castoro J, Keller W, Pereira W, Kinghorn D. Anti-oxidant Constituents of the Roots and Stolons of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*). *J. Agric. Food Chem*. 2007; 55: 4691 - 7.

8. Yazdi A, Sardari S, Sayyaha M, Hassanpour Ezzati M. 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 J. Pharmaceut. Res*. 2011; 10 (1): 75 - 82.

9. Gupta V, Fatima A, et al. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. *J. Ethnopharmacol*. 2008; 116 (2): 377 - 80.

10. Szakiel A, Pączkowski C, Henry M. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochem. Rew*. 2010; doi: 10.1007/s11101 -010-9177-x.

11. Aberoumand A, Deokule S S, Comparison of Phenolic Compounds of Some Edible Plants of Iran and India. *Pakistan J. Nut.* 2008; 7 (4): 582 - 5.

12. Ghasemi P A, Karimi A, Yousefi M, Enteshari Sh, Golparvar AR, Diversity of *Thymus daenensis* Celak in Central and West of Iran. *J. Med. Plants Res*. 2011; 5 (4): 319 - 23.

13. Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce.

Physiologia Plantarum. 1998; 103: 1 - 7.

14. Wagner GJ. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiol*. 1979; 64: 88 - 93.

15. Luthar Z, Kreft I. Influence of temperature on tannin content in different ripening phases of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) seeds. *Fagopyrum* 1999; 16: 61 - 5.

16. Sonald SF, Laima SK. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agric*. 1999; 1: 1 - 5.

17. Hurst WJ, McKim JM, Martin A., High performance liquid chromatographic determination of glycyrrhizin in licorice products. *J. Agric Food Chem*. 1983; 31: 387 - 9.

18. Becerro MA, Paul VJ. Effects of depth and light on secondary metabolites production and cyanobacterial symbionts of the sponge *Dysidea granulose*. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 2004; 280: 115 - 28.

19. Ibrahim MH, Jaafar HZE, Rahmat A, Abdul Rahman Z. The relationship between phenolics and flavonoids production with total non structural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia punila* benth. Under high CO_2 and nitrogen fertilization. *Molecules* 2011; 16: 162 - 74.

20. Hrouzek P, Tomek P, et al. Cytotoxicology and secondary metabolites production in terrestrial *Nostoc* strains, originating from different climatic/geographic regions and habitats: Is their cytotoxicity environmentally dependent. *Environ Toxico*. 2009; 26: n/a. doi: 10.1002/tox. 20561.

21. Gairola S, Shariff NM, Bhatt A, Kala CP. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants: Issues needs immediate attention. *J. Med. Plants Res.* 2010; 4 (18): 1825 - 9.

22. Gobbo-Neto L, Guaratini T, Pessoa C, de Moraes M, Costa-Lotufo L, Vieira RF, Colepicolo P, Lopes NP. Differential metabolic and biological profiles of *Lychnophora ericoides* from different localities in Brazilian "*Campos rupestres. J. Braz. Chem. Soc*. 2010; 21 (4): 750 - 9.