Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI:10.22092/IJMAPR.2026.369344.3541

Vol. 42, No. 3, Page 531-546 (2026)

Study of agronomic, physiological and phytochemical characteristics of four superior accessions of *Hypericum perforatum* L.

Razieh Azimi[1]*, Bohloul Abbaszadeh[2], Masoumeh Layeghhaghighi[2], Ali Ashraf Jafari[2] and Mahdi Yahyazadeh[2]

1*- Corresponding author, Medicinal Plants and By-products Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: azimiorgchem@gmail.com
2- Medicinal Plants and By-products Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 03/05/2025 Revised: 27/09/2026 Accepted: 29/09/2026

Abstract

Background and Objectives: Given the economic value of many medicinal plant species in Iran and the demand from related industries, identifying and introducing superior accessions to medicinal plant producers can improve the quantity and quality of plant products, enhance their economic value, and contribute to the development of the medicinal plant industry. This study was carried out as part of complementary research designed to introduce selected medicinal plant cultivars for seed production and increase their cultivated area. The objective was to identify the superior Hypericum perforatum accession based on agronomic and phytochemical traits. Four accessions were selected from the preliminary research phase: A01 (Gene Bank accession code 10601) from Ardabil, A02 (Gene Bank accession code 33255) from Qazvin, A03 (Gene Bank accession code 33258) from Qazvin, and A04 (Gene Bank accession code 23335) from Khalkhal.

Methodology: Seeds of the superior *H. perforatum* accessions selected during the preliminary research phase were transferred to the Alborz Research Station in the winter of 2021. In spring 2022, the seeds were sown in the field using a randomized complete block design with five replications. In 2023, data were recorded during the flowering and seed-ripening stages. Morphological traits, flowering branch yield, and seed yield per hectare were measured. The above-ground parts of the plants were harvested at full flowering to assess their phytochemical characteristics. Different plant organs, including flowers, leaves, stems, and branches, were extracted separately using 80% methanol adjusted to pH 3 under ultrasonic treatment at 50 °C. Hypericin concentrations in the extracts were subsequently determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). In addition, total phenolic, flavonoid, and anthocyanin contents, as well as antioxidant activity, were evaluated in the hydroalcoholic extract (80% ethanol) of the flowering branches.

Results: Statistical analysis revealed significant differences among the *H. perforatum* accessions in all morphological traits, individual plant weight, flowering branch yield, seed yield, and phenolic, anthocyanin, and hypericin contents at the 1% significance level. Flavonoid content and antioxidant activity differed significantly at the 5% significance level. Mean comparisons using the least significant difference (LSD) test showed that accession A02 from Qazvin had the greatest plant height (65.8 cm), crown circumference (222 cm), individual flowering plant weight (134.8 g), flowering branch yield (5,392 kg ha^{-1}), individual plant seed weight (12.3 g), and seed yield (492 kg ha^{-1}). The highest total phenolic content (6,240.8 µg gallic acid equivalents (GAE) g^{-1} dry matter) was recorded in accession A04 from Khalkhal. In contrast, accession A03 from Qazvin exhibited the highest flavonoid content (810.7 µg quercetin equivalents (QE) g^{-1} dry matter), anthocyanin content (2.2 µg cyanidin equivalents g^{-1} fresh matter), and antioxidant

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

activity (58.9%). Analysis of mean hypericin concentrations across plant organs in the four accessions showed that flowers had the highest concentration (3.84 mg g^{-1}), followed by leaves (2.25 mg g^{-1}) and flowering branches (1.49 mg g^{-1}). Stems contained the lowest concentration (0.68 mg g^{-1}). Simple correlation analysis revealed significant positive correlations between shoot yield and individual plant weight, plant height, and crown circumference. Antioxidant activity was also positively and significantly correlated with hypericin content.

Conclusion: The results identified accession A02 from Qazvin as superior in terms of morphological traits, flowering branch yield, and seed yield, whereas accession A03 from Qazvin showed the highest antioxidant activity. Accession A01 from Ardabil had the highest hypericin concentration in flowering branches. Accordingly, A02 was selected for cultivar introduction, while accessions A01 and A02 appear promising for further research aimed at developing a cultivar with high yield and phytochemical quality.

Keywords: Medicinal plant-cultivar, *Hypericum perforatum*, hypericin, morphophysiological traits.

بررسی صفات زراعی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی چهار اکسشن برتر گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.)

راضیه عظیمی[1*]، بهلول عباس‌زاده[2]، معصومه لایق حقیقی[3]، علی‌اشرف جعفری[4] و مهدی یحیی‌زاده[5]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، پست‌الکترونیک: azimiorgchem@gmail.com

۲- دانشیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- کارشناس محقق، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- استاد پژوهشی، بخش تحقیقات مرتع، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۵- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۳ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۷/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۰۷

چکیده:

سابقه و هدف: با توجه به ارزش اقتصادی بسیاری از گونه‌های گیاهان دارویی در ایران و نیاز صنایع وابسته، شناسایی و معرفی اکسشن‌های برتر به تولیدکنندگان گیاهان دارویی، می‌تواند ضمن افزایش کمیت و کیفیت گیاهان تولید شده، ارزش اقتصادی آنها را بالا ببرد و به توسعه صنعت گیاهان دارویی کمک نماید. این تحقیق در راستای تحقیقات تکمیلی معرفی ارقام منتخب گیاهان دارویی به منظور تولید بذر برای توسعه سطح زیر کشت انجام شد. هدف از این مطالعه، تعیین اکسشن برتر گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.) از لحاظ صفات زراعی و فیتوشیمیایی، با استفاده از چهار اکسشن برگزیده مرحله مقدماتی، A01 (کد بانک ژن ۱۰۶۰۱) از منشأ اردبیل، A02 (کد بانک ژن ۳۳۲۵۵) از منشاء قزوین، A03 (کد بانک ژن ۳۳۲۵۸ از منشاء قزوین) و A04 (کد بانک ژن ۲۳۳۳۵) از منشاء خلخال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: بذر اکسشن‌های برتر گل‌راعی حاصل از مطالعات مرحله مقدماتی، در ایستگاه تحقیقات البرز در زمستان سال ۱۴۰۰ تولید نشاء شدند، و در بهار سال ۱۴۰۱ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار در مزرعه کشت گردیدند. در سال ۱۴۰۲ در مرحله گلدهی و رسیدگی بذر، اطلاعات لازم ثبت شد. اطلاعات مورفولوژیک، عملکرد سرشاخه گلدار و عملکرد بذر در هکتار اندازه‌گیری شد. سرشاخه گیاهان در مرحله گلدهی کامل به منظور اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک برداشت شدند. اندام‌های مختلف گل، برگ، ساقه و سرشاخه گلدار گیاه به‌صورت جداگانه با استفاده از متانول ۸۰٪ (pH= ۳) تحت امواج فراصوت دستگاه اولتراسونیک در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری و میزان هایپریسین در عصاره‌ها با استفاده از آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، محتوای تام فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی (اتانول ۸۰٪) سرشاخه گلدار از اکسشن‌ها ارزیابی گردید.

نتایج: تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج نشان داد که بین اکسشن‌های مختلف گل‌راعی در کلیه صفات مورفولوژیک، وزن تک بوته، عملکرد سرشاخه گلدار، عملکرد بذر و میزان فنل، آنتوسیانین و هایپریسین در سطح احتمال ۱ درصد و در صفات محتوای فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری وجود دارد. مقایسه میانگین صفات با آزمون LSD نشان داد که اکسشن A02 از قزوین دارای بیشترین ارتفاع گیاه (۶۵/۸ سانتیمتر)، دور تاج‌پوشش (۲۲۲ سانتیمتر)، وزن تک بوته گلدار (۱۳۴/۸ گرم)، عملکرد

سرشاخه‌گلدار (۵۳۹۲ کیلوگرم در هکتار)، وزن بذر تک بوته (۱۲/۳ گرم) و عملکرد بذر (۴۹۲ کیلوگرم در هکتار) است. بیشترین فنل برابر با ۶۲۴۰/۸ میکروگرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک، در اکسشن A04 از خلخال به‌دست آمد. این در حالی است که بیشترین فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب برابر با ۸۱۰/۷ میکروگرم کوئرستین بر گرم ماده خشک، ۲/۲ میکروگرم سیانیدین بر گرم گیاه تر و ۵۸/۹ درصد در اکسشن A03 از قزوین اندازه‌گیری شد. مقایسه میانگین هایپریسین در اندام‌های مختلف چهار اکسشن نشان داد که میزان هایپریسین در گل برابر با ۳/۸۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک و بیشتر از سایر اندام‌ها بود، بعد از آن برگ (۲/۲۵ میلی‌گرم بر گرم) و بعد سرشاخه گلدار (۱/۴۹ میلی‌گرم بر گرم) حاوی هایپریسین بالاتر بودند. کمترین مقدار هایپریسین با ۰/۶۸ میلی‌گرم بر گرم در ساقه مشاهده شد. نتایج همبستگی ساده صفات نشان داد که بین عملکرد سرشاخه با وزن تک بوته و ارتفاع گیاه در سطح احتمال ۱ درصد و دور تاج‌پوشش در سطح احتمال ۵ درصد همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت. همچنین بین فعالیت آنتی‌اکسیدانت با میزان هایپریسین همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اکسشن A02 از قزوین در صفات مورفولوژیک و عملکرد سرشاخه گلدار و بذر، برتر بود. به لحاظ صفت آنتی‌اکسیدانی، اکسشن A03 از قزوین بیشترین فعالیت را نشان داد. همچنین بیشترین مقدار هایپریسین سرشاخه گلدار در اکسشن A01 از اردبیل مشاهده شد. بنابراین اکسشن A02، برای معرفی رقم برگزیده شد و بنظر می‌رسد انتخاب اکسشن‌های A01 و A02 برای تحقیقات تکمیلی به‌منظور دستیابی به رقمی با کمیت و کیفیت بالا مناسب خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: گیاه دارویی-رقم، گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.)، هایپریسین، صفات مورفوفیزیولوژیک.

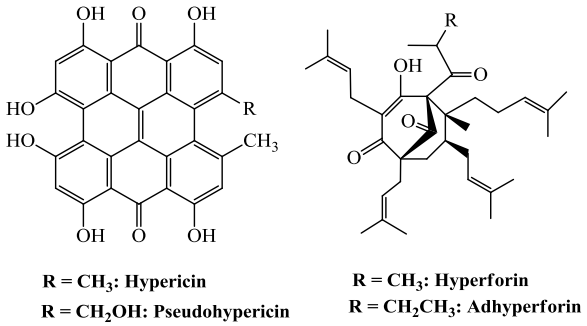
مقدمه

گیاهان جنس *Hypericum* ازجمله گیاهان دارویی مهم از خانواده Hypericaceae، محسوب می‌شوند. در حال حاضر در ایران ۱۷ گونه گیاه علفی، چندساله و درختچه‌ای از *Hypericum* وجود دارد که سه گونه آن (*H. dogonbadanicum* Assadi، *H. fursei* N. Robson و *H. asperulum* Jaub. & Spach) انحصاری ایران می‌باشند. گونه *H. perforatum* از نظر پزشکی بسیار مهم است که در فارسی به نام‌های گل‌راعی، علف چای، گل هزارچشم، گل تره، گل شهناز و هوفاریقون معروف است. گل‌راعی گیاهی علفی و چندساله، بومی اروپا و آسیا و وارد شده به آمریکا، استرالیا و آفریقا می‌باشد (Azadi, 1999). این گونه جزو ده گیاه دارویی برتر و یکی از پرفروش‌ترین گیاهان دارویی در سطح دنیا به‌شمار می‌رود که به‌طور گسترده در آمریکا و اروپا پرورش می‌یابد (Ernst, 2003).

گل‌راعی ازجمله گیاهان دارویی ارزشمند بومی ایران است که به‌دلیل داشتن طیف وسیعی از خواص بیولوژیکی مانند آنتی‌اکسیدانی (Seyrekoglu *et al*., 2022)، ضدمیکروبی (Saddiqe *et al*., 2010)، ضدویروسی (Chen *et al*., 2019)، ضدالتهابی (Crockett *et al*. 2008)، ضدسرطانی (Choudhary *et al*., 2022) ترمیم زخم و سوختگی (Suntar *et al*., 2010 ;Karagül *et al*., 2024) و درمان انواع اختلالات عصبی و افسردگی (Zirak *et al*. 2019 ;Zhao *et al*., 2023) بسیار مورد توجه است. بیشترین کاربرد گل‌راعی مربوط به خاصیت ضدافسردگی آن است که عمدتاً به وجود ترکیبات زیست‌فعال نفتودی‌آنترون‌ها (هایپریسین و سودوهایپریسین) و فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین) در گیاه نسبت داده می‌شود (شکل ۱) (Lazzara *et al*., 2015). یادآوری می‌شود که استانداردسازی گل‌راعی و داروهای تهیه شده صنعتی از این گیاه براساس دو ماده هایپریسین و هایپرفورین انجام می‌شود.

هایپریسین به عنوان یکی از مهمترین ترکیبات فعال موجود در گل‌راعی معرفی شده است (Wu *et al*., 2023). مهار آنزیم مونوآمین اکسیداز سازوکار احتمالی اثر ضدافسردگی هایپریسین است (Oliveira *et al*., 2016). علاوه‌براین، چندین فلاونوئید موجود در گل‌راعی مانند کوئرستین، لوتئولین و کامفرول، اثر ضد افسردگی از خود نشان داده‌اند (Greeson *et al*., 2001). برای مواد مؤثره

گل‌راعی، فعالیت‌های ضدقارچی و ضدمخمری نیز گزارش شده است (Sytar *et al*., 2016). همچنین در مطالعات، اثر ضدانگلی هایپریسین و هایپرفورین علیه انگل‌های عامل بیماری‌های مالاریا و لیشمانیوز تأیید شده است (Montoya *et al*., 2015).



شکل ۱- ساختار شیمیایی هایپریسین‌ها و هایپرفورین‌ها

Figure 1. Chemical structure of hypericins and hyperforins

گیاه گل‌راعی با انواع آب و هوا سازگار می‌باشد، نورپسند بوده و سایه اندک را ترجیح می‌دهد. خاک‌های ماسه‌ای یا لومی با بافت سبک تا متوسط و زهکش خوب با pH حدود ۶ تا ۷ و رطوبت کافی برای رشد و نمو این گیاه مناسب است (Briskin & Gawienowski, 2001). گل‌راعی نسبت به خاک‌های اسیدی و قلیایی تا حدودی مقاوم است. همچنین گیاهی مقاوم به یخبندان و آهک‌دوست می‌باشد و در مکان‌هایی مانند کنار جاده‌ها، علفزارها و مراتع آفتاب‌گیر رشد می‌کند ((Ebadi *et al*., 2011). بنابراین امکان کشت آن به‌جز در مناطق پرباران شمال کشور، در صورت تأمین رطوبت کافی در بیشتر مناطق کشور امکان‌پذیر است، هر چند در مناطق مختلف، کمیت و کیفیت گیاه تولیدی می‌تواند بسیار متفاوت باشد.

Lebaschi و Sharifi Ashurabadi (2002) طی دو سال نمونه‌برداری از رویشگاه‌های طبیعی گل‌راعی (*H. perforatum*) مشاهده کردند که میزان هایپریسین در سرشاخه گلدار گیاه در سال اول در رویشگاه‌های گرگان، گیلان و خلخال به‌ترتیب ۰/۲۷۳٪، ۰/۲۵۸٪ و ۰/۱۹۴٪ بود. همچنین مقدار آن در سال دوم به ترتیب ۰/۲۲۲٪، ۰/۲۲۳٪ و ۰/۲۷۸٪ به‌دست آمد. Jaimand و همکاران (2014)، ۹ گونه از جنس *Hypericum* جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی را به لحاظ میزان هایپریسین بررسی کردند. طبق گزارش این محققان، برخی از گونه‌ها فاقد هایپریسین بودند، اما در گونه *H. perforatum*، گل‌آذین حاوی ۰/۱۲۴٪، برگ ۰/۰۲۸٪ و ساقه دارای ۰/۰۰۳٪ هایپریسین بود.

در تحقیق انجام شده توسط Tawaha و همکاران (۲۰۱۰)، مقدار هایپریسین و هایپرفورین در اندام هوایی سه گونه *Hypericum* از اردن شامل *H. triquetrifolium* (به‌ترتیب ۰/۰۲٪ و ۰/۰۱۳٪)، *H. empetrifolium* (۰/۰۰۲٪ و ۰/۰۹۴٪) و *H. sinaicum* (۰/۰۱۹٪ و ۰/۰۲۷٪)، گزارش شد. مقدار هایپریسین در اندام هوایی *H. perforatum* (۰/۳-۰/۱۹٪) از آلمان (Eggelkraut-Gottanka *et al*., 2002) و در اندام‌های مختلف گونه *H. triquetrifolium* از اردن، گل (۰/۰۶۴٪)، برگ (۰/۳۶٪)، ساقه (۰/۰۰۸۵٪)، ریشه (۰/۰۰۰۳٪) و اندام هوایی (۰/۴۳٪)، تعیین گردید (Alali *et al*., 2004). همچنین، محتوای هایپریسین و سودوهایپریسین در عصاره اندام هوایی سه گونه *Hypericum* از ترکیه شامل *H. perforatum* (به‌ترتیب ۹/۵۷ و ۷/۸۲ میکروگرم/میلی‌لیتر)، *H. scabrum* (۶/۳۲ و ۷/۷۱ میکروگرم/میلی‌لیتر) و *H. origanifolium* (۰/۸۶ و ۴/۷۷ میکروگرم/میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد (Seyrekoglu *et al*., 2022).

مطالعه محققین روی جمعیت‌های مختلف گل‌محمدی نشان داد که بین جمعیت‌ها به لحاظ کمیت و کیفیت، اختلاف آماری وجود دارد، به طوری که ۳۵ ژنوتیپ توسط Yoosefi و همکاران (2021)، ۴۰ ژنوتیپ توسط Tabaei Aghdaei و همکاران (2010) و ۶ ژنوتیپ توسط Seyed Hajizadeh و همکاران (2021) بررسی و تنوع در آنها گزارش شد.

یکی از اهداف مهم به‌نژادی در گیاهان دارویی، شناسایی و گزینش ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالای گیاه و میزان مواد مؤثره بالا می‌باشد. ارقام جدید گیاهی حاصل به‌نژادی علمی و مدرن، شالوده اصلی صنعت بذر بوده و بی‌تردید مهمترین خروجی سرمایه‌گذاری در بخش کشاورزی به‌شمار می‌روند.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور مقایسه عملکرد کمی و کیفی (فاز تکمیلی و تولید بذر) چهار اکسشن برتر گل‌راعی (*Hypericum perforatum*) با کدهای A01 با کد بانک ژن ۱۰۶۰۱ از منشاء اردبیل، A02 با کد بانک ژن ۳۳۲۵۵ از منشاء قزوین، A03 با کد بانک ژن ۳۳۲۵۸ از منشاء قزوین و A04 با کد بانک ژن ۲۳۳۳۵ از منشاء خلخال که در فاز مقدماتی به‌عنوان جمعیت‌های برتر شناخته شده بودند، انجام شد. پروژه در ایستگاه تحقیقاتی البرز در سال‌های ۱۴۰۲-۱۴۰۰ اجرا شد. آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار اجرا و تجزیه‌وتحلیل گردید.

تجزیه مقدار هایپریسین به‌صورت طرح کرت‌های خرد شده (اسپلیت پلات) با عامل اصلی اکسسشن (با چهار سطح) و عامل فرعی اندام‌های مختلف گیاه در چهار سطح (گل، برگ، ساقه و سرشاخه) با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

ابعاد کرت‌ها ۱۵×۱۶ متر و فواصل کشت ۳۰×۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. خاک ایستگاه از رسوبات آبرفتی شنی رسی با عمق متوسط ۷۰ سانتی‌متر و خاک قطعه مورد کاشت، بافت لوم رسی با اسیدیته ۷/۹ و فاقد شوری، گچ و آهک بود. در ۲۰ اسفندماه سال ۱۴۰۰ اقدام به تولید نشاء از گیاهان گل‌راعی در شرایط گلخانه و در سینی کشت شد. ترکیب بستر کشت، پیت‌ماس، پرلیت و کوکوپیت به نسبت ۴: ۱: ۱ درصد بود. نشاها از ۱۹ تا ۲۳ اردیبهشت ۱۴۰۱ به مزرعه منتقل و کشت شدند. رسیدگی لازم از قبیل وجین و آبیاری (قطره‌ای) در طول دوره رشد انجام شد. در سال اول، گیاهان مرحله رشد رزت را گذراندند. در سال ۱۴۰۲ در مرحله گلدهی (۱۸ اردیبهشت) و رسیدگی بذرها (۱۵ خرداد) نسبت به ثبت اطلاعات و برداشت، اقدام گردید. با توجه به بزرگی کرت‌ها، در داخل هر کرت بزرگ، یک پلات ۴ متر مربعی با ۳ تکرار از سمت قطر پلات اولیه با فاصله ۳ متر لحاظ شد و نمونه‌برداری از بوته‌های داخل پلات‌های مذکور انجام گردید و میانگین هر ۳ پلات به‌عنوان میانگین آن کرت یا تکرار در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری صفات از هر پلات، ۶ گیاه با ۳ تکرار و در مجموع ۱۸ گیاه در هر کرت ارزیابی شد. ارتفاع گیاه و قطر تاج‌پوشش با متر اندازه‌گیری شد. وزن خشک سرشاخه گلدار و بذر تک بوته با ترازو اندازه‌گیری شد. عملکرد سرشاخه گلدار و عملکرد بذر در هکتار از روی اطلاعات تک بوته‌ها محاسبه و برآورد گردید. یادآوری می‌شود که همه وزن‌ها و عملکردهای اندام‌های مختلف برحسب وزن گیاه خشک شده در سایه، گزارش شد. از سرشاخه گلدار، صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شد. مقدار هایپریسین در اندام‌های گل، برگ، ساقه و سرشاخه گلدار به تفکیک اندازه‌گیری گردید.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای استخراج عصاره

در ابتدا نمونه‌های گیاهی گل‌راعی در سایه خشک شدند. اندام‌های برگ، ساقه، گل و سرشاخه گلدار از یکدیگر جدا و آسیاب شدند. سپس نمونه‌های گیاهی پودر شده، الک (اندازه ۵۰) گردیدند.

اندازه‌گیری فنل کل

برای سنجش میزان تام فنل و فلاونوئید و درصد آنتی‌اکسیدانی، عصاره هیدروالکلی سرشاخه گلدار گیاه مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که به ۰/۱ گرم از نمونه خشک پودر گیاه، ۱۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۸۰ درصد اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت تکان خوردن بر روی شیکر،

عصاره حاصل فیلتر شد. برای تعیین محتوای تام فنلی از روش فولین–سیوکالتو استفاده شد (Baharfar *et al*., 2015). به این صورت که ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتو ۰/۲ نرمال مخلوط شده و به‌مدت ۵ دقیقه هم‌زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد با غلظت ۷۵ گرم در لیتر به نمونه‌ها اضافه شد. پس از ۲ ساعت قرار دادن نمونه‌ها در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش در طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل بلانک اندازه‌گیری شد. با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد گالیک‌اسید در متانول (۶۰۰–۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) منحنی کالیبراسیون گالیک اسید به‌دست آمد (شکل ۲). در نهایت فنل کل برابر میکروگرم گالیک‌اسید در گرم ماده خشک گزارش شد (Singleton *et al*., 1999).

تعیین میزان فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید تام عصاره هیدروالکلی با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد (Baharfar *et al*., 2015). به‌طور خلاصه ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با یک میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۵ درصد مخلوط گردید، سپس یک میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۰/۵ مولار به مخلوط اضافه شد. حجم کل با استفاده از آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد کوئرستین در متانول (۵۰۰–۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) منحنی کالیبراسیون رسم شد (شکل ۳). محتوای فلاونوئیدی کل نمونه‌ها برابر میکروگرم کوئرستین بر گرم ماده خشک گزارش گردید.

تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل)، ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره اتانولی با یک میلی‌لیتر محلول DPPH متانولی با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید (Alahmad *et al*., 2022). برای نمونه، شاهد یک میلی‌لیتر اتانول خالص به‌جای یک میلی‌لیتر عصاره اتانولی به‌کار برده شد و برای بلانک نیز از مخلوط اتانول و متانول استفاده شد. بعد از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. اعداد بدست‌آمده با استفاده از رابطه (۱) به درصد مهار رادیکال آزاد تبدیل شد.

رابطه (۱)

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{(Ac-As)}{Ac} \times ۱۰۰$$

در این رابطه، As و Ac به ترتیب برابر با عدد جذب نمونه و کنترل می‌باشد. اعداد بدست‌آمده برابر با درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره اتانولی نمونه‌ها می‌باشد (Blois, 1985).

تعیین میزان آنتوسیانین

یک گرم از گیاه تازه را با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹ میلی‌لیتر متانول خالص و ۱ میلی‌لیتر هیدروکلریک‌اسید) ساییده و عصاره برای ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (دمای یخچال) قرار داده شد و بعد جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول $A=\varepsilon bc$ به‌دست می‌آید که در آن مقدار ε یا ضریب خاموشی برابر $۳۳۰۰ cm.mol^{-1}$، مقدار A مقدار جذب، b عرض کوت اندازه‌گیری برابر یک سانتی‌متر و c مقدار آنتوسیانین برحسب میلی‌مول بر گرم وزن تر گیاه می‌باشد (Wagner, 1979). نتیجه برابر میکروگرم سیانیدین بر گرم وزن تر گیاه تعیین شد.

مشخصات دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

از دستگاه HPLC مدل Kenover مجهز به پمپ K1000، ستون از نوع Eurospher-C18 (ابعاد ۲۵۰mm× ۴/۶ و قطر ذرات سیلیکا ۵ میکرومتر) و ردیاب ماورای بنفش از نوع K2500 استفاده گردید.

استخراج عصاره از اندام‌های گل‌راعی برای اندازه‌گیری میزان هایپریسین

مقدار ۳۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی پودر شده را توزین نموده و بعد نمونه‌ها به میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری منتقل شدند. استخراج عصاره با غوطه‌ور کردن پودر گیاه در ۱/۵ میلی‌لیتر

از مخلوط حلال متانول و آب اسیدی شده با اسیدسولفوریک (اسیدیته ۳) با نسبت ۴ به ۱ (حجمی به حجمی)، تحت امواج فراصوت دستگاه التراسونیک در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد (Tahmasebi-Boldaji *et al*., 2019). بعد از استخراج مرتبه اول، ذرات معلق گیاه از محلول عصاره با کمک سانتریفوژ با دور ۱۵۰۰۰ طی ۱۰ دقیقه جدا شده و بعد محلول عصاره به میکروتیوب ۴ میلی‌لیتری انتقال داده شد. دوباره به باقی‌مانده بافت گیاه، حلال استخراج (۱/۵ میلی‌لیتر) اضافه نموده و طبق شرایط مرحله اول عصاره‌گیری انجام شد. برای استخراج کامل عصاره، مراحل استخراج در سه مرتبه تکرار شد و عصاره به دست آمده در این مراحل با یکدیگر مخلوط شدند. در نهایت برای جداسازی ذرات باقی مانده در عصاره، محلول عصاره از فیلتر کتانی عبور داده شد. نمونه‌های عصاره حاصل در فریزر به منظور آنالیز نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان هایپریسین در عصاره گل‌راعی

به منظور اندازه‌گیری میزان هایپریسین در عصاره گل‌راعی، ترکیب استاندارد هایپریسین (خریداری شده از شرکت Roth آلمان) در غلظت‌های ۲۰۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در متانول تهیه شد. محلول‌های استاندارد به دستگاه HPLC تزریق و منحنی کالیبراسیون ترسیم شد (شکل ۴). شویش ستون به‌صورت ایزوکراتیک با فاز متحرک شامل مخلوط حلال متانول، اتیل‌استات و بافر فسفات (pH = ۲/۱) به نسبت ۱۲:۱۹:۶۹ حجمی/حجمی/حجمی انجام شد. سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. خوانش در طول موج ۵۹۰ نانومتر انجام شد (Tawaha *et al*., 2010).

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و عملکرد گیاه (جدول ۱) بیانگر این است که بین اکسشن‌های مختلف گل‌راعی در کلیه صفات مورفولوژیک، وزن تک بوته و عملکرد سرشاخه گلدار و بذر در سطح ۱ درصد اختلاف آماری وجود دارد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و عملکرد چهار اکسشن گل‌راعی

Table 1. ANOVA for morphological traits and yield of four *Hypericum perforatum* accessions

S.O.V.	d.f.	Plant height	Canopy diameter	Shoot weight (per plant)	Flowering shoot yield	Seed weight (per plant)	Seed yield
Replication	4	12.26^{ns}	324.3^{ns}	342.16^{**}	547470^{**}	3.26^{ns}	5230^{ns}
Accession	3	775.78^{**}	6285^{**}	3646^{**}	5833600^{**}	139.45^{**}	223118^{**}
Experimental error	12	58.34	292.1	37.13	59416.7	6.85	10972
C.V. (%)	--	15.47	9.48	5.95	5.96	29.09	29.07

^{ns} and **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively.

صفات فیزیولوژیک شامل محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و درصد آنتی‌اکسیدانت در عصاره اتانولی ۸۰٪ سرشاخه گلدار جمعیت‌های گل‌راعی، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. محتوای تام فنل برابر با میکروگرم گالیک‌اسید در گرم ماده خشک و فلاونوئید برحسب میکروگرم کوئرستین در گرم ماده خشک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز برابر با درصد مهار رادیکال آزاد DPPH تعیین شدند. نمودار کالیبراسیون گالیک‌اسید و کوئرستین برای اندازه‌گیری محتوای تام فنل و فلاونوئید در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده می‌شوند. برای اندازه‌گیری غلظت هایپریسین در اندام‌های گل‌راعی، بعد از تزریق غلظت‌های مختلف استاندارد هایپریسین به دستگاه HPLC، منحنی کالیبراسیون (شکل ۴) رسم و با استفاده از رابطه خط رگرسیون بدست آمده، غلظت هایپریسین در عصاره گیاهی محاسبه می‌شود و بعد برابر آن در ماده خشک گیاه تعیین می‌گردد. کروماتوگرام HPLC مربوط به عصاره اندام‌های مختلف گل‌راعی A01 در شکل ۵ نشان داده شد.

در این کروماتوگرام‌ها، پیک ظاهر شده در حدود دقیقه ۹ مربوط به ترکیب هایپریسین می‌باشد که با کروماتوگرام استاندارد هایپریسین مطابقت دارد.

براساس نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک (جدول ۲)، بین اکسشن‌های مختلف گل‌راعی در صفات فنل و آنتوسیانین در سطح ۱ درصد و در محتوای فلاونوئید و آنتی‌اکسیدانت در سطح ۵ درصد، اختلاف آماری مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس هایپریسین در اندام‌های مختلف گیاه (جدول ۳) نشان داد که بین اکسشن‌ها، بین اندام‌ها و اثر متقابل آنها اختلاف آماری در سطح ۱ درصد وجود داشت.

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و عملکرد چهار اکسشن گل‌راعی نشان داد که اکسشن A02 از قزوین دارای بیشترین ارتفاع گیاه (۶۵/۸ سانتیمتر)، دور تاج‌پوشش (۲۲۲ سانتیمتر)، وزن تک بوته گلدار (۱۳۴/۸ گرم)، عملکرد سرشاخه گلدار (۵۳۹۲ کیلوگرم در هکتار)، وزن بذر تک بوته (۱۲/۳ گرم) و عملکرد بذر (۴۹۲ کیلوگرم در هکتار) بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک چهار اکسشن گل‌راعی

Table 2. ANOVA for physiological traits of four *Hypericum perforatum* accessions

S.O.V.	d.f.	Phenols content	Flavonoids content	Anthocyanins content	Antioxidant activity
Replication	4	1017^{*}	8.988^{ns}	0.1^{*}	3.97^{ns}
Accession	3	2442^{**}	196.85^{*}	0.47^{**}	34.82^{*}
Experimental error	12	278	36.73	0.02	9.73
C.V. (%)	--	4.8	8.38	9.17	5.64

^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳- تجزیه واریانس محتوای هایپریسین در اندام‌های مختلف چهار اکسشن گل‌راعی

Table 3. ANOVA for hypericin content in different organs of four *Hypericum perforatum* accessions

S.O.V.	d.f.	Hypericin content
Repliaction	2	0.71^{*}
Accession (A)	3	21.47^{**}
Error a	6	0.12
Organ (O)	3	21.78^{**}
A*O	9	6.46^{**}
Experimental error	24	0.18
C.V. (%)	--	20.67

^{ns} and **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و عملکرد چهار اکسشن گل‌راعی

Table 4. Mean comparison for morphological traits and yield of four *Hypericum perforatum* accessions

Accession	Plant height (cm)	Canopy diameter (cm)	Flowering shoot weight ($g.plant^{-1}$)	Flowering shoot yield ($kg.ha^{-1}$)	Seed weight ($g.plant^{-1}$)	Seed yield ($kg.ha^{-1}$)
A01 (Ardabil-10601)	40.2^{c}	146.0^{c}	83.6^{c}	3344^{c}	1.16^{b}	46.4^{b}
A02 (Qazvin-33258)	65.8^{a}	222^{a}	134.8^{a}	5392^{a}	12.3^{a}	492^{a}
A03 (Qazvin-33255)	52.2^{b}	156^{c}	114.2^{b}	4568^{b}	11.98^{a}	479^{a}
A04 (Khalkhal-23335)	39.3^{c}	196.6^{b}	77^{c}	3080^{c}	10.56^{a}	422^{a}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

نتایج مقایسه میانگین مقادیر صفات فیزیولوژیک جمعیت‌های گل‌راعی (جدول ۵) نشان داد که بیشترین فنل برابر با ۶۲۴۰/۸ میکروگرم گالیک‌اسید بر گرم ماده خشک در اکسشن A04 از خلخال به‌دست آمد. این در حالی است که بیشترین فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب برابر با ۸۱۰/۷ میکروگرم کوئرستین بر گرم ماده خشک و ۲/۲ میکروگرم بر گرم گیاه تر و ۵۸/۹ درصد در اکسشن A03 از قزوین اندازه‌گیری شد.

مقایسه میانگین مقدار هایپریسین در کل اندام‌های چهار اکسشن گل‌راعی (جدول ۶) نشان داد که اکسشن A01 از اردبیل با ۳/۹۴ میلی‌گرم بر گرم، در رتبه اول قرار داشت و اکسشن A02 از قزوین با ۲/۱ میلی‌گرم بر گرم در رتبه دوم بود.

مقایسه میانگین هایپریسین در اندام‌های مختلف جمعیت‌های گل‌راعی (جدول ۷) نشان داد که میزان هایپریسین در گل با ۳/۸۴ میلی‌گرم بر گرم، بیشتر از سایر اندام‌ها بود، بعد از آن برگ (۲/۲۵ میلی‌گرم بر گرم) و بعد سرشاخه گلدار (۱/۴۹ میلی‌گرم بر گرم) حاوی هایپریسین بالا بودند. کمترین مقدار هایپریسین (۰/۶۸ میلی‌گرم بر گرم) در ساقه مشاهده شد.

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک چهار اکسشن گل‌راعی

Table 5. Mean comparison for physiological traits of four *Hypericum perforatum* accessions

Accession	Phenols content (µg GAE.g^{-1} dry matter)	Flavonoids content (µg QE.g^{-1} dry matter)	Anthocyanins content (µg.g^{-1} fresh matter)	Antioxidant activity (%)
A01 (Ardabil-10601)	5730.0^{c}	680.8^{b}	1.52^{b}	52.7^{b}
A02 (Qazvin-33258)	5992.4^{b}	674.8^{b}	1.7^{b}	55.0^{ab}
A03 (Qazvin-33255)	6134.0^{ab}	810.7^{a}	2.2^{a}	58.9^{a}
A04 (Khalkhal-23335)	6240.8^{a}	723.3^{b}	1.6^{b}	54.3^{b}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۶- مقایسه میانگین محتوای هایپریسین چهار اکسشن گل‌راعی

Table 6. Mean comparison for hypericin content of four *Hypericum perforatum* accessions

Accession	Hypericin (mg.g^{-1} dry matter)
A01 (Ardabil-10601)	3.94^{a}
A02 (Qazvin-33258)	2.10^{b}
A03 (Qazvin-33255)	1.21^{c}
A04 (Khalkhal-23335)	1.01^{c}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۷- مقایسه میانگین محتوای هایپریسین در اندام‌های مختلف چهار اکسشن گل‌راعی

Table 7. Mean comparison for hypericin content in different organs of four *Hypericum perforatum* accessions

Organ	Hypericin content (mg.g^{-1} dry matter)
Flower	3.84^{a}
Leaf	2.25^{b}
Stem	0.68^{d}
Flowering shoot	1.49^{c}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

مقایسه میانگین اثر متقابل اکسشن * اندام‌های مختلف گل‌راعی بر میزان هایپریسین (جدول ۸) نشان داد که بیشترین تجمع هایپریسین در اندام گل چهار اکسشن A01، A02، A03 و A04 به ترتیب ۸/۹۴، ۲/۸۶، ۲/۰۲ و ۱/۵۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک بود. همچنین در همه جمعیت‌های گل‌راعی میزان تجمع هایپریسین در برگ‌ها بیشتر از سرشاخه‌گلدار بود.

نتایج همبستگی ساده صفات مورفوفیزیولوژیک چهار اکسشن گل راعی (جدول ۹) نشان داد که بین عملکرد سرشاخه با وزن تک بوته، ارتفاع گیاه و دور کانوپی همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت. همچنین عملکرد بذر نیز با صفات یادشده همبستگی مثبت معنی‌دار نشان داد. رابطه مثبت بین میزان تجمع فنل با محتوای آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. هایپریسین با ارتفاع گیاه، عملکرد سرشاخه و بذر، همچنین با سایر صفات فیزیولوژیک به‌جز فنل، همبستگی مثبت معنی‌دار نشان داد.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرمتقابل اکسشن×اندام‌های مختلف گل‌راعی بر محتوای هایپریسین

Table 8. Mean comparison of accession × organ interaction for hypericin content in *Hypericum perforatum*

Accession	Organ	Hypericin content (mg.g^{-1} dry matter)
A01(Ardabil-10601)	Flower	8.94^{a}
A01(Ardabil-10601)	Leaf	3.04^{b}
A01(Ardabil-10601)	Stem	1.02d^{e}
A01(Ardabil-10601)	Flowering shoot	2.76^{b}
A02(Qazvin-33258)	Flower	2.86^{b}
A02(Qazvin-33258)	Leaf	2.83^{b}
A02(Qazvin-33258)	Stem	0.86d^{e}
A02(Qazvin-33258)	Flowering shoot	1.85^{c}
A03(Qazvin-33255)	Flower	2.02^{c}
A03(Qazvin-33255)	Leaf	1.62^{cd}
A03(Qazvin-33255)	Stem	0.54^{e}
A03(Qazvin-33255)	Flowering shoot	0.67^{e}
A04(Khalkhal-23335)	Flower	1.58^{cd}
A04(Khalkhal-23335)	Leaf	1.48^{cd}
A04(Khalkhal-23335)	Stem	0.29^{e}
A04(Khalkhal-23335)	Flowering shoot	0.68^{e}

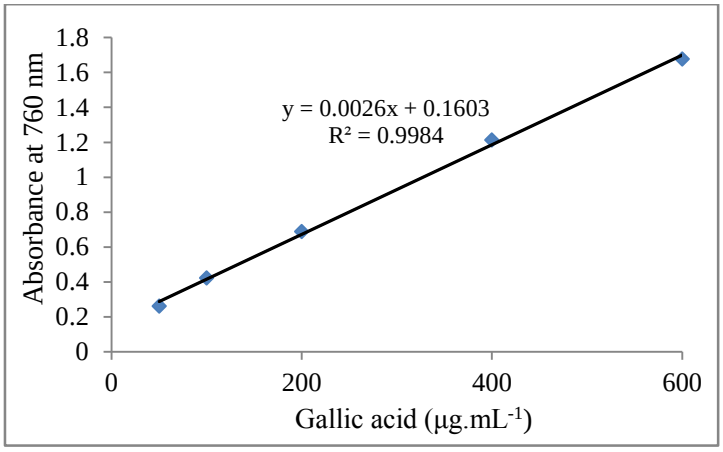
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۹- همبستگی پیرسون صفات مورفوفیزیولوژیک چهار اکسشن گل‌راعی

Table 9- Pearson's correlation coefficients among morpho-physiological traits of four *Hypericum perforatum* accessions

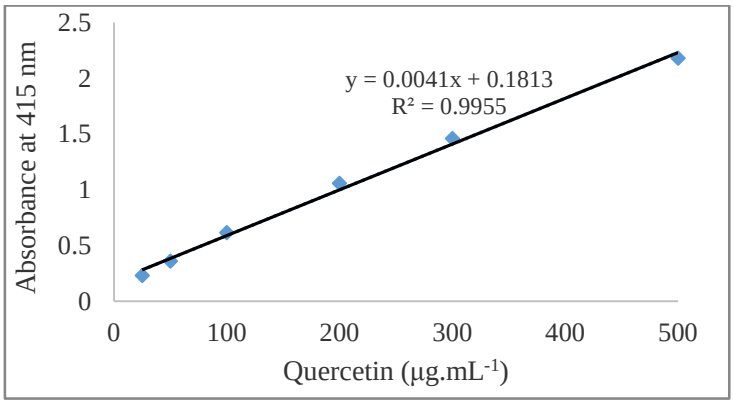
	Plant height	Canopy diameter	Shoot weight	Shoot yield	Seed weight	Seed yield	Phenols content	Flavonoids content	Anthocyanins content	Antioxidant activity	Hypericin content
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
Y1	1										
Y2	0.56**	1									
Y3	0.8**	0.38*	1								
Y4	0.8**	0.38*	1**	1							
Y5	0.38*	0.51*	0.53*	0.53*	1						
Y6	0.38*	0.51*	0.53*	0.53*	1**	1					
Y7	0.007^{ns}	0.31^{ns}	0.08^{ns}	0.08^{ns}	0.48*	0.48*	1				
Y8	-0.1^{ns}	-0.28^{ns}	0.07^{ns}	0.07^{ns}	0.21^{ns}	0.21^{ns}	0.62**	1			
Y9	0.24^{ns}	-0.07^{ns}	0.44*	0.44*	0.48*	0.48*	0.46*	0.66**	1		
Y10	0.12^{ns}	-0.08^{ns}	0.35^{ns}	0.35^{ns}	0.53*	0.53*	0.15^{ns}	0.34^{ns}	0.62**	1	
Y11	0.55*	-0.07^{ns}	0.66**	0.66**	0.46*	0.46*	0.10^{ns}	0.47*	0.71**	0.58**	1

^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.



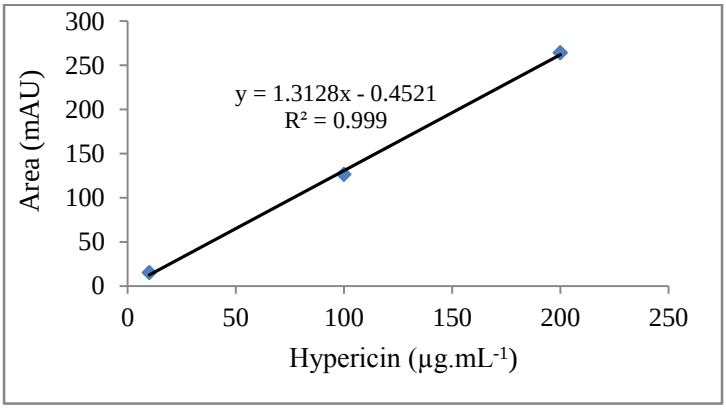
شکل ۲- منحنی کالیبراسیون ترکیب استاندارد اسیدگالیک برای اندازه‌گیری مقدار فنل تام

Figure 2. Calibration curve of gallic acid standard for determination of total phenols content



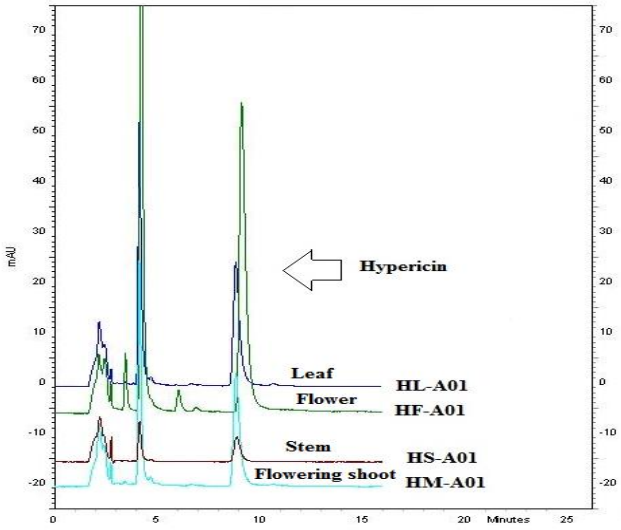
شکل ۳- منحنی کالیبراسیون ترکیب استاندارد کوئرستین برای اندازه‌گیری فلاونوئید تام

Figure 3. Calibration curve of quercetin standard for determination of total flavonoids content



شکل ۴- منحنی کالیبراسیون ترکیب استاندارد هایپریسین

Figure 4. Calibration curve of hypericin standard



شکل ۵- کروماتوگرام‌های HPLC عصاره اندام‌های مختلف گل‌راعی (جمعیت A01)

Figure 5. HPLC chromatograms of extracts from different organs of *Hypericum perforatum* (acc.A01)

بحث

با توجه به توسعه کاربرد گیاهان دارویی در صنایع دارویی و آرایشی و بهداشتی، تحقیقات همه جانبه روی این گیاهان را ضروری کرده است (Tavakoli, 2013). بنا به ارزش و جایگاه *H. perforatum* که جزو پرفروش‌ترین گیاهان دارویی در سطح دنیا گزارش شده است (Ernst, 2003) و در ایران نیز داروها و فراورده‌های دارویی متعددی از این گونه در بازار موجود می‌باشد (Mir *et al*., 2019; Nobakht *et al*., 2022)، تحقیقات مبنی بر انتخاب اکسشن‌های برتر از لحاظ کمی و کیفی و معرفی ارقام مناسب این گیاه از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. همچنین هدف اصلی کشت گیاهان دارویی، به‌کارگیری متابولیت‌های ثانویه آنهاست، در نتیجه هرچقدر بتوان این مواد مؤثره را افزایش داد، تولید مقرون‌به‌صرفه‌تر خواهد بود (Sayyadi *et al*., 2014).

وجود اختلاف معنی‌دار در صفات مختلف بین اکسشن‌های گل‌راعی (جدول ۱) نشان‌دهنده اهمیت این موضوع بوده و مشاهده اختلاف معنی‌دار بیش از ۱ تن در هکتار در عملکرد سرشاخه گلدار بین اکسشن‌ها (جدول ۴) بیانگر اهمیت انتخاب اکسشن مناسب برای تولید اقتصادی می‌باشد. وجود اختلاف معنی‌دار بیش از ۲۰ سانتیمتر در صفات ارتفاع گیاه و قطر تاج‌پوشش، بیانگر اهمیت اکسشن مناسب برای بکارگیری مکانیزاسیون در مراحل داشت و برداشت و استفاده تیمارهای زراعی پایه مانند تراکم و به‌زراعی می‌باشد. همچنین نتایج بدست آمده به لحاظ تنوع بین اکسشن‌ها با نتایج تحقیقات Yoosefi و همکاران (۲۰۲۱)، Tabaei Aghdaei و همکاران (۲۰۱۰) و Seyed Hajizadeh و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت نشان داد.

مقایسه میانگین میزان صفات فیزیولوژیک و هایپریسین در سرشاخه گلدار جمعیت‌های گل‌راعی (جدول ۵ و ۶) نشان داد که امکان استفاده از هر اکسشن با هدف خاص میسر می‌باشد و همه صفات برتر در یک اکسشن بروز نکرده است. به‌طوری‌که بیشترین محتوای فنل در اکسشن A04 از خلخال به‌دست آمد، بیشترین میزان فلاونوئید و آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اکسشن A03 از قزوین اندازه‌گیری شد و بیشترین مقدار هایپریسین سرشاخه گلدار در اکسشن A01 از اردبیل مشاهده شد. با توجه به این نتایج، در انتخاب جمعیت‌های برتر، ۴ صفت اصلی یعنی عملکرد اندام مورد نظر، درصد ماده مؤثره، عملکرد ماده مؤثره و درصد ترکیب یا ترکیب‌های شاخص بیشتر از بقیه صفات اهمیت دارند. بنابراین با لحاظ کردن موارد ذکرشده، اکسشن A02 از قزوین مناسب‌ترین اکسشن به لحاظ کمیت و کیفیت برای تولید

می‌باشد. در صورتی که هدف تولید گیاهان با کیفیت خیلی بالا مد نظر بوده و کمیت در اهداف تولیدی، جایگاه کم اهمیتی داشته باشد، می‌توان اکسشن A01 از اردبیل را پیشنهاد کرد.

بررسی مقدار هایپریسین در اندام‌های مختلف چهار اکسشن گل‌راعی (جدول ۷) نشان داد که میزان هایپریسین در گل‌آذین، بیشتر از سایر اندام‌ها بود، بنابراین پرگل بودن اکسشن و تولید ساقه‌های فرعی بیشتر و گل‌آذین بزرگتر می‌تواند از صفات شاخص در انتخاب اکسشن‌های برتر برای کارهای اصلاحی محسوب شود. با توجه به نتایج این تحقیق، مقدار هایپریسین اندازه‌گیری شده در سرشاخه گلدار دو اکسشن A01 و A02، به‌ترتیب برابر با ۰/۲۸٪ و ۰/۱۹٪ با نتایج تحقیقات پیشین (Lebaschi & Sharifi Ashurabadi, 2002 ؛Eggelkraut-Gottanka *et al.*, 2002) مطابقت داشت.

نتایج همبستگی ساده صفات (جدول ۹) نشان داد که بین عملکرد سرشاخه با وزن تک بوته، ارتفاع گیاه و دور تاج‌پوشش همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت. با توجه به اینکه صفات مورفولوژیک از اجزای عملکرد هستند، بنابراین در انتخاب جمعیت‌های برتر اهمیت ویژه‌ای دارند. رابطه مثبت بین میزان تجمع فنل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که تولید این ترکیبات به عوامل اقلیمی و زراعی خاصی وابسته هستند و وجود رابطه مثبت بین فعالیت آنتی‌اکسیدانت با هایپریسین نشان می‌دهد که عوامل محیطی نقش بسزایی در تولید این ماده مؤثره دارند. در واقع هر گونه عوامل اثرگذار بر محتوای فنل و یا هایپریسین، بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز با روند مشابه مؤثر است. علاوه بر این، رابطه مثبت بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با محتوای فنل و هایپریسین نشان می‌دهد که ترکیبات فنولی و هایپریسین از مواد فعال آنتی‌اکسیدان به‌شمار می‌روند (Cirak *et al.*, 2016; Seyrekoglu *et al.*, 2022).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور خلاصه بین جمعیت‌های مختلف در صفات مورفولوژیک، عملکرد سرشاخه گلدار، درصد هایپریسین و صفات فیزیولوژیک، اختلاف آماری وجود داشت. اکسشن A02 با منشاء قزوین به لحاظ صفات مورفولوژیک و عملکرد سرشاخه گلدار بالا و قرار گرفتن در مرتبه دوم از نظر درصد هایپریسین به عنوان اکسشن منتخب محسوب شد. اکسشن A01 از اردبیل به لحاظ کیفیت مواد مؤثره اکسشن برتر شناخته شد و میزان هایپریسین در گل‌آذین بیشتر از سایر اندام‌ها تعیین گردید.

References

- Alali, F., Tawaha, K. and Al-Eleimat, T., 2004. Determination of hypericin content in *Hypericum triquetrifolium* Turra (Hypericaceae) growing wild in Jordan. Natural Product Research, 18: 147-151. https://doi.org/10.1080/14786410310001608046
- Alahmad, A., Alghoraibi, I., Zein, R., Kraft, S., Dräger, G., Walter, J.G. and Scheper, T., 2022. Identification of major constituents of *Hypericum perforatum* L. extracts in Syria by development of a rapid, simple, and reproducible HPLC-ESI-Q-TOF MS analysis and their antioxidant activities. ACS Omega, 7: 13475-13493. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06335
- Azadi, R., 1999. Flora of Iran. Guttiferae, Research institute of forests and rangelands press, 62p. https://www.gisoom.com/book/1289507/
- Baharfar, R., Azimi, R. and Mohseni, M., 2015. Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-polyphenol- and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* Boiss & Hohen aerial parts. Journal of Food Science and Technology, 52(10): 6777-6783. https://doi.org/10.1007/s13197-015-1752-0
- Blois, M.S., 1985. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181: 1199-1200. https://doi.org/10.1038/1811199a0
- Briskin, D.P. and Gawienowski, M.C., 2001. Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum*. Plant Physiology and Biochemistry, 39: 1075-1081. https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01326-2
- Chen, H., Muhammad, I., Zhang, Y., Ren, Y., Zhang, R., Huang, X., Diao, L., Liu, H., Li, X., Sun, X., Abbas, G. and Li, G., 2019. Antiviral activity against infectious bronchitis virus and bioactive components of *Hypericum perforatum* L. Frontiers in Pharmacology, 10(1272): 1-22. https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01272
- Choudhary, N., Collignon, T.E., Tewari, D. and Bishayee, A., 2022. Hypericin and its anticancer effects: From mechanism of action to potential therapeutic application. Phytomedicine, 105: 154356. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154356

- Cirak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Yayla, F., Seyis, F. and Camas, N., 2016. Secondary metabolites of *Hypericum* species from the Drosanthe and Olympia sections. South African Journal of Botany, 104: 82-90. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.022
- Crockett, S.L., Wenzig, E.M., Kunert, O. and Bauer, R., 2008. Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. Phytochemistry Letters, 1(1): 37-43. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2007.12.003
- Ebadi, A., Morshedloo, M.R., Fatahi Moghaddam, M.R. and Yazdani, D., 2011. Evaluation of some population of *Hypericum perforatum* L. using agro-morphological traits and most components of essential oil. Plant Production Technology, 3(1): 1-14. https://ppt.basu.ac.ir/article_243_en.html
- Eggelkraut-Gottanka, S.V., Abu-Abed, S., Muller, W. and Schmidt, P., 2002. Quantitative analysis of the active components and the by-products of eight dry extracts of *Hypericum perforatum* L. (St John's wort). Phytochemical Analysis, 13: 170-176. https://doi.org/10.1002/pca.638
- Ernst, E., 2003. *Hypericum*; The Genus *Hypericum*. Taylor & Francis, Inc., London. https://doi.org/10.1201/9780367800963
- Jaimand, K., Rezaee, M.B., Behrad, Z., Mirza, M., Mozaffarian, V., Azady, R., Naderi, M., Golipur, M., Bahmanzadegan, A., Meshkizadeh, S. and Karimi, Sh., 2014. Determination of hypericine content in nine species of *Hypericum*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 30(1): 10-18. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2014.5261
- Karagül, S., Ozel, D., Ozturk, I. and Yurt, F., 2024. An in vitro evaluation of *Hypericum perforatum* loaded-chitosan nanoparticle/agarose film as a wound dressing. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 98: 105873. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105873
- Lazzara, S., Carrubba, A. and Napoli, E., 2015. *Hypericum* spp.: A resource from wild mediterranean flora for the treatment of mild depression: 337-354. In: Gupta, V.K., (Ed.). Bioactive Phytochemicals: Perspectives for Modern Medicine. Daya Publishing House, New Delhi, 435p. https://hdl.handle.net/10447/181068
- Lebaschi, M.H. and Sharifi, E., 2002. Fluctuation of hypericin in natural habitates of *Hypericum perforatum*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 11(1): 87-101. https://ijmapr.areeo.ac.ir/article_118365.html?lang=en
- Mir, M.Y., Hamid, S., Kamili, A.N. and Hassan, Q.P., 2019. Sneak peek of *Hypericum perforatum* L.: Phytochemistry, phytochemical efficacy and biotechnological interventions. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 28: 357-373. https://doi.org/10.1007/s13562-019-00490-7
- Montoya, A., Daza, A., Munoz, D., Rios, K., Taylor, V., Cedeno D., Velez, I.D., Echeverri, F. and Robledo, S.M. 2015. Development of a novel formulation with hypericin to treat cutaneous leishmaniasis based on photodynamic therapy in vitro and in vivo studies. Antimicrob Agents Chemother, 59(9): 5804-5813. https://doi.org/10.1128/AAC.00545-15
- Nobakht, S.Z., Akaberi, M., Mohammadpour, A.H., Tafazoli Moghadam, A. and Emami, S.A., 2022. *Hypericum perforatum*: Traditional uses, clinical trials, and drug interactions. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 26(9): 1045-1058. https://doi.org/10.22038/IJBMS.2022.65112.14338
- Oliveira, A.I., Pinho, C., Sarmento, B. and Dias, A.C., 2016. Neuroprotective activity of *Hypericum perforatum* and its major components. Frontiers in Plant Science, 7:(1004): 1-16. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01004
- Greeson, J.M., Sanford, B. and Monti, D.A., 2001. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. Psychopharmacology, 153: 402-414. https://doi.org/10.1007/s002130000625
- Saddiqe, Z., Naeem, I. and Maimoona, A., 2010. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. Journal of Ethnopharmacology, 131(3): 511-521. https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.034
- Sayyadi, A., Ahmadi, J., Asghari, B. and Hosseini, SM., 2014. Effect of drought stress and salinity on phenolic ompounds of *Thymus vulgaris* L. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 2(4): 50-61. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055
- Seyed Hajizadeh, H., Ebadi, B., Morshedloo, M.R. and Abdi Ghazijahani, A., 2021. Morphological and phytochemical diversity among some Iranian *Rosa damascena* Mill. Landraces. Journal of Ornamental Plants, 11(4): 243-255. https://sanad.iau.ir/fa/Article/1033142?FullText=FullText
- Seyrekoglu, F., Temiz, H., Eser, F. and Yildirim, C., 2022. Comparison of the antioxidant activities and major constituents of three *Hypericum* species (*H. perforatum*, *H. scabrum* and *H. origanifolium*) from Turkey. South African Journal of Botany, 146: 723-727. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.12.012
- Singleton, V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology,

299: 152-178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Suntar, I.P., Akkol, E.K., Yılmazer, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M. and Yesilad, E., 2010. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. Journal of Ethnopharmacology, 127(2): 468-477. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.10.011
- Sytar, O., Svediene, J., Loziene, K., Paskevicius, A., Kosyan, A. and Taran, N., 2016. Antifungal properties of hypericin, hypericin tetrasulphonic acid and fagopyrin on pathogenic fungi and spoilage yeasts. Pharmaceutical Biology, 54(12): 3121-3125. https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1211716
- Tabaei Aghdaei, S.R., Golab Ghadaksaz, R. and Jafari, A.A., 2010. Correlation between flower yield and different characters in *Rosa damascena* Mill. Iranian Journal of Horticultural Science and Tchnology, 11(1): 61-70. https://www.sid.ir/paper/80936/en
- Tahmasebi-Boldaji, R., Hatamipour, M.-S., Khanahmadi, M., Sadeh, P. and Najafipour, I., 2019. Ultrasound-assisted packed-bed extraction of hypericin from *Hypericum perforatum* L. and optimization by response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry, 57: 89-97. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.018
- Tavakoli, A., 2013. Medicinal Plants. Nazari press, 272p. https://www.gisoom.com/book/1983202/
- Tawaha, K., Gharaibeh, M., El-Elimat, T. and Alali, F.Q., 2010. Determination of hypericin and hyperforin content in selected Jordanian *Hypericum* species. Industrial Crops and Products, 32: 241-245. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.04.017
- Wagner, G.J., 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology, 64(1): 88-93. https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88
- Wu, J.-J., Zhang, J., Xia, C.-Y., Ding, K., Li, X.-X., Pan, X.-G., Xu, J.-K., He, J. and Zhang, W.-K., 2023. Hypericin: A natural anthraquinone as promising therapeutic agent. Phytomedicine, 111: 154654. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154654
- Yoosefi, B., Tabaie-Aghdaie, S.R. and Amiri, A., 2021. Study on yield and flower yield components, essential oil percentage, and some morphological and phenological traits in 48 different accessions of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) in Kermanshah Province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(4): 612-627. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.353968.2964
- Zirak, N., Shafiee, M., Soltani, G., Mirzaei, M. and Sahebkar, A., 2019. *Hypericum perforatum* in the treatment of psychiatric and neurodegenerative disorders: Current evidence and potential mechanisms of action. Journal of Cellular Physiology, 234(6): 8496-8508. https://doi.org/10.1002/jcp.27781
- Zhao, X., Zhang, H., Wu, Y. and Yu, C., 2023. The efficacy and safety of St. John's wort extract in depression therapy compared to SSRIs in adults: A meta-analysis of randomized clinical trials. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 32(2): 151-161. https://doi.org/ 10.17219/acem/152942