



فصلنامه

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی

سال یازدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۲

فهرست مقالات

- بررسی فیتوشیمیایی، ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس دو گونه از گیاه دارویی (*Thymus* و *Thymus daenensis*)
(fedschenkoi) در غرب ایران
حسن موموند، پریسا خانی‌زاده، حمید حسینیان خوشرو ۲
- بررسی تنوع فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Perilla frutescens L. var. crispa* در مناطق مختلف کشت
نجمه عباسی، محمدحسین میرجلیلی، راهله ابراهیمی، حسنعلی نقدی‌بادی، امیر صحرارو ۱۸
- بررسی اثر تغذیه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی *Satureja khuzestanica Jamzad.* در شرایط اکولوژیک خرم‌آباد
شهلا احمدی، فاطمه سفیدکن، بهلول عباس‌زاده، مهناز فرهادی ۳۷
- مقایسه ترکیبات فرار جمعیت‌هایی از گیاه دارویی *Eryngium noeanum Boiss.* و *Eryngium iranicum Mozaff.* در ایران
عبدالباسط محمودی، محمدتقی عبادی، مهدی عیاری ۵۰
- بررسی فیتوشیمیایی، ضد میکروبی، ضدسرطانی و ضدآلزایمری عصاره هیدروالکلی برگ گیاه دارویی *Eucalyptus globulus L.*
در شرایط آزمایشگاهی
مرتضی کریم‌پور، امیر آراسته ۶۶
- بررسی پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه دارویی *Cymbopogon citratus (DC.) Stapf* به کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی تحت
تنش شوری در اقلیم‌های فارس و تهران
مصطفی صالحی، فاطمه نخعی، سیدغلامرضا موسوی، رضا برادران ۸۰
- نگاهی به تاریخچه و فیلوژنی گونه گل محمدی (*Rosa × damascena*)
مهرنوش پناهی ۱۰۱
- بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی
Rosa damascena Mill.
زهره الهوردی مارکده، مهرباد یادگاری، محمد مقدم ۱۱۰

فهرست مقالات

- بررسی فیتوشیمیایی، ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس دو گونه از گیاه دارویی (*Thymus* و *Thymus daenensis*) *fedtschenkoi* در غرب ایران
حسن مومیوند، پریسا خانی‌زاده، حمید حسینیان خوشرو..... ۲
- بررسی تنوع فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Perilla frutescens* L. var. *crispa* در مناطق مختلف کشت
نجمه عباسی، محمدحسین میرجلیلی، راهله ابراهیمی، حسنعلی نقدی‌بادی، امیر صحرارو..... ۱۸
- بررسی اثر تغذیه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی *Satureja khuzestanica* Jamzad. در شرایط اکولوژیک خرم‌آباد
شهلا احمدی، فاطمه سفیدکن، بهلول عباس‌زاده، مهناز فرهادی..... ۳۷
- مقایسه ترکیبات فرار جمعیت‌هایی از گیاه دارویی *Eryngium noeanum* Boiss. و *Eryngium iranicum* Mozaff. در ایران
عبدالباسط محمودی، محمدتقی عبادی، مهدی عیاری..... ۵۰
- بررسی فیتوشیمیایی، ضد میکروبی، ضدسرطانی و ضدآلزایمری عصاره هیدروالکلی برگ گیاه دارویی *Eucalyptus globulus* L.
در شرایط آزمایشگاهی
مرتضی کریم‌پور، امیر آراسته..... ۶۶
- بررسی پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه دارویی *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf به کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی تحت
تنش شوری در اقلیم‌های فارس و تهران
مصطفی صالحی، فاطمه نخعی، سیدغلامرضا موسوی، رضا برادران..... ۸۰
- نگاهی به تاریخچه و فیلوژنی گونه گل محمدی (*Rosa × damascena*)
مهرنوش پناهی..... ۱۰۱
- بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی
Rosa damascena Mill.
زهرا الهوردی مارکده، مهرباب یادگاری، محمد مقدم..... ۱۱۰



Evaluation of phytochemical, antibacterial, and antifungal properties of *Thymus daenensis* and *Thymus fedtschenkoi* from west of Iran

Hasan Mumivand^{1*} , Parisa Khanizadeh¹, Hamid Hassaneian Khoshro²

¹ Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran,
Email: mumivand.h@lu.ac.ir

² Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran

Article type:

Research article

Abstract

In this study, the essential oils of *Thymus daenensis* and *Thymus fedtschenkoi* were investigated in terms of phytochemical, antibacterial, and antifungal properties. After identifying the essential compounds of these two species of thyme, their antimicrobial properties against Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecium*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*), and fungus (*Candida albicans*) were investigated. For this purpose, the flowering branches of *T. daenensis* and *T. fedtschenkoi* were collected at full flowering stage from west of Iran (Arak and Hamedan, respectively) in June. Then, the constituents of the essential oils were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). To determine the sensitivity of microbial agents to the essential oil of these plants, disk diffusion and microdilution methods were used. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the essential oils of both plants were determined against bacteria and fungi. Based on the results, the essential oil content of *T. daenensis* (3.4%) was more than that of *T. fedtschenkoi* (2.9%). The main compositions of the essential oils of *T. fedtschenkoi* and *T. daenensis* were linalool (83.1%) and thymol (73.9%), respectively. The essential oils of both species had significant antibacterial and antifungal effects albeit with different levels. In general, the antibacterial activity of *T. fedtschenkoi* essential oil was higher than that of *T. daenensis*, especially in the case of gram-positive bacteria. On the other hand, the antibacterial activity of *T. daenensis* essential oil against *E. coli* (gram negative) was more than that of *T. fedtschenkoi*. Antifungal activity of *T. daenensis* essential oil was higher than that of *T. fedtschenkoi* against *C. albicans*. The essential oil of *T. fedtschenkoi* was rich in linalool, and the higher antimicrobial activity of this species could be attributed to the high percentage of this compound in comparison with *T. daenensis*.

Article history

Received: 11-03-2022

Revised: 26-05-2022

Accepted: 28-05-2022

Keywords

Antimicrobial property

Essential oil

Linalool

Thymol

Thymus

Cite this article as: Mumivand, H., Khanizadeh, P., Hassaneian Khoshro, H. (2023). Evaluation of phytochemical, antibacterial and antifungal properties of *Thymus daenensis* and *Thymus fedtschenkoi* from west of Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 11(1): 1-16.



©The author(s)

Doi: 10.30495/ejmp.2022.1954831.1683

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.1.2



بررسی فیتوشیمیایی، ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس دو گونه از گیاه دارویی *Thymus daenensis* و *Thymus fedtschenkoi* در غرب ایران

حسن مومیوند^{۱*}، پرینا خانی‌زاده^۱، حمید حسینیان خوشرو^۲

۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، رایانامه: mumivand.h@lu.ac.ir

۲ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مراغه، ایران

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	در این تحقیق به منظور بررسی فیتوشیمیایی، ضدباکتریایی و ضدقارچی دو گونه از آویشن دنیایی (<i>Thymus daenensis</i> Celak.) و آویشن قره‌باغی (<i>Thymus fedtschenkoi</i> Ronniger) علیه باکتری‌های گرم مثبت (<i>Bacillus cereus</i> و <i>Staphylococcus aureus</i> و <i>Enterococcus faecium</i>)، باکتری‌های گرم منفی (<i>Escherichia coli</i> و <i>Salmonella enteritidis</i>) و قارچ (<i>Candida albicans</i>)، سرشاخه‌های گلدار گیاهان به ترتیب از اراک و همدان، در مرحله گلدهی کامل برداشت شد. اسانس گیری به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) و شناسایی ترکیبات اسانس‌ها توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) انجام گردید. بررسی ضد میکروبی با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، میکرودايلوشن، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) محاسبه گردید. نتایج نشان داد محتوی اسانس آویشن دنیایی (۳/۴ درصد) بیشتر از آویشن قره‌باغی (۲/۹ درصد) بود. لینالول (۸۳/۱ درصد) و تیمول (۷۳/۹ درصد) به ترتیب مهمترین ترکیبات آویشن قره‌باغی و آویشن دنیایی را تشکیل دادند و اینکه اسانس هر دو گونه دارای اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی قابل توجهی بودند؛ به‌طور کلی فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن قره‌باغی به‌ویژه در مورد باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از اسانس آویشن دنیایی بود. درحالی‌که فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن دنیایی بر <i>شرشیاکلی</i> (گرم منفی) بیشتر از اسانس آویشن قره‌باغی بود. فعالیت ضدقارچی اسانس آویشن دنیایی در مقایسه با آویشن قره‌باغی بر قارچ <i>کاندیدا آلبیکنس</i> نیز بیشتر بود. ترکیبات لینالول و تیمول از مهمترین ترکیبات با اثر ضد میکروبی در هر دو گونه گزارش شده است.
واژه‌های کلیدی:	
آنتی‌باکتریال	
آویشن	
اسانس	
تیمول	
لینالول	

استاد: مومیوند، حسن؛ خانی‌زاده، پرینا؛ حسینیان خوشرو، حمید. (۱۴۰۲). بررسی تنوع فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Perilla frutescens* L.

var. *crispa* در مناطق مختلف کشت. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۱۶-۱.

Doi: 10.30495/ejmp.2022.1954831.1683

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.1.2

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان.



مقدمه

کاربیوفیلین^۵ (Ghasemi Pirbalouti et al., 2015). دوری و همکاران (Dorri et al., 2021) درصد اسانس گونه دنایی را حدود ۳/۶ درصد و ترکیب اصلی اسانس آن را تیمول (۷۲ درصد) و کارواکرول (۴۳/۹ درصد) گزارش کردند. در مطالعه‌ای که جهت تعیین ترکیبات فرار اسانس آویشن قره باغی انجام شد ترکیبات اصلی اسانس شامل لینالول (۶۳/۷۷ درصد)، α -ترپینئول (۱۰/۱۷ درصد)، ۱،۸-سینئول (۴/۰۱ درصد)، تیمول (۳/۳ درصد) و سابینن (۲/۶۶ درصد) بودند (Khorshidi et al., 2014). همچنین در گزارش دیگری Rustaiee و همکاران (۲۰۱۱) لینالول (تا ۸۳ درصد) را به عنوان ترکیب اصلی اسانس این گونه شناسایی کردند. اسانس‌ها، ترکیبات طبیعی بسیار پیچیده دارند که اغلب خواص بیولوژیکی اسانس‌ها را تعیین می‌کنند (Calo et al., 2015; El-Mohamedy, 2017; Pandey et al., 2017). فعالیت سیتوبوکسیک اسانس‌ها به دلیل حضور فنل‌ها، آلدئیدها و الکل‌ها می‌باشد (El-Mohamedy, 2017). همچنین اسانس‌ها با تخریب غشای فسفولیپیدی، تداخل در تولید انرژی و متابولیسم، اختلال در DNA و پلاسمید بر روی باکتری‌ها، اثر ضد باکتریایی ایجاد می‌کنند (Zhu et al., 2021). از این میان مواد فنلی مانند: تیمول، کارواکرول، سینامالدئید و اوژنول رایج‌ترین ترکیبات در اسانس‌ها با فعالیت ضد باکتریایی قابل توجه هستند (Bhavaniramya et al., 2019). باکتری‌های گرم مثبت در مقابل باکتری‌های گرم منفی نسبت به اسانس‌ها مقاومت کمتری دارند (Bhavaniramya et al., 2019; Zhu et al., 2021).

جنس کاندیدا^۶ دارای گونه‌های متعددی می‌باشد اما اصلی‌ترین عامل بیماری‌زای انسانی کاندیدا

جنس آویشن (*Thymus*) از مهمترین جنس‌های تیره نعنا و مشتمل بر ۲۱۵ گونه علفی، دائمی و بوته‌ای کوچک است. اسانس آویشن به دلیل داشتن تیمول، لینالول و کارواکرول دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدانگلی و مقوی سیستم ایمنی می‌باشد و کاربرد وسیعی در صنایع دارویی و غذایی دارد (Kalvandi et al., 2012). ترکیبات اصلی گیاه آویشن شامل: تیمول، پاراسیمین، لینالول، گاما ترپینن، آلفا پینن، بتا میرسن، لیمونن، سینئول، بورنئول، آلفا ترپینئول و ... میباشد که مقادیر آن‌ها بر اساس فصل برداشت، سن گیاه، خاک، شرایط اقلیمی، منطقه جغرافیایی، شیوه خشک کردن گیاه و شیوه اسانس‌گیری متفاوت می‌باشد. (Nagoor Meeran et al., 2017). از میان گونه‌های آویشن تعداد ۱۸ گونه در ایران شناسایی شده است آویشن دنایی با نام علمی *Thymus daenensis* Celak. گیاهی چند ساله است باساقه‌های کوتاه که در پایین کاملاً چوبی بوده و ارتفاع گل دهنده آن به ۳۰ سانتی‌متر می‌رسد و به صورت اندمیک و با پراکنش وسیع در کشور رویش دارد. انتشار جغرافیایی این گونه در استان‌های کهگیلویه و بویر احمد، چهارمحال و بختیاری، اصفهان، همدان، لرستان، مرکزی و غیره است (Khoshokhan et al., 2015; Safaei et al., 2017). آویشن قره‌باغی با نام علمی *Thymus fedtschenkoi* Ronniger گیاهی چند ساله و پر ساقه است که به صورت خودرو در مناطق کوهستانی و سنگلاخی ایران رویش دارد. این گیاه اندمیک ایران، ترکیه و قفقاز است؛ اما بیشترین پراکنش را در ایران دارد. ترکیبات غالب اسانس در اغلب این گونه‌ها عبارتند از تیمول^۱، کارواکرول^۲، پاراسیمین^۳، گاما-ترپینن^۴ و β -

4. γ -Terpinen
5. β -Caryophyllene
6. *Candida* genus

1. Thymol
2. Carvacrol
3. p -Cymene

دارد و معمولاً این چنین موادی از عصاره و اسانس گیاهان استخراج می‌شوند.

فعالیت ضدقارچی متابولیت‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی از جمله دارچین، پونه‌کوهی، رزماری، مریم‌گلی، میخک، فلفل، ریحان، آویشن، مرزه، زیره، لیمو، و نعناع در تحقیقات مختلف گزارش شده است (Ranjbar et al., 2008; Hadian et al., 2008). بررسی اثر آویشن شیرازی و دارچین بر روی تشکیل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر بازدارندگی را نشان داد (Rahmati et al., 2020). در مطالعه ای نتایج نشان داد اسانس *Oregano*, *Thyme white* و *Lemongrass* فعالیت بسیار قوی در برابر فاز ثابت استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان داد (Xiao et al., 2020). در تحقیقات انجام شده مشخص شده که اسانس‌های به‌دست‌آمده از گونه‌های آویشن علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی فاز فعالی را داشته است. اثر ضد باکتریایی اسانس آویشن می‌تواند به دلیل اثر لینالول، تیمول و .. یا اثر هم افزایی اجزای اصلی و فرعی آن باشد (Han et al., 2017; Afonso et al., 2018).

استفاده از گیاهان دارویی با اثر آنتی بیوتیکی و ضد قارچ قدمتی طولانی دارد (Ahmadi et al., 2016). از مهمترین گونه‌ها، گیاه آویشن است که حاوی تیمول، لینالول و کارواکرول با خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی مطرح است (Najib Zade et al., 2009). تیمول فعالیت ضدقارچی در تعدادی از گونه‌ها شامل کریپتوکوکوس نیوفورمانز^۲، آسپرژیلوس^۳، اسپرالینا^۴ و زیگوروهینچوس^۵ دارد. علاوه بر این مطالعات مختلف فعالیت ضد باکتریایی این ترکیب را علیه سامونلا تیفموریوم^۶،

آلیکنس^۱ است (Al-Fattani et al., 2006). این قارچ می‌تواند باعث بیماری‌های نظیر برفک، واژنیت، عفونت پوستی، مننژیت و... با میزبانی انسان شود (Seneviratne et al., 2008; Perumal et al., 2007). برای درمان عفونت‌های کاندیدیایی از داروهای گروه آزول (فلوکونازول) و داروهای پلی‌ان (نیستاتین) استفاده می‌شود. گونه‌های کاندیدا نسبت به داروهای ضد قارچی از خود مقاومت نشان می‌دهند. علاوه بر این داروهای آنتی بیوتیک شیمیایی مانند فلوکونازول دارای اثرات سمی و جانبی زیادی هستند (Gualco et al., 2007). با ظهور گونه‌های مقاوم کاندیدا به داروهای شیمیایی و مسائل مرتبط با نگهدارنده‌های شیمیایی محققین برای کاهش عوارض این داروها و اثر گذاری آن‌ها از داروهای گیاهی کمک گرفتند و بررسی‌های لازم را انجام دادند بطوری که در تحقیقی اثر عصاره آبی پونه بر روی کاندیدا نتایج بسیار موفقی را نشان داد (Taftian et al., 2020). در تحقیق دیگری اسانس دو گونه آویشن *T. carnosus* و *T. camphoratus* قادر به مهار رشد کاندیدا شد بطوری که نسبت به فلوکونازول، یک داروی ضد قارچی است و به‌طور گسترده در کلینیک استفاده می‌شود موثر تر بود (Alves et al., 2019).

استافیلوکوک اورئوس به عنوان یکی از پنج عامل باکتریایی شایع ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است (Jawetz et al., 2013). در درمان زخم‌های عفونی بیشتر از آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شود، به دلیل مقاومت آنتی بیوتیک‌ها و با توجه به عوارض جانبی و آسیب‌های زیادی که بر ارگان‌های بدن دارند (Wright, 2014; Sengupta et al., 2013)، نیاز به استفاده از منابع جدید با اثرات جانبی کمتر وجود

2. *Cryptococcus neoformans*
3. *Aspergillus*
4. *Aspiryna*
5. *Zygorhynchus*
6. *Salmonella typhimurium*

1. *Candida albicans*

هرباریومی ۳۶۶۱۴ و ۳۶۶۲۲ به ترتیب برای آویشن دناپی و آویشن قره‌باغی تعیین گردید.

اسانس گیری: سرشاخه‌های گلدار گیاهان در مرحله‌ی گلدهی کامل جمع‌آوری و سپس در شرایط سایه در دمای اتاق خشک گردید. در ادامه میزان ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده توسط روش تقطیر آبی با استفاده از دستگاه کلونجر طبق طرح فارماکوپه بریتانیا به مدت ۳ ساعت اسانس گیری شد. اسانس حاصله با استفاده از سولفات سدیم خشک، آب‌گیری شده و در شیشه‌های کاملاً دربسته و در محیط تاریک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور انجام آزمایشات بعدی نگه‌داری شد (Mumivand et al., 2019).

آنالیز و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس: برای آنالیز کمی اسانس از کروماتوگراف گازی (GC) واریان مدل سی پی ۳۸۰۰ مجهز به ستون از نوع دی بی ۵ به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون به مدت یک دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. نشانگر مورد استفاده در دستگاه کروماتوگراف گازی از نوع FID بوده و از گاز نیتروژن با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. برای آنالیز کیفی اسانس نیز از دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC-MS) مشابه با شرایط کروماتوگراف گازی (ذکر شده در بالا) استفاده گردید. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۳ تا ۴۵۶ استفاده گردید.

پس از آماده‌سازی و تزریق اسانس به دستگاه کروماتوگرافی گازی شرایط مناسب برای بهترین

استافیلوکوکوس آرتوس^۱ و اشرشیاکلی^۲ تایید می‌کنند (WHO^۳, 1999). لینالول نیز به عنوان یک مونوترپن الکلی از خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی قابل توجهی برخوردار است و در صنایع غذایی در کنترل عوامل میکروبی فاسد کننده‌ی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pavela et al., 2017; Morshedloo et al., 2021).

همسو با رویکرد جامعه جهانی، شناخت و مطالعه در زمینه ترکیبات موجود در اسانس گیاهان دارویی و بررسی چگونگی تاثیر این مواد بر قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌تواند کمک شایانی به استفاده صحیح از این ترکیبات و جایگزین کردن داروهای شیمیایی با داروهای با منشأ طبیعی، برای درمان عفونت‌های باکتریایی و قارچی، این پژوهش به منظور بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس دو گونه آویشن دناپی و قره‌باغی (به ترتیب به‌عنوان اسانس‌های غنی از مونوترپن‌های فنولی و مونوترپن‌های الکلی) و مقایسه فعالیت‌های ضد میکروبی آن‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: برای انجام این پژوهش نمونه‌های گیاهی آویشن دناپی و آویشن قره‌باغی به ترتیب از رویشگاه‌های طبیعی خود در اراک (ارتفاع از سطح دریا: ۲۴۳۰؛ 34°112 N, 48°152 E) و همدان (ارتفاع از سطح دریا: ۱۸۴۰؛ 34° 152 N, 48° 352 E) در مرحله گلدهی کامل جمع‌آوری گردید. نمونه‌های تهیه شده، در هرباریوم پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران شناسایی و تایید گردیدند. شماره

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Escherichia coli*
3. World Health Organization

جداسازی بدست آمد. سپس با استفاده از روش کوپل شده کروماتوگرافی گازی با طیف سنج جرمی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مورد شناسایی کیفی قرار گرفتند. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان و شاخص بازداری (RI)، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه جی‌سی‌مس صورت گرفت (Adams, 2007). درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام جی‌سی‌سی به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ بدست آمد (Mumivand et al., 2021).

بررسی اثرات ضد میکروبی: در این مطالعه از سه سویه باکتری گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس آریوس، باسیلوس سرئوس^۱ و ایتروکوکوس فاسیوم^۲، دو سویه باکتری گرم منفی شامل اشرشیاکلی و سالمونلا انتریتیدیس^۳ و قارچ کاندیدا آلبیکنس^۴ استفاده گردید. به منظور تعیین حساسیت عوامل باکتریایی و قارچی نسبت به اسانس دو گونه آویشن از روش دیسک‌دیفیوژن و روش میکرودیلوژن استفاده شد. سویه‌های باکتریایی روی مولر هیلتون آگار و سویه قارچ روی سابورودکستروز آگار رشد داده شدند. شرایط انکوباسیون مورد استفاده ۲۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و ۴۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای قارچ بود. کلرامفنیکل و نیساتین نیز به عنوان استانداردهای مثبت مورد استفاده قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimal Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی میکروبی (Minimum

تجزیه و تحلیل داده‌ها: در پایان داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد بررسی و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شد.

نتایج

بازده و ترکیبات شیمیایی اسانس: نتایج آزمایش نشان داد که بازده اسانس آویشن دنايي (۳/۴±۰/۲) درصد حجمی/وزنی) بالاتر از آویشن قره‌باغی (۲/۹±۰/۳) درصد حجمی/وزنی) بود (جدول ۱). نتایج آنالیز اسانس توسط دستگاه GC-MS منجر به شناسایی ۱۸ ترکیب در اسانس آویشن قره‌باغی شد که در مجموع ۹۹/۳ درصد کل ترکیبات اسانس را تشکیل دادند. اجزای اصلی اسانس آویشن قره‌باغی شامل لینالول (۸۳/۱ درصد)، ۸-اوسیتینول (۲/۹ درصد)، ترپینن-۴-اُل (۲/۲ درصد) و آلفا-پینن (۲ درصد) بود (جدول ۱). از طرفی آنالیز GC-MS اسانس آویشن دنايي نیز منجر به شناسایی ۱۶ ترکیب شد که در مجموع ۹۸/۴ درصد کل ترکیبات اسانس را تشکیل دادند و مهم‌ترین ترکیبات آن شامل تیمول (۷۳/۹ درصد)، E-کاروفیلین (۵/۶ درصد)، گاما-ترپینن (۵/۰ درصد) و پارا-سیمین (۳/۹ درصد) بود. (جدول ۱). با توجه به نتایج ترکیبات اسانس دو گونه، مهم‌ترین ترکیب ثانویه آویشن قره‌باغی لینالول با ۸۳/۱ درصد بود درحالی که این ترکیب در آویشن دنايي اصلا دیده نشد و مهم‌ترین ترکیب در آویشن دنايي تیمول با ۷۳/۹ درصد بود که این ترکیب هم در آویشن قره‌باغی مشاهده نشد. همچنین در آویشن دنايي گاما-

1. *Bacillus cereus*
2. *Enterococcus faecium*
3. *Salmonella enteritidis*
4. *Candida albicans*

ترپینن (۲۵ برابر)، E-کاریوفیلین (۴/۳ برابر) و پارا-سیمین (۲/۴ برابر) آویشن قره باغی بود. در آویشن آلفا-پینن (۵ برابر) آویشن دنائی بود.

جدول ۱: مقایسه کمیت و کیفیت اسانس *T. fedtschenkoi* و *T. daenensis*

Compounds	RI	<i>T. fedtschenkoi</i>	<i>T. daenensis</i>
α -Thujene	۹۲۶	-	۰/۴ ± ۰/۰۷
α -Pinene	۹۳۲	۲ ± ۰/۵	۰/۴ ± ۰/۱
Champhene	۹۵۲	۱/۴ ± ۰/۳	-
Sabinene	۹۷۴	۰/۶ ± ۰/۰۴	۱/۲ ± ۰/۱
α -Terpinene	۱۰۱۵	-	۰/۸ ± ۰/۰۴
p-Cymene	۱۰۲۵	۱/۶ ± ۰/۰۲	۳/۹ ± ۰/۶
1,8-Cineole	۱۰۳۰	۲/۹ ± ۰/۰۵	۰/۳ ± ۰/۰۴
γ -Terpinene	۱۰۵۸	۰/۲ ± ۰/۰۳	۵/۰ ± ۰/۶
Terpinolene	۱۰۸۰	۱/۰ ± ۰/۰۲	۰/۲ ± ۰/۰۳
Linalool	۱۰۹۱	۸۳/۱ ± ۳/۳	-
Fenchone	۱۱۰۹	-	۰/۸ ± ۰/۲
Borneol	۱۱۶۴	۱/۶ ± ۰/۲۲	۰/۸ ± ۰/۱
Terpinen-4-ol	۱۱۷۴	۲/۲ ± ۰/۳	-
α -Terpineol	۱۱۸۶	۱/۰ ± ۰/۰۲	-
Carvacrol methyl ether	۱۲۴۴	-	۲/۹ ± ۰/۶
cis Chrysanthenyl acetate	۱۲۸۴	-	-
Thymol	۱۲۹۰	-	۷۳/۹ ± ۱/۴
Carvacrol	۱۲۹۸	۰/۱ ± ۰/۰۲	۲/۷ ± ۰/۴
Geronyl acetate	۱۳۸۳	-	-
E-caryophyllene	۱۴۴۲	۱/۳ ± ۰/۱	۵/۶ ± ۰/۴
α -Humulene	۱۴۵۴	-	-
β -Bisabolene	۱۵۰۷	۰/۴ ± ۰/۱	-
Spathulenol	۱۵۷۷	-	-
Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	-	-
α -Cadinol	۱۶۵۴	-	-
<i>epi</i> - α -Bisabolol	۱۶۶۷	۰/۴ ± ۰/۱۳	-
Total		۹۹/۳	۹۸/۶
Oil content (v/w %)		۲/۹ ± ۰/۳	۰/۲ ± ۳/۴

RI: retention indices relative to C₆-C₂₄ n-alkanes on the DB-5 column.

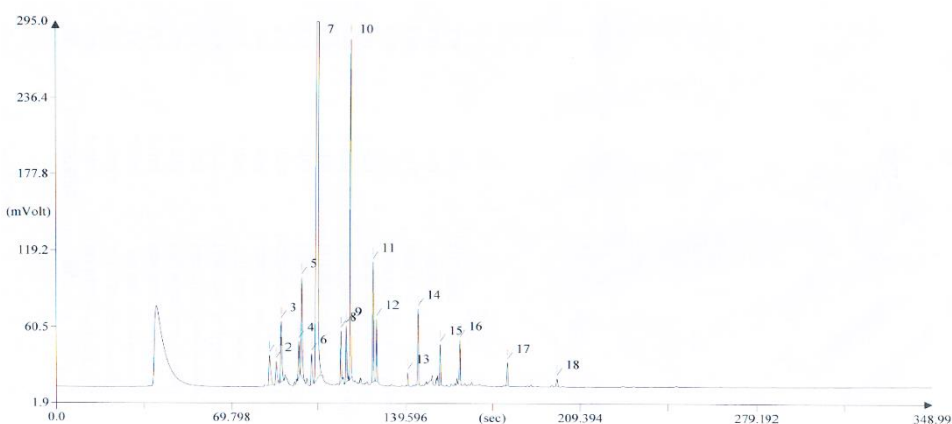
گروه‌های تشکیل دهنده‌ی اسانس آویشن دنائی شامل مونوترپن‌های اکسیژنه (۸۱/۱ درصد)، مونوترپن‌های هیدروکربنه (۱۱/۹ درصد) و سسکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه (۵/۶ درصد) بود و مهمترین گروه‌های

نتایج گروه‌بندی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس نشان داد که مهمترین دسته از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در هر دو گونه مورد مطالعه مونوترپن‌های اکسیژنه بودند. با توجه به نتایج (جدول ۲) مهمترین

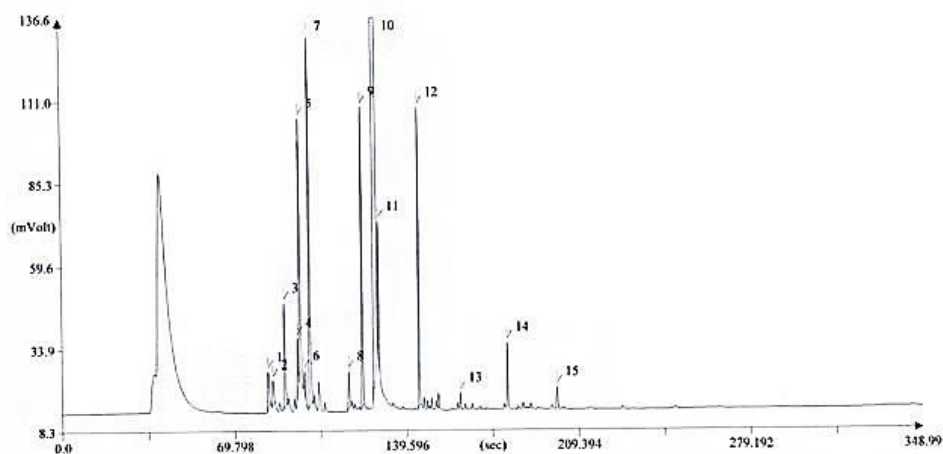
تشکیل دهنده‌ی اسانس آویشن قره‌باغی حاوی مونوترپن‌های اکسیژنه (۹۰/۸ درصد)، مونوترپن‌های هیدروکربنه (۶/۸ درصد)، سسکوئی‌ترپن‌های اکسیژنه (۰/۴ درصد) و بود.

جدول ۲: گروه‌بندی ترکیبات شیمیایی اسانس *T. fedtschenkoi* و *T. daenensis*

Chemical groups	<i>T. daenensis</i>	<i>T. fedtschenkoi</i>
Monoterpene hydrocarbons	۱۱/۹	۶/۸
Oxygenated monoterpenes	۸۱/۱	۹۰/۸
Sesquiterpene hydrocarbons	۵/۶	۱/۷
Oxygenated sesquiterpenes	-	۰/۴



شکل ۱: کروماتوگرام آنالیز اسانس آویشن قره‌باغی (*T. fedtschenkoi*)



شکل ۲: کروماتوگرام آنالیز اسانس آویشن دنايي (*T. daenensis*)

خواص ضدقارچی آن‌ها در شکل (۳) نشان داده شده است. اسانس هر دو گونه آویشن دارای اثرات بازدارندگی مشخصی بر رشد باکتری‌ها و قارچ با

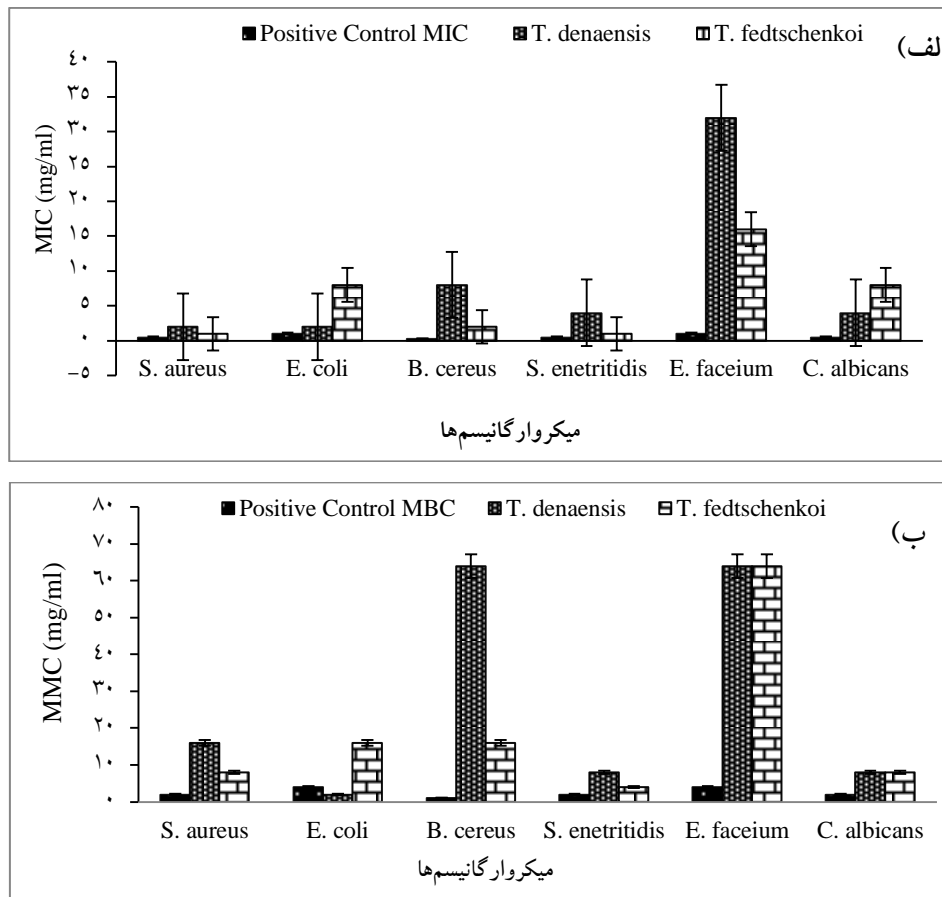
فعالیت ضد میکروبی اسانس: نتایج بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس گونه‌های آویشن دنايي و آویشن قره‌باغی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و

دنایی بر *اشرشیاکلی* (گرم منفی) بالاتر از اسانس آویشن قره‌باغی بود. فعالیت ضدقارچی اسانس آویشن دنایی در مقایسه با آویشن قره‌باغی بر علیه قارچ *کاندیدیا آلبیکنس* نیز بیشتر بود (به‌ترتیب با MIC و MBC معادل ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). اگرچه در مقایسه با ضد قارچ شاهد مورد استفاده (نیستاتین) اثرات کمتری داشت.

بحث

در این مطالعه ترکیبات شیمیایی، خواص ضد باکتری و ضد قارچ اسانس دو گونه *T. daenensis* و *T. fedtschenkoi* ارزیابی شد. نتایج نشان داد بازده اسانس آویشن دنایی ۳/۴ حجمی/وزنی و بازده اسانس آویشن قره‌باغی ۲/۹ درصد حجمی/وزنی بود که با مطالعات انجام شده توسط دیگر محققین متفاوت بود. بطوری که طبق بررسی‌های انجام شده توسط قاسمی پیربلوطی و همکاران (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013) آویشن دنایی بازده اسانس آویشن دنایی ۰/۷۵ درصد وزن خشک گیاه بود. همچنین گلپرور و همکاران (Golparvar et al., 2012) نیز در مطالعه‌ای دیگر درصد اسانس آویشن دنایی در مرحله گلدهی را ۱/۴۱ درصد گزارش کردند. با این وجود نتایج رستایی و همکاران (Rostae et al., 2011) نشان داد که بازده اسانس آویشن دنایی در مرحله گلدهی حدود ۳/۴ درصد بود. علاوه بر این رستایی و همکاران (Rostae et al., 2011) در مطالعه‌ای دیگر بازده اسانس آویشن قره‌باغی را ۲/۹ درصد گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

درجات مختلف بود. در بین تمام میکروارگانیزم‌ها و اسانس‌های مورد مطالعه، بالاترین خاصیت ضد میکروبی را اسانس آویشن قره‌باغی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس آئروس و گرم منفی سالمونلا انتریتیدیس (با MIC برابر با ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MMC به‌ترتیب معادل ۸ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نشان داد. در حالی که کمترین خاصیت ضد میکروبی اسانس آویشن قره‌باغی در باکتری انتروکوکوس فاسیوم (به‌ترتیب با MIC و MBC معادل ۱۶ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده گردید. اسانس آویشن قره‌باغی اثر ضد میکروبی متوسطی بر سایر میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه داشت (شکل ۳). در پژوهش حاضر اسانس آویشن دنایی دارای بالاترین خاصیت ضد میکروبی بر علیه باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* (با MIC و MMC معادل ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. کمترین خاصیت ضد میکروبی اسانس آویشن دنایی هم در دو باکتری انتروکوکوس فاسیوم و باسیلوس سرئوس (به‌ترتیب با MIC معادل ۶۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با MMC بزرگتر از ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد. اسانس آویشن دنایی اثر ضد میکروبی متوسطی بر سایر میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه داشت (شکل ۳). در بین میکروارگانیزم‌های مورد آزمایش، انتروکوکوس فاسیوم و باسیلوس سرئوس به عنوان باکتری‌های مقاوم به اسانس هر دو گونه آویشن شناسایی شدند. همانطور که شکل (۳) نشان می‌دهد در مقایسه بین اسانس دو گونه آویشن مورد مطالعه نیز فعالیت ضد باکتریایی اسانس آویشن قره‌باغی به‌ویژه در مورد باکتری‌های گرم مثبت بالاتر از اسانس آویشن دنایی بود. بر خلاف این فعالیت ضد باکتریایی اسانس آویشن



شکل ۳: خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی اسانس دو گونه *T. fedtschenkoi* و *T. daenensis* (الف: MIC و ب: MMC) (کلرامفنیکل و نیستاتین با غلظت ۳۰ میکروگرم بر دیسک به ترتیب به عنوان کنترل مثبت برای باکتری‌ها و قارچ)

بورنیل استات و ۸-سینئول بودند (Ghelichnia, Rustaiee et al., 2016). نتایج مطالعه رستایی و همکاران (Rustaiee et al., 2011) روی اسانس آویشن قره‌باغی در ایران نیز لینالول، *E*-کاریوفیلین و گاماترپین را به عنوان اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس گیاه نشان داد. نیک آور و همکاران (Nikavar et al., 2005) تیمول (۳۸/۶ درصد)، کارواکرول (۳۳/۹ درصد)، گاماترپین (۸/۲ درصد)، و پاراسیمین (۷/۳ درصد) را به عنوان مهم‌ترین اجزای اسانس آویشن دناهی (*T. daenensis*) در ایران شناسایی کردند. در پژوهشی دیگر ۲۴ ترکیب در اسانس آویشن دناهی شناسایی شد که اجزای غالب اسانس را تیمول (۷۰/۳-۳۳/۹ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸-۴ درصد)، گاماترپین (۱۰/۴-۹/۳

طبق نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر عمده‌ترین ترکیب آویشن دناهی تیمول با ۷۳/۹ درصد بود و همچنین اصلی‌ترین ترکیب آویشن قره‌باغی را لینالول با ۸۳ درصد به خود اختصاص داد. نتایج بدست آمده با داده‌های سایر محققین از لحاظ نوع ترکیبات اسانس مطابقت داشت، اما درصد ترکیبات متفاوت بود که علت آن را می‌توان به شرایط اقلیمی منطقه رویش نسبت داد بطوری که شرایط اقلیمی منطقه رویش با تاثیر بر فتوسنتز و تنفس و متابولیسم گیاه بر کیفیت و کمیت ترکیبات شیمیایی اسانس موثر است (Dorri et al., 2021). در تحقیقی ۲۷ ترکیب در اسانس آویشن قره‌باغی شناسایی شد که اجزای غالب اسانس را کارواکرول، تیمول، بورنئول، پاراسیمین،

کارواکروول، پاراسیمن و لینالول بود. در بین گونه‌های مورد مطالعه، به ترتیب *T. kotschyanus*، *T. vulgaris* و *T. pubescens* دارای بیشترین خاصیت ضدباکتریایی بودند (Mahboubi et al., 2017). مونوترپن‌های فنولی تیمول و کارواکروول ترکیبات ایزومری هستند که از طریق آروماتیکی شدن گاماترپین به پاراسیمن و سپس هیدروکسیله شدن پاراسیمن تولید می‌شوند. این مونوترپن‌ها و پیش‌سازهای آن‌ها (گاماترپین و پاراسیمن)، عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های فنولی (آویشن، پونه و مرزه) خانواده نعناع هستند (Pavala et al., 2020). وجود ترکیبات فنولی دلیل فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های غنی از این ترکیبات است (Bagamboula et al., 2004). در پژوهش حاضر تیمول عمده‌ترین ترکیب اسانس آویشن دنیایی و لینالول ترکیب عمده اسانس آویشن قره‌باغی بود (جدول ۱). تیمول دارای فعالیت ضدباکتریایی بر علیه تعداد زیادی از گونه‌های باکتری است (Ghasemi Pirbalouti et al., 2015). مهم‌ترین خصوصیت تیمول خاصیت آب‌گریزی آن است که باعث نفوذ آن در بافت چربی لیپوپلی‌ساکاریدی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی شده و ساختار سلولی آن‌ها را بر هم می‌زند، در نتیجه نشت یونی رخ داده و محتویات سلول از آن خارج می‌شوند (Burt, 2004). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن دنیایی (به‌عنوان اسانسی غنی از تیمول) بر باکتری‌های گرم منفی بالاتر بود. لینالول به‌عنوان ترکیب اسانس آویشن قره‌باغی با دیپلاریزاسیون و آسیب‌غشایی می‌تواند فعالیت ضد میکروبی قوی‌تری بر علیه باکتری‌های داشته باشد (Zhang et al., 2017; Zhang et al., 2016; Guo, et al., 2021). در مطالعه حاضر اسانس آویشن قره‌باغی غنی از لینالول بود و می‌توان وجود مقادیر بالای این

درصد) و پاراسیمن (۸/۶-۸/۸ درصد) تشکیل دادند (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013). در پژوهش امیری (Amiri, 2012) نیز تیمول (۶/۶-۶/۴ درصد)، کارواکروول (۳/۳-۷/۶ درصد) و گاماترپین (۴/۴-۱۱/۳ درصد) ترکیبات اصلی اسانس آویشن دنیایی را تشکیل دادند. اگرچه تولید ترکیبات شیمیایی مختلف در اسانس گیاهان دارویی دارای اساس ژنتیکی است اما میزان این ترکیبات در نتیجه منطقه جغرافیایی، شرایط اقلیمی، مرحله نموی، زمان برداشت و روش استخراج تغییر می‌کند (Nejad Ebrahimi et al., 2008; Nooshkam et al., 2017). تجمع متابولیت‌های ثانوی با تنوع عظیم در گیاهان نتیجه تلاش آن‌ها برای افزایش سازگاری با محیط ناپایدار اطراف است. زمانی که گیاه تحت شرایط اکولوژیکی مختلف قرار می‌گیرد کمیت و کیفیت مواد ثانوی خود را در جهت سازگاری به این شرایط تغییر می‌دهد. بنابراین جمعیت‌های یک گونه دارویی که در شرایط اکولوژیک مختلف رویش دارند از نظر کمیت و کیفیت مواد مؤثره تیپ‌های متفاوت و متنوعی را تشکیل می‌دهند که این تنوع منجر به تفاوت در دامنه فعالیت دارویی و بیولوژیک آن‌ها نیز می‌شود (Mumivand et al., 2010).

فعالیت بیولوژیکی اسانس‌ها به ترکیب شیمیایی آن‌ها بستگی دارد که توسط ژنوتیپ تعیین می‌شود و تحت تأثیر شرایط محیطی و زراعی است. اسانس‌های گیاهی منابع خوبی از ترکیبات ضد میکروبی هستند و اسانس آویشن به عنوان یکی از ارزشمندترین عوامل ضد باکتریایی و ضد قارچی در بین اسانس‌ها شناسایی شده است (Nejad Ebrahimi et al., 2008; Teixeira et al., 2013; Hadipanah et al., 2016). در پژوهشی که بر روی فعالیت آنتی باکتریایی و ترکیب شیمیایی اسانس چندین گونه آویشن انجام شد، مهمترین اجزای اسانس این گونه‌ها شامل تیمول،

گیاهی در آویشن بسته به گونه، شرایط جغرافیایی و اقلیمی، مرحله رشد می‌تواند متفاوت باشد. در مطالعه حاضر، ترکیبات شیمیایی اسانس دو گونه آویشن دناهی و قره‌باغی و مقایسه فعالیت‌های ضد میکروبی آن‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده بازده اسانس آویشن دناهی نسبت به آویشن قره‌باغی بالاتر بود. همچنین ترکیب اصلی اسانس دو گونه تفاوت داشت. به نحوی که لینالول با بیش از ۸۳ درصد بخش اعظم اسانس آویشن قره‌باغی را به خود اختصاص داد. درحالی که در آویشن دناهی، تیمول با بیش از ۷۳ درصد جزء اصلی اسانس این گیاه بود. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق اسانس هردو گونه پتانسیل بالایی جهت فعالیت ضد باکتری و قارچی نشان داد. با این حال فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن قره‌باغی به‌ویژه در مورد باکتری‌های گرم مثبت بالاتر از اسانس آویشن دناهی بود. بر خلاف این فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن دناهی بر *اشرشیاکلی* (گرم منفی) بالاتر از اسانس آویشن قره‌باغی بود. در بین گیاهان مورد آزمایش اسانس آویشن دناهی، فعالیت ضدقارچی علیه قارچ *کاندیدا آلبیکنس* بیشتر داشت. با توجه به اینکه هر یک از ترکیبات اسانس با میزان خاصیت میکروبی آن بر علیه برخی باکتری‌ها یا قارچ‌ها اثرات قابل توجهی نشان می‌دهد جداسازی و خالص سازی هر یک از این ترکیبات و استفاده از آن‌ها جهت از بین بردن عوامل بیماری‌زای خاص می‌تواند مثمر ثمر باشد.

ترکیب را دلیل فعالیت ضد میکروبی قوی‌تر این گونه نسبت به آویشن دناهی بیان کرد. در پژوهشی که توسط پنتیک و همکاران (Pattnaick et al., 1997). روی فعالیت ضدباکتریایی پنج ترکیب آروماتیک اسانس (سینئول، لینالول، سیترال، ژرانیول و منتول) بر ضد ۱۸ باکتری (شامل باکتری‌های کوکسی و میله‌ای گرم مثبت و میله‌ای گرم منفی) و ۱۲ قارچ (سه مخمر مانند و ۹ عدد میله‌ای) بر حسب فعالیت آنتی باکتریایی انجام شد لینالول بیشترین خاصیت ضد میکروبی را داشت و مانع از رشد ۱۷ باکتری مورد مطالعه شد. در تحقیق دیگری اسانس آویشن فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی نشان داد و به‌طور موثری رشد *Echerichia coli* را مهار کرد (Anzlovar et al., 2014). همچنین Alsaraf و همکاران (Alsaraf et al., 2019) گزارش دادند که کاربرد اسانس آویشن علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و *E. coli* در غلظت‌های ۵ میکرولیتر و ۱۰ میکرولیتر اثر بازدارندگی را در رشد این باکتری‌ها داشت. مطالعات دیگری نشان داد که اسانس و عصاره *T. daenensis* فعالیت ضد میکروبی علیه کاندیدا آلبیکنس (Ghasemi Pirbalouti et al., 2009) استافیلوکوکوس اورئوس (Ghasemi Pirbalouti et al., 2010a)، اشریشیا کلی (Ghasemi Pirbalouti et al., 2010b) از خود نشان دادند که با داده‌های ما مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری نهایی

آویشن به‌دلیل وجود ترکیبات ثانویه، نقش مهمی در سلامت انسان ایفا می‌کند. مقدار ترکیبات ثانویه

References

- Al-Fattani, M.A. and Douglas, L.J. (2006). Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *J Med Microbiol.* 55, 999-1008.
- Alsaraf, S., Hadi, Z., Al-Lawati, W.M., Al-Lawati, A.A. and Khan, S.A. (2019). Chemical composition, *in vitro* antibacterial and antioxidant potential of Omani *Thyme* essential Oil

- along with in silico studies of its major constituent. Journal of King Saud University – Science. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.09.006>
- Ahmadi, E., Abdollahi, A., Najafipour, S., Meshkibaf, M.H., Fasihi Ramandi, M. and Namdar, N. (2016). Surveying the effect of the phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: In vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars province. J Fasa Univ Med Sci. 6, 210-20.
- Afonso, A.F., Pereira, O.R., Valega, M., Silva, A.M.S, and Cardoso, S.M. (2018). Metabolites and biological activities of *Thymus zygis*, *Thymus pulegioides*, and *Thymus fragrantissimus* grown under organic cultivation. Molecules. 23, 1–15.
- Adams, R.P. (2007). Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA. p. 804.
- Alves, M., Gonçalves, M.J., Zuzarte, M., Alves-Silva, J.M., Cavaleiro, C., Cruz, M.T. and Salgueiro, L. (2019). Unveiling the antifungal potential of two Iberian thyme essential oils: effect on *C. albicans* germ tube and preformed biofilms. Front. Pharmacol. 10:446. doi: 10.3389/fphar.2019.00446
- Anzlovar, S., Baricevic, D., Avgustin, J.A. and Koce, J.D. (2014). Essential oil of common Thyme as a natural antimicrobial. Food Additive. Food Technol. Biotechnol. 52, 263–268
- Amiri, H. (2012). Essential oil composition and antioxidant properties of three *Thymus* species. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-8.
- Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and Basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology. 21, 33–42.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology. 94, 223–253.
- Bhavaniramy, S., Vanajothi, R., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., & Baskaran, D. (2019). Computational characterization of deleterious SNPs in Toll-like receptor gene that potentially cause mastitis in dairy cattle. Biocatalysis & Agricultural Biotechnology. 19, 101-151
- Calo, J.R., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A. and Ricke, S.C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems –A review. Food Control. 54,111–119.
- Dorri, M.A., Mirza, M. and Sharifi Ashoorabadi, E. (2021). Phytochemical study of essential oil in different extensions of *Thymus daenensis* Celak. cultivated in lowland lands: A case study in Golestan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 9th Year, Volume One. 90-99.
- El-Mohamedy, R.S.R. (2017). Plant essential oils for controlling plant pathogenic fungi. 171-198. In: Volatiles and Food Security: Role of Volatiles in Agro-ecosystems. Choudhary D.K. (eds.). Springer Singapore, 373 p.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Neshat, S.H., Rahimi, E., Hamed, B. and F, Malekpoor. (2013). Chemical composition and antibacterial activity of essentials oils of Iranian herbs against *Staphylococcus aureus* isolated from milk. International Journal of Food Properties. 17:9, 2063-2071.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Bahmani, M. and Avijgan, M. 2009. Anti- *Candida* activity of Iranian medicinal plants. Electronic Journal of Biology. 5, 85-88
- Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Enteshari, S., Yousefi, M., Momtaz, H. and Hamed, B. 2010a. Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by Bakhtiari tribal in Southwest Iran. International Journal of Biology, 2, 55-63.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Jahanbazi, P., Enteshari, S., Malekpoor, F. and Hamed, B. 2010b. Antimicrobial activity of some of the Iranian medicinal plants. Archives of Biological Science Belgrade. 62, 633- 642.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Emami Bistghani, Z. and Malekpoor, F. 2015. An overview on genus *Thymus*. Journal of Herbal Drugs. Vol. 6, 93-100.

- Ghelichnia, H. 2016. Essential oil composition of tree species of *Thymus* growing wild in mazandaran, iran. Cercetări Agronomice în Moldova Vol. XLIX, No. 2, 107-113.
- Golparvar, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Zinali, H. and Hadipanah, A. (2012). Effect of harvest times on quality (morphological) and quality characteristics of *Thymus daenensis* celak in Isfahan. Journal of Herbal Drugs. Vol. 2, 245-254,
- Gualco, L., Debbia, E.A., Bandettini, R., Pescetto, L., Cavallero, A. and Ossi, M.C. (2007). Antifungal resistance in *Candida* spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. International Journal of Antimicrobial Agents. 29,179-84.
- Guo, F., Liang, Q., Zhang, M., Chen, W., Chen, H., Yun, Y., Zhong, Q. and Chen, W. (2021). Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Shewanella putrefaciens*. Molecules. 26, 245.
- Hadian, J., Akramian, M., Heydari, H., Mumivand, H. and Asghari, B. (2012). Composition and in vitro antibacterial activity of essential oils from four *Satureja* species growing in Iran. Natural Product Research. 26, 98-108.
- Hadipanah, A. and Khorami, M. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from two *Thymus* species. Journal of Herbal Drugs. Vol. 6, 211-217
- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. (2013). Medizinische Mikrobiologie. Berlin: Springer-Verlag
- Han, X., Parker, T.L. (2017). Antiinflammatory activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark essential oil in a human skin disease model. Phytother Res. 31, 1034-8.
- Hadian, J., Farzaneh, M., Fakhr Tabatabaei, S.M., Mirjalili, M.H., Ranjbar, H. and Haji Eghrari, B. (2008). A study of the composition, and antifungal activity of the essential oils of *Artemisia scopari* and *A. aucheri* from south of Khorasan on some soil-borne phytopathogen. Iranian Journal of Agriculture Science. 38, 421-429.
- Kalvandi, R., Atri, M., Jamzad, Z. and Safikhani, K. (2012). Taxonomic study of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas in Iran with emphasis on floristic marker and using special station method. Taxonomy and Biosystematics. 10, 63-76.
- Khoshsookhan, F., Babalar, M., Pourmeidani, A. and Fatahi, M. (2015). Antioxidant activity, total phenolics and oil content of some *Thymus kotschyanus* and *Thymus daenensis* populations. Plant Production Technology. 15, 153-162.
- Khorshidi, J., Rasouli, M., Rustaiee, A.R. and Mohamadparast, B. (2014). Chemical composition of the essential oil of *Thymus fedtschenkoi* growing wild in Iran, Journal of Essential Oil Bearing Plants. 17, 173-175.
- Mahboubi, M., Heidarytabar, R., Mahdzadeh, E. and Hossein, H. (2017). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus* species and *Zataria multiflora* essential oils. Agriculture and Natural Resources. 51, 395-401.
- Morshedloo, M. R., Amani Machiani, M., Mohammadi, A., Maggi, F., Aghdam, M. S., Mumivand, H., & Javanmard, A. (2021). Comparison of drying methods for the extraction of essential oil from dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L., Lamiaceae). Journal of Essential Oil Research, 33(2), 162-170.
- Mumivand, H., Ebrahimi, A., Morshedloo, M.R. and Shayganfar, A. (2021). Water deficit stress changes in drug yield, antioxidant enzymes activity and essential oil quality and quantity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). Industrial Crops and Products. 164, 113-381.
- Mumivand, H., Aghemiri, A., Aghemiri, A., Morshedloo, M. R. and Nikoumanesh, K. (2019). *Ferulago angulata* and *Tetrataenium lasiopetalum*: essential oils composition and antibacterial activity of the oils and extracts. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 22, 101-407.
- Mumivand, H., Babalar, M., Hadian, J. and Tabatabaei, S.M.F. (2010). Influence of nitrogen and calcium carbonate application rates on the minerals content of summer savory (*Satureja hortensis* L.) leaves. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 51, 173-177.
- Najib Zade, T., Yadegari, M.H. and Naghdi Badi, H. (2009). Evaluation antifungal effects of essential oils *Satureja khuzestanica* and *Myrtus communis*. Presented for the M.Sc, Tarbiat Modares university, Tehran.

- Nejad Ebrahimi, S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A. and Yousefzadi, M. (2008). Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food Chemistry. 110, 927-931.
- Nooshkam, A., Mumivand, H., Hadian, J., Alemardan, A. and Morshedloo, M.R. (2017). Drug yield and essential oil and carvacrol contents of two species of *Satureja* (*Satureja khuzistanica* Jamzad and *Satureja rechingeri* Jamzad) cultivated in two different locations. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 6, 126-130.
- Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Tae H, Azimullah Sh, Ojha SK. (2019). Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. Frontiers in Pharmacology. 8, 380
- Nickavar, B., Mojab, F. and Dolat-Abadi., R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. Food Chem. 90, 609-611.
- Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Bapaji, M. and Kole, C.R. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. Microbios. 89, 39-46.
- Pavela, R., Maggi, F., Kamte, S.N., Rakotosaona, R., Rasoanaivo, P., Nicoletti, M. and Benelli, G. (2017). Chemical composition of *Cinnamosma madagascariensis* (Cannellaceae) essential oil and its larvicidal potential against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. South African Journal of Botany. 108, 359-363.
- Pavela, R., Morshedloo, M.R., Mumivand, H., Khorsand, G.J., Karami, A., Maggi, F. and Benelli, G. (2020). Phenolic monoterpene-rich essential oils from Apiaceae and Lamiaceae species: insecticidal activity and safety evaluation on non-target earthworms. Entomologia Generalis. 421-435.
- Perumal, P., Mekala, S. and Chaffin, W.L. (2007). Role for cell density in antifungal drug resistance in *Candida albicans* biofilms. Antimicrob Agents Chemother. 51, 2454-63.
- Pandey, A.K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N.N. and Bajpai, V.K. 2017. Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives. Frontiers in microbiology. 7, 21-61.
- Rahmati, P., Noorbakhsh, F., Pazoki, A. (2020). Effect of *Zataria Multiflora* and *Cinnamomum Verum* essential oils on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. Applied Biology. Volume 10, Issue 39, P 37-54
- Rustaiee, A., Mirahmadi, S., Sefidkon, F., Fakhr Tabatabaei, M. and Omidbaigi, R. (2011). Essential oil content and composition of *Thymus fedtschenkoi* Ronniger at different phenological stages. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 14, 625-629.
- Ranjbar, H., Farzaneh, M., Hadian, J., Mirjalili, M.H. and Sharifii, R. (2008). Antifungal effect of several herbal essential oils on post-harvest disease of fruit strawberry. Pajouhesh & Sazandegi. 21, 54-60
- Safaei, L., Sharifi Ashoorabadi, E. and Afuni, D. (2017). Effect of application of chemical fertilizers, livestock and their integration on the performance of compounds phytochemical essential oil of medicinal herbs *Thymus daenensis* Celak. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 5, 13-24.
- Seneviratne, C.J., Jin, L.J., Samaranayake, Y.H. and Samaranayake, L.P. (2008). Cell density and cell aging as factors modulating antifungal resistance of *Candida albicans* biofilms. Antimicrob agents chemother. 52, 3259-66.
- Sengupta. S., Chattopadhyay, M.K. and Grossart, H.P. (2013). The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Front Microbiol. 4, 47-52.
- Taftian, m. Lotfali, e. Farhadi, s. and Jolehar, j. (2020). Evaluation of antifungal effects of aqueous extract of *Mentha Longifolia* using 0.2% chlorhexidine on clinical isolates of *Candida Albicans* from Oral Cavity of Patients with Leukemia. The Quarterly journal of School of medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences. 44, No.3
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R. and Nogueira. J.M.F. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. Industrial Crops and Products. 43, 587- 595.

- Wright, G.D. (2014). Something new: Revisiting natural products in antibiotic drug discovery. *Can J Microbiol.* 60, 147-54.
- Xiao, s., Cui, p., Shi, w and Zhang, y. (2020). Identification of essential oils with activity against stationary phase *Staphylococcus aureus*. *BMC Complementary Medicine and Therapies.* P 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02898-4>
- Zhang, L.L., Zhang, L.F., Hu, Q.P., Hao, D.L. and Xu, J.G. (2017). Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway. *Food Control.* 80, 290–296.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P. and Quek, S. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control.* 59, 282–289.
- Zhu, y., Li, c., Cui, h., Lin, l. (2021). Encapsulation strategies to enhance the antibacterial properties of essential oils in food system. A Review. *Food Control.* 123, 107-856.



Phytochemical variations of *Perilla frutescens* L. var. *crispa* essential oils in different cultivation areas

Najmeh Abbasi¹, Mohammadhossein Mirjalili^{2*} , Raheleh Ebrahimi¹,
Hasanali Naghdi Badi³, Amir Sahraroo⁴

¹ Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran,

Email: m-mirjalili@sbu.ac.ir

³ Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

⁴ Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Article type:

Research article

Abstract

Perilla frutescens var. *crispa*, a medicinal and aromatic plant belonging to the Lamiaceae family is widely used for the treatment of constipation, asthma, and skin disorders, and also as spice. As climatic, environmental, and edaphological conditions of the plant habitats affect active substances of medicinal plants, quantitative and qualitative changes in the essential oil content and composition of the plants cultivated in the Research Farms of four regions of Iran (Rasht, Noor, Khorramabad, and Neishabour) were evaluated in the present study in 2020. Aerial organs of the plants were collected at the vegetative stage and their essential oils were isolated by hydro-distillation. The essential oils were quantitatively and qualitatively analyzed by gas chromatography (GC) and GC-mass spectrometry (GC-MS). Among the studied areas, the highest and lowest altitudes were Neishabour and Rasht, respectively. The climatic classification of Rasht and Noor was also more similar. The essential oil contents (%w/w) of the plant samples in Rasht, Noor, Neishabour, and Khorramabad were 1.45, 1.33, 1.26, and 1.16, respectively. In total, 28, 27, 25, and 27 compounds were identified in Noor, Rasht, Khorramabad, and Neishabour regions, respectively. (E)-Caryophyllene (42.4-58.7%), α -cadinol (8.2-16.5%), (E)-nerolidol (3.8-9.5%), α -dehydro-elsholtzia ketone (2.1-7.5%), cis-dihydro- α -terpinyl acetate (1.0-7.5%), and egoma ketone (0.2-5.5%) were the major essential oil compounds at different regions. Sesquiterpene hydrocarbons (44.9-61.2%) were the major class of the compounds of essential oils. Cluster analysis based on the essential oil compositions classified the studied areas into two distinct groups. Noor and Rasht were clustered in one group and Khorramabad and Neishabour were clustered in the other group. Results showed that temperate regions are suitable to increase the essential oil contents of the plants, while arid and semi-arid regions can improve the quality of essential oils.

Article history

Received: 07-02-2022

Revised: 12-03-2022

Accepted: 07-04-2022

Keywords

Active substance

Cultivar

Environmental changes

Monoterpene

Perilla frutescens

Sesquiterpene

Cite this article as: Abbasi, N., Mirjalili, M.H., Ebrahimi, R., Naghdi Badi, H., Sahraroo, A. (2023).

Phytochemical survey of *Perilla frutescens* L. var. *crispa* essential oils in different cultivation areas. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 11(1): 17-35.



©The author(s)


Doi: 10.30495/ejmp.2022.1951911.1679

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.2.3



بررسی تنوع فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Perilla frutescens* L. var. *crispa* در مناطق مختلف کشت

نجمه عباسی^۱، محمدحسین میرجلیلی^{۲*} , راهله ابراهیمی^۱، حسنعلی نقدی بادی^۳، امیر صحرارو^۴

۱ گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲ گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران، رایانامه: m-mirjalili@sbu.ac.ir

۳ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران.

۴ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

گیاه *Perilla frutescens* var. *crispa* دارویی و معطر از تیره نعنائیان است که امروزه مصارف متعددی از جمله رفع یبوست، درمان آسم، ضدپیری، مراقبت از پوست و طعم دهنده دارد. با توجه به تاثیر شرایط اقلیمی محل رویش بر مقدار مواد موثره گیاهان دارویی، در این مطالعه، تغییر در محتوی و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه کشت شده در مزارع تحقیقاتی چهار منطقه از کشور (رشت، نور، خرم‌آباد و نیشابور) در سال ۱۳۹۹ ارزیابی شد. اندام هوایی گیاه در مرحله رویشی جمع‌آوری و اسانس آن به روش تقطیر با آب بدست آمد. اندازه‌گیری کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی اسانس با استفاده از گازکروماتوگرافی و گازکروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی انجام شد. در بین مناطق مورد مطالعه نیشابور و رشت به ترتیب از بیشترین و کمترین ارتفاع از سطح دریا و از نظر طبقه‌بندی اقلیمی نیز، دو منطقه رشت و نور دارای تشابه بیشتری بودند. محتوای اسانس به ترتیب ۱/۴۵، ۱/۳۳، ۱/۲۶ و ۱/۱۶ درصد وزنی به وزنی برای گیاهان کشت شده در رشت، نور، نیشابور و خرم‌آباد بدست آمد. همچنین در مجموع ۲۸، ۲۷، ۲۵ و ۲۷ ترکیب به ترتیب در اسانس گیاهان کشت شده در مناطق نور، رشت، خرم‌آباد و نیشابور شناسایی شدند. (ای)-کاریوفیلین^۱ (۴۲/۵۸-۴/۷ درصد)، آلفا-کادینول^۲ (۲/۵-۸/۱۶ درصد)، (ای)-نزولیدول^۳ (۳/۹-۸/۵ درصد)، آلفا-دهیدرو-الشولتزیا کتون^۴ (۲/۷-۱/۵ درصد)، سیس-دی‌هیدرو-آلفا-ترپینیل استات^۵ (۱/۷-۰/۵ درصد) و اِگوما کتون^۶ (۲/۵-۰/۵ درصد) ترکیبات غالب در اسانس گیاه کشت شده در مناطق مختلف بودند. سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنه (۶۱/۲-۴۴/۹ درصد) بخش غالب نمونه‌های اسانس را به خود اختصاص دادند. آنالیز کلاستر بر اساس ترکیبات شیمیایی اسانس، مناطق مورد مطالعه را در دو زیرخوشه گروه‌بندی کرد، به طوری که مناطق نور و رشت در یک زیرگروه و مناطق خرم‌آباد و نیشابور در گروه دیگر قرار گرفتند. نتایج نشان داد، مناطق با اقلیم معتدل برای بهبود کمیت اسانس و مناطق خشک و نیمه‌خشک در افزایش کیفیت اسانس گیاه مناسب هستند.

واژه‌های کلیدی:

اقلیم
Perilla frutescens
تغییرات محیطی
سزکوئی‌ترین
کاریوفیلین
مونوترپن

استناد: عباسی، نجمه؛ میرجلیلی، محمدحسین؛ ابراهیمی، راهله؛ نقدی بادی، حسنعلی؛ صحرارو، امیر. (۱۴۰۲). بررسی تنوع فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Perilla frutescens* L. var. *crispa* در مناطق مختلف کشت. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۳۵-۱۷.

Doi: 10.30495/ejmp.2022.1951911.1679
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.2.3

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان



1. (*E*)-caryophyllene
2. α -cadinol
3. (*E*)-nerolidol
4. α -Dehydro-elsholtzia ketone
5. *cis*-Dihydro- α -terpinyl acetate
6. Egoma ketone

مقدمه

مورد برخی گونه‌های دارویی و معطر بومی و غیر

بومی ایران بررسی شده است (Baharmast et al., 2021; Mirjalili et al., 2021; Heydari et al., 2019; Razazi et al., 2021; Yavari 2022).

Perilla frutescens L. var. *crispa* گیاهی علفی، یک‌ساله، خودگشن، روزکوتاه و معطر از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است (Jin-hua et al., 2012; Rouphael et al., 2015). این گیاه با ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر، ساقه‌های چهارگوش، برگ‌های متقابل و به‌طور معمول تخم‌مرغی شکل با حاشیه دندانه‌دار و به رنگ سبز تا سبز تیره و تا قرمز و بنفش کرک‌دار می‌باشد که عموماً در فضای سبز پرورش داده می‌شود (Kang et al., 2020). *P. frutescens* var. *crispa* یک گیاه حساس به سرما است و در خاک‌های حاصلخیز و مرطوب با زهکشی خوب، در محل‌های آفتابی و نیمه‌آفتابی به‌خوبی رشد می‌کند (Meng et al., 2009; Dimita et al., 2022). تکثیر این گیاه به‌راحتی از طریق کشت بذر انجام می‌شود (Anjula Pandey and Bhatt, 2008). این گیاه بومی شرق آسیا بوده و در کشورهای آسیایی مانند هند، چین، ژاپن، ویتنام، تایلند، تایوان و کره به‌طور عمده کشت می‌شود (Rouphael et al., 2015; Lu et al., 2013; Li et al., 2020; Sharma et al., 2022). اما به‌دلیل وجود ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف؛ امروزه در بیشتر کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی برای مصارف دارویی، آرایشی و غذایی مورد کشت و کار قرار می‌گیرد (Nina et al., 2014). تاکنون ترکیبات مختلفی شامل فنول‌ها^۱، آنتوسیانیدین^۲، لوتئولین^۳، آپی‌ژنین^۴، کاتچین^۵ و اسید رزمارینیک^۶ از این گیاه استخراج

گیاهان دارویی و معطر با دارا بودن ترکیبات فعال بیولوژیکی به‌طور گسترده در صنایع مختلف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شوند (Omidbaigi, 2007). تنوع و پراکنش این گیاهان بر اساس شرایط اقلیمی و جغرافیایی هر منطقه و حوزه اکولوژیکی متفاوت است. در سال‌های اخیر، گرایش به استفاده از این گیاهان و فرآورده‌های آن‌ها در بین جوامع مختلف بطور چشمگیری افزایش یافته است. برای تامین تقاضای جهانی، امروزه بخش قابل توجهی از این گیاهان از رویشگاه‌های طبیعی برداشت می‌شود که ذخایر ژنتیکی بسیاری از آن‌ها با خطر نابودی مواجه است (Ghanbari et al., 2014). بنابراین، معرفی این گیاهان در عرصه‌های کشت، یکی از گام‌های اولیه و اصلی در تامین مواد گیاهی و تجاری‌سازی آن‌ها می‌باشد (Lotfi et al., 2021).

علاوه بر ژنتیک، شرایط محیطی و خصوصیات خاک از جمله فاکتورهای موثر بر نوع و مقدار مواد موثره گیاهان دارویی و معطر می‌باشند. تأثیر شرایط رویشگاهی و زراعی بر گیاهان دارویی و اسانس دار متفاوت است و همواره باید با تحقیقات مناسب به بررسی نقش این عوامل بر رشد و نمو و مواد موثر آن‌ها پرداخت. نور، درجه حرارت، بارندگی، طول روز، عرض جغرافیایی، خصوصیات خاک، ارتفاع از سطح دریا و همچنین تغذیه از مهم‌ترین عوامل موثر بر کمیت و کیفیت مواد موثره از جمله اسانس در گیاهان معطر است (Omidbaigi, 2007; Arianfar et al., 2018; Heydari et al., 2019). با معرفی و وارد کردن گونه‌های دارویی و معطر به سیستم‌های زراعی و شناسایی عوامل محیطی موثر بر رشد و نمو و بیوستز مواد موثره آنها، امکان الگوبرداری از اطلاعات به‌دست آمده و استفاده از آن‌ها در توسعه کشت این گیاهان فراهم خواهد شد. اهمیت این موضوع در

1. Phenols
2. Anthocyanidin
3. Luteolin
4. Apigenin
5. Catechin
6. Rosmarinic acid

شیمیایی اسانس این گیاه با توجه به تنوع، عوامل جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و زمان کاشت و برداشت متفاوت است. با این حال، برای وارته بنفش آن، اغلب پریل آلدهاید^۴ به عنوان ترکیب عمده اسانس گزارش شده است (Chang et al., 2014; Tian et al., 2014). در تحقیقی، از روش دی اکسید کربن فوق بحرانی، برای استخراج اسانس از برگ های گیاه استفاده شد. بازده اسانس و چهار ترکیب اصلی، لیمونن^۵، پریل آلدهاید، بتا-کاربوفیلن^۶ و آلفا (سیس و ترانس)-فارنزن^۷ در این روش بیشتر از روش تقطیر با آب بود (Wei et al., 2021).

هم اکنون، گیاه *P. frutescens* در نقاط مختلف جهان به طور گسترده ای در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می گیرد، اما در ایران، کشت سازمان یافته ای برای این گیاه وجود ندارد و با وجود مصارف و کاربرد متنوع آن در جهان، همچنان یک محصول کم مصرف و ناشناخته در کشور به شمار می رود. تاکنون مطالعات محدودی بر روی این گیاه در ایران انجام شده است. در مطالعه ای که به منظور بررسی کاربرد کودهای شیمیایی، آلی و زیستی روی این گیاه انجام گرفته؛ در بین تیمارهای منفرد کودهای مورد مطالعه، سطح ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی و در بین کودهای آلی اسید هیومیک نقش بارزتری در بهبود شاخص های مورد مطالعه داشته اند، اما کود زیستی تنها در تلفیق با کودهای دیگر نقش مؤثرتری نشان داده است (Ghane et al., 2018).

وجود تنوع بسیار بالای اکولوژیکی از یک سو و رویکرد گسترده عموم مردم به استفاده از گیاهان دارویی و طب سنتی از سوی دیگر، نشان دهنده لزوم تحقیقات گسترده در زمینه اهلی سازی گیاهان

شناسایی شده است (Meng et al., 2009; Chen et al., 2014; Shen et al., 2014; al., 2022). وارته بنفش به دلیل مقدار زیاد آنتوسیانین^۱، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی است (Kang and Lee, 2011; Ahmed, 2018; Zhao et al., 2022). عصاره بذر گیاه به منظور جلوگیری از پوسیدگی دندان و ضد التهاب نیز کاربرد دارد (Ahmed and Tavaszi-Sarosi, 2019).

این گیاه به عنوان یک محصول تجاری دانه روغنی در کشورهای ژاپن، کره و شمال هند (Negi et al., 2014; Duan et al., 2022) و در مناطقی از اروپا، روسیه و ایالات متحده کشت می شود (Nitta et al., 2005). بر اساس مطالعات صورت گرفته کشت وارته *P. frutescens* var. *frutescens* از ۳۵۰۰ سال قبل از میلاد در کره مرسوم بوده است (Li and Kim, 2021). همچنین کشت این گیاه برای تأمین شهد و دانه گرده جهت پرورش زنبور عسل و تولید عسل بسیار موثر تشخیص داده شده است (Consonni et al., 2012). خصوصیات شیمیایی و کیفی روغن بذر گیاه از نظر ارزش غذایی نیز گزارش شد (Asif, 2012; Duan et al., 2022).

اسانس، به عنوان یک ماده فعال زیستی مهم در برگ های گیاه *P. frutescens* در مناطق مختلف جهان گزارش شده است (Ahmed and Tavaszi-Sarosi, 2019). در پژوهشی محققین، ۱۴۲ ترکیب فرار شامل متیل بنزوات و لیمونن به عنوان ترکیبات غالب در اسانس این گیاه را شناسایی و گزارش کردند (Lee et al., 2019). در تحقیق دیگری، اسانس قسمت های هوایی این گیاه در ترکیه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و پریلایکتون^۲ (۳۵/۶ درصد) و ایزوآگوماکتون^۳ (۳۵/۱ درصد) به عنوان اجزای اصلی آن گزارش شد (Baser et al., 2003). ترکیبات

4. Perillaldehyde
5. Limonene
6. β -Caryophyllene
7. Farnesene

1. Anthocyanin
2. Perilla ketone
3. Isoegoma ketone

دارویی در مناطق مختلف ایران می‌باشد. کشت و تولید گیاهان دارویی وسیله‌ای برای تأمین نیازهای روزافزون ترکیبات دارویی آینده و حال می‌باشد (Siddique and Anis, 2011). با توجه به اهمیت تجاری و اثرات درمانی گیاه مورد مطالعه و همچنین اثر اقلیم‌های مختلف بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه (Sharma et al., 2022) تحقیق حاضر با هدف بررسی کشت و مطالعه درصد، عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه در چهار منطقه کشت در ایران انجام شده است. نتایج این تحقیق می‌تواند برای توسعه کشت و تولید این گیاه در ایران مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مشخصات مناطق مورد مطالعه: چهار منطقه

جغرافیایی مختلف در کشور بر اساس نوع اقلیم شامل نیشابور (استان خراسان رضوی)، خرم‌آباد (استان لرستان)، رشت (استان گیلان) و نور (استان مازندران) برای کشت گیاه در سال ۱۳۹۹ انتخاب شدند. در هرکدام از این مناطق، گیاه *P. frutescens var. crispa* در سه کرت به ابعاد ۲×۲ متر کشت شد. این مناطق شامل مزارع تحقیقاتی در شهر نور (مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع چمستان)، مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی لرستان، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان و دانشگاه پیام نور نیشابور بودند. طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با استفاده از سیستم موقعیت‌یاب جغرافیایی ثبت گردید (جدول ۱). اطلاعات ده‌ساله هواشناسی مناطق مورد مطالعه نیز از سازمان هواشناسی کشور تهیه شد (جدول ۲).

جدول ۱: موقعیت و مشخصات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه برای کشت گیاه

منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
نیشابور	۵۸° ۴۸'	۳۶° ۱۶'	۱۲۱۳
خرم‌آباد	۴۸° ۲۱'	۲۳° ۲۹'	۱۰۸۰
رشت	۴۹° ۳۹'	۳۷° ۱۲'	۳۶۷
نور	۵۲° ۲۸'	۳۶° ۴۶'	۵۵

جدول ۲: خصوصیات آب و هوایی مناطق مورد مطالعه

منطقه	مجموع بارندگی سالانه (میلی‌متر)	دمای سالانه (درجه سانتی‌گراد)			سردترین ماه	گرم‌ترین ماه
		متوسط	متوسط حداقل	متوسط حداکثر		
نیشابور	۲۳۷/۶	۱۳/۹	۷/۱	۲۲/۵	تیر	دی
خرم‌آباد	۵۱۴/۳	۱۷/۲	۹/۱	۲۵/۳	تیر	دی
رشت	۱۳۵۲	۱۵/۸	۲/۸	۲۶/۶	مرداد	دی
نور	۱۲۹۳/۵	۱۶/۴	۳/۹	۲۸/۷	مرداد	دی

با استفاده از اطلاعات اخذ شده از سازمان هواشناسی، اقلیم هر یک از مناطق مورد مطالعه تعیین شد (جدول ۳).

جدول ۳: طبقه‌بندی اقلیمی - مناطق مورد مطالعه

منطقه	دومارتین	آمبرژه	کوپن	ایوانف	کریمی
نیشابور	خشک	خشک سرد	خشک سرد	بیابانی	نیمه مرطوب با تابستان گرم و زمستان سرد
خرم‌آباد	نیمه‌خشک مدیترانه‌ای	نیمه مرطوب سرد	معتدل سرد	استپ جنگلی	نیمه مرطوب با تابستان گرم و زمستان معتدل
رشت	بسیار مرطوب	مرطوب معتدل	معتدل	بسیار مرطوب جنگلی	بسیار مرطوب
نور	بسیار مرطوب	نیمه مرطوب معتدل	معتدل	مرطوب جنگلی	مرطوب با تابستان گرم و زمستان کمی سرد

به منظور انجام مطالعات خاکشناسی در هر یک از مناطق با حفر پروفیل در مرکز هر کرت، سه نمونه خاک از عمق ۰-۱۵ و ۱۵-۳۰ سانتی‌متر برداشت و با هم مخلوط گردید و نمونه ترکیبی بدست آمده به

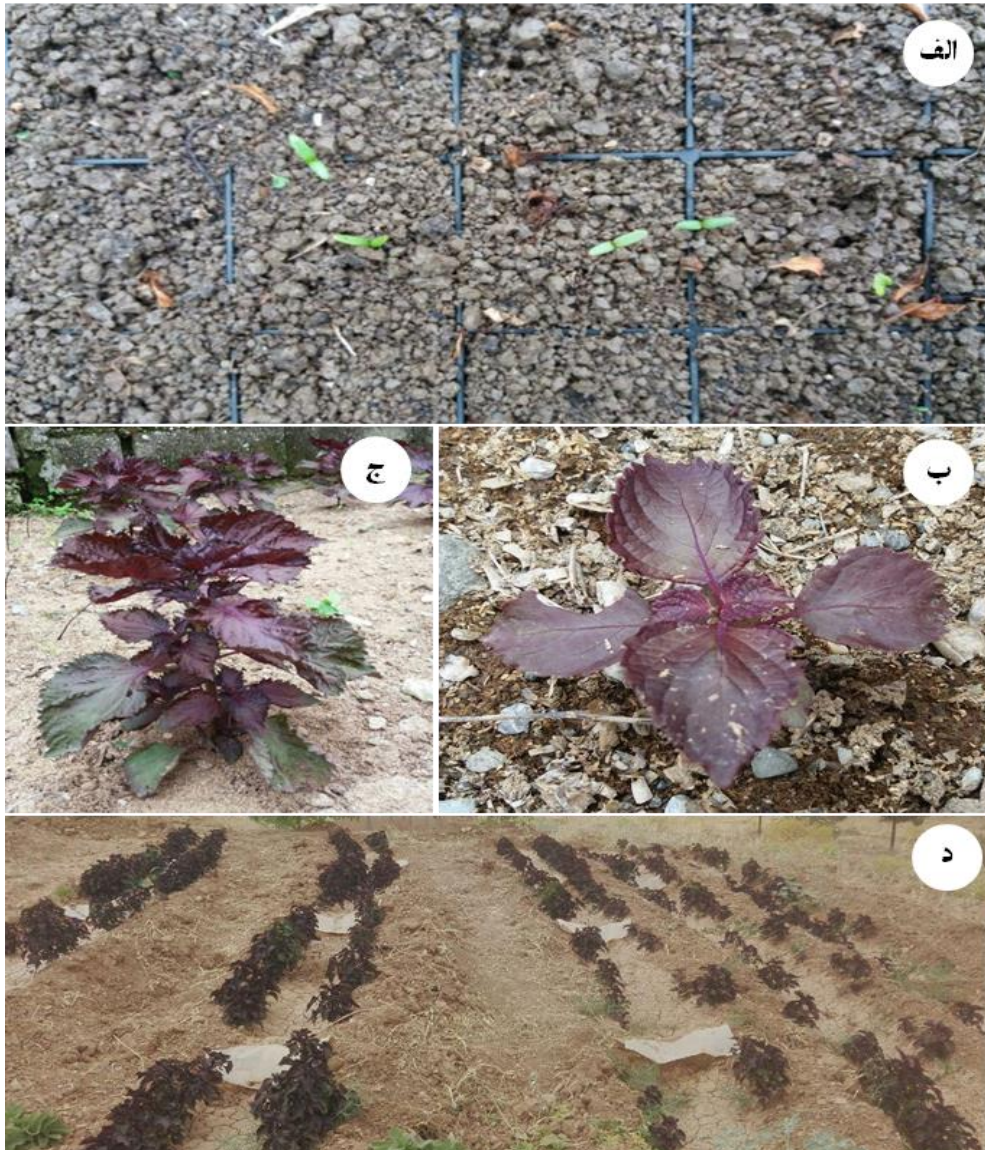
آزمایشگاه خاکشناسی انتقال یافت و خصوصیات مختلف خاک شامل نوع بافت، اسیدیته، EC، میزان عناصر نیتروژن، پتاسیم، فسفر، ماده آلی، آهن و مس اندازه‌گیری شدند (جدول ۴).

جدول ۴: برخی خصوصیات خاک مناطق مورد مطالعه

مشخصات خاک	نیشابور	خرم‌آباد	رشت	نور	نام منطقه کشت
بافت خاک	لومی شنی	لومی رسی	لومی رسی	لومی	
اسیدیته (pH)	۷/۴۲	۸/۱۵	۶/۱۹	۶	
هدایت الکتریکی (ds/m)	۰/۶۶	۰/۶۱	۰/۱۳	۰/۵۲	
پتاسیم (ppm)	۳۶۳	۲۸۵	۱۴۷/۷۹	۱۴۲	
فسفر (ppm)	۱۹/۵۵	۸/۴	۲۵	۶	
نیتروژن (درصد)	۰/۶۲	۰/۲۲	۰/۸۵	۰/۳۸	
ماده آلی (درصد)	۱/۵۵	۱/۲۳	۸/۴۷	۹/۹۲	
آهن (mg/Kg)	۴/۳۰	۲/۶۲	۲/۱۴	۳/۲۵	
مس (mg/Kg)	۱/۱۲	۰/۵۴	۱/۲۲	۱/۳۶	

روش نمونه‌برداری و مطالعه صفات مورد مطالعه: با توجه به دوره رشد رویشی طولانی این گیاه، ۱۰۰ روز پس از کاشت گیاه در مناطق مختلف، در مرحله رشد رویشی اقدام به نمونه‌برداری (۱۰ گیاه از هر منطقه با حذف اثر حاشیه‌ای منطقه کشت) از گیاهان شد. نمونه‌های گیاهی سپس در هوای آزاد و در شرایط سایه‌خشک شده و برای جداسازی اسانس مورد استفاده قرار گرفتند.

کشت بذر و انتقال گیاه به زمین: با توجه به اقلیم‌های مختلف مناطق مورد مطالعه، بذرهای گیاه در بازه زمانی ۱۵ اسفند ۱۳۹۷ تا اول فروردین ۱۳۹۸ کشت شدند. برای این منظور ابتدا، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شده و سپس به سینی کاشت منتقل شدند که پس از ۱۲ الی ۱۶ روز، بذرها جوانه زدند (شکل ۱ الف). گیاهان سپس در مرحله چهار برگی به زمین اصلی منتقل شده و تا زمان برداشت بطور منظم آبیاری و نگهداری شدند (شکل ۱ ب تا د).



شکل ۱: سینی کاشت بذر برای تولید نشاء (الف)، نشاء گیاه منتقل شده به زمین پس از استقرار (ب)، مرحله برداشت گیاه برای استخراج اسانس (ج)، نمای کلی از کشت *Perilla frutescens* var. *crispa* در زمین اصلی (د)

کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی با ستون DB-5 به قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. شناسایی ترکیبات اسانس به کمک محاسبه شاخص بازداری، مطالعه طیف جرمی و مقایسه آن با ترکیبات استاندارد و اطلاعات کتابخانه (Wiley, Adams, 2007) دستگاه صورت گرفت. میزان ترکیبات با توجه به سطح زیر پیک ارزایی و محاسبه گردید.

اسانس‌گیری و شناسایی ترکیبات اسانس: استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه اسانس‌گیری کلونجر بر اساس فارماکوپه بریتانیا صورت گرفت. برای این منظور ۱۰۰ گرم از اندام هوایی خشک و آسیاب شده گیاه به مدت ۳ ساعت در دستگاه کلونجر اسانس‌گیری انجام شد.

آنالیز اسانس‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل CP-3800 مجهز به ستون DB-5 به طول ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر و دستگاه

نرولیدول^۳ (۳/۹-۸/۵ درصد)، آلفا-دهیدرو-الشولتزیا کتون^۴ (۲/۷-۱/۵ درصد)، سیس-دی هیدرو-آلفا-ترپینیل استات^۵ (۱/۷-۰/۵ درصد) و آگوما کتون^۶ (۲/۵-۰/۵ درصد) به عنوان ترکیبات غالب در اسانس گیاه کشت شده در مناطق مختلف شناسایی شدند. ترکیبات پریلا کتون^۷ و پریلا آلدهاید به ترتیب در اسانس گیاهان کشت شده در مناطق خرم‌آباد و رشت مشاهده نشد. گروه‌بندی ترکیبات اسانس مناطق مختلف نشان داد که غالب ترکیبات اسانس گیاه در این مناطق سزکوئی‌ترین بودند که از ۶۳/۱ تا ۸۷/۷ درصد متغیر بود. از این گروه بیشترین مقدار (۶۱/۲-۴۴/۹ درصد) مربوط به سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنی و بقیه آن (۲۶/۵-۱۸/۲ درصد) سزکوئی‌ترین‌های اکسیژن‌دار بودند. همچنین ۱۰/۸ تا ۲۳/۵ درصد از کل ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه در این مناطق مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بودند. دی‌ترین‌ها (۲/۶-۰/۹ درصد) و هیدروکربن‌های آلیفاتیک (۴-۱/۸ درصد) سایر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نمونه‌های گیاهی بودند (جدول ۵).

تجزیه کلاستر: برای گروه‌بندی مناطق مورد مطالعه و شناسایی تیپ شیمیایی گیاهان کشت شده در این مناطق، آنالیز کلاستر بر اساس ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس انجام شد. بر این اساس، در فاصله اقلیدسی حدود ۲۰، نمونه‌های مورد مطالعه در دو گروه قرار گرفتند (شکل ۲). گروه اول شامل شهرهای رشت و نور با فاصله کمتر (حدود ۵) و گروه دوم شامل شهرهای نیشابور و خرم‌آباد با فاصله بیشتر (حدود ۱۱) بود (شکل ۲).

آنالیز آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای مشخص کردن کموتایپ‌های مختلف مناطق از گروه‌بندی بر اساس تجزیه کلاستر استفاده شد. در این مطالعه تجزیه کلاستر بر اساس روش WARD و با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج

محتوی و عملکرد اسانس در مناطق مورد مطالعه:

محتوای اسانس به ترتیب ۱/۴۵، ۱/۳۳، ۱/۲۶ و ۱/۱۶ درصد وزنی به وزنی برای گیاهان کشت شده در رشت، نور، نیشابور و خرم‌آباد بدست آمد (جدول ۵). بیشترین عملکرد اسانس در منطقه رشت (۱۸/۸۳ گرم در مترمربع) و کمترین میزان آن در منطقه نیشابور (۱۴/۱۱ گرم در مترمربع) حاصل شد. در منطقه نور و خرم‌آباد به ترتیب عملکرد اسانس ۱۷/۰۲ گرم در مترمربع و ۱۶/۱۶ گرم در مترمربع اندازه‌گیری شد (جدول ۵).

ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس: ترکیبات شیمیایی

اسانس گیاهان کشت شده در مناطق مورد مطالعه با استفاده از گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی مورد شناسایی و اندازه‌گیری قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۵ ارائه شده است. در مجموع ۲۸، ۲۷، ۲۵ و ۲۷ ترکیب در اسانس نمونه‌های گیاه در مناطق نور، رشت، خرم‌آباد و نیشابور شناسایی شدند که به ترتیب ۹۷/۸، ۹۷/۹، ۹۸/۲ و ۹۸/۳ درصد کل اسانس را تشکیل دادند. تعداد ۲۴ ترکیب مشترک در نمونه اسانس همه مناطق وجود داشت. ترکیبات (ای)-کاریوفیلین^۱ (۴/۷-۴۲/۵۸ درصد)، آلفا-کادینول^۲ (۲/۵-۸/۱۶ درصد)، ای-

3. (E)-nerolidol
4. α -dehydro-elsholtzia ketone
5. cis-dihydro-a-terpinyl acetate
6. Egoma ketone
7. Perilla ketone

1. (E)-caryophyllene
2. α -cadinol

جدول ۵: ارزیابی و مقایسه کمیّت و کیفیت اسانس گیاه *Perilla frutescens* var. *crispa* در مناطق مختلف

ردیف	ترکیب	شاخص بازداری محاسبه شده	شاخص بازداری کتابخانه‌ای	منطقه کشت			
				نور	رشت	خرم‌آباد	نیشابور
۱	1-octen-3-ol	۹۶۹	۹۷۲	۰/۲	۰/۷	۰/۴	۲/۲
۲	Rosefuran	۱۰۸۸		۱/۰	۱/۰	۰/۵	۰/۹
۳	Linalool	۱۰۹۳	۱۰۹۵	۰/۳	۰/۳	۱/۳	۲/۷
۴	Elsholtzia ketone	۱۱۹۷	۱۲۰۲	۰/۱	۰/۱	۲/۰	۱/۵
۵	α -dehydro-Elsholtzia ketone	۱۲۱۳	۱۲۱۷	۴/۸	۴/۵	۷/۵	۲/۱
۶	(3E)-Decen-2-one	۱۲۲۵	۱۲۳۴	۰/۴	۰/۴	-	-
۷	Perilla ketone	۱۲۳۸	۱۲۴۵	۰/۲	۰/۱	-	۰/۱
۸	Perilla aldehyde	۱۲۶۵	۱۲۶۹	۰/۳	-	۰/۲	۰/۷
۹	cis-dihydro- α -Terpinyl acetate	۱۳۰۳	۱۳۱۶	۱/۰	۰/۸	۴/۸	۷/۵
۱۰	Egoma ketone	۱۳۱۶		۰/۲	۰/۲	۵/۵	۳/۴
۱۱	dihydro-Eugenol	۱۳۶۴	۱۳۶۶	۳/۱	۳/۸	۱/۷	۲/۸
۱۲	α -Copaene	۱۳۷۲	۱۳۷۴	۰/۲	۰/۳	۲/۲	۰/۱
۱۳	(E)-Caryophyllene	۱۴۱۴	۱۴۱۷	۵۸/۷	۵۴/۳	۴۹/۹	۴۲/۴
۱۴	α -Humulene	۱۴۴۵	۱۴۵۲	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۱/۵
۱۵	trans-Cadina-1(6),4-diene	۱۴۷۳	۱۴۷۵	۱/۲	۱/۷	۱/۰	۰/۲
۱۶	γ -Muuroleone	۱۴۷۷	۱۴۷۸	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
۱۷	(E,E)- α -Farnesene	۱۴۹۵	۱۵۰۵	۰/۴	۰/۳	-	۰/۲
۱۸	δ -Cadinene	۱۵۱۴	۱۵۲۲	۰/۳	۰/۲	۰/۱	۰/۳
۱۹	(E)-Nerolidol	۱۵۵۶	۱۵۶۱	۳/۸	۴/۹	۶/۳	۹/۵
۲۰	Spathulenol	۱۵۷۴	۱۵۷۷	۰/۵	۰/۹	۰/۶	۰/۸
۲۱	Ledene oxide-(II)	۱۶۰۱		۰/۶	۰/۶	۰/۹	۱/۵
۲۲	β -Cedren-9-one	۱۶۲۸	۱۶۳۰	۰/۱	۰/۳	۰/۷	۰/۵
۲۳	α -Cadinol	۱۶۴۷	۱۶۵۲	۱۵/۵	۱۶/۵	۸/۶	۸/۲
۲۴	14-hydroxy- α -Muuroleone	۱۷۶۹	۱۷۷۹	۰/۹	۱/۴	۰/۶	۲/۷
۲۵	(2Z,6E)-Farnesyl acetate	۱۸۱۷	۱۸۲۱	۱/۵	۱/۹	۰/۵	۱/۹
۲۶	Neophytadiene	۱۸۸۵		۰/۴	۰/۸	۰/۲	۱/۴
۲۷	Methyl hexadecanoate	۱۹۱۰		۱/۲	۰/۹	۱/۵	۱/۸
۲۸	Phytol	۱۹۳۵	۱۹۴۲	۰/۵	۰/۷	۰/۹	۱/۲
	Monoterpene hydrocarbons			۱۱/۰	۱۰/۸	۲۳/۵	۲۱/۷
	Sesquiterpene hydrocarbons			۶۱/۲	۵۷/۱	۵۳/۵	۴۴/۹
	Oxygenated sesquiterpenes			۲۲/۹	۲۶/۵	۱۸/۲	۲۵/۱
	Diterpenes			۰/۹	۱/۵	۱/۱	۲/۶
	Others			۱/۸	۲/۰	۱/۹	۴/۰
	Total identified			۹۷/۸	۹۷/۹	۹۸/۲	۹۸/۳
	Essential oil content (% w/w)			۱/۳۳	۱/۴۵	۱/۱۶	۱/۲۶
	Essential oil yield (g/m ²)			۱۷/۰۲	۱۸/۸۳	۱۶/۱۶	۱۴/۱۱

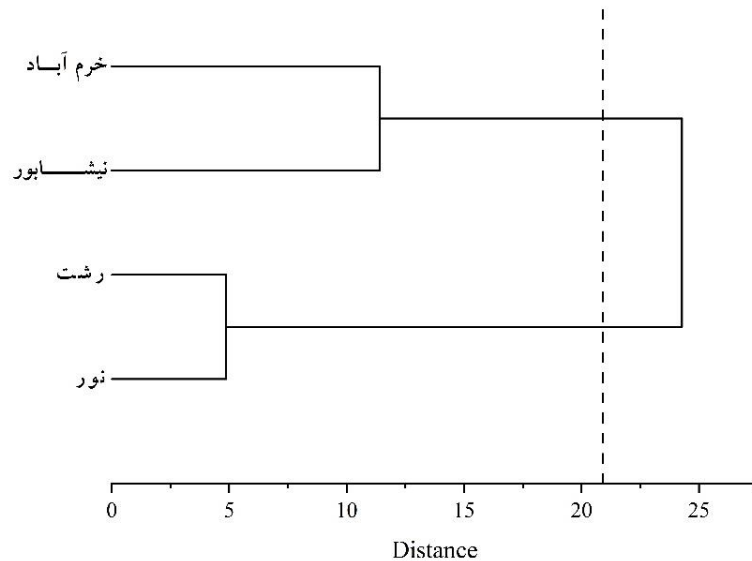
آلفا-کوپائن^{۱۲}، آلفا-هومولن^{۱۳}، لیدن اکسید (II)^{۱۴}، بتا-سدرن-۹-وان^{۱۵}، ۱۴-هیدروکسی-آلفا-مورولن^{۱۶}، نئوفیتادین^{۱۷}، متیل هگزا دکانوات^{۱۸}، (ای)-نرولیدول و فیتول^{۱۹} غنی تر بودند. از طرف دیگر می توان نتیجه گرفت که مناطقی با دمای کمتر، میزان بارندگی کمتر و اقلیم خشک و نیمه خشک از نظر اکثر ترکیبات اسانس بهتر بوده و دارای مقادیر بیشتری از دی ترپن ها، مونوترپن های اکسیژن دار و سایر ترکیبات بودند.

بر اساس این آنالیز می توان بیان کرد اقلیم منطقه، میزان بارندگی، ارتفاع از سطح دریا و دمای منطقه ریش بر میزان ترکیبات اسانس تأثیر معنی داری دارد. همچنین میزان ترکیبات خاک نیز تأثیر معنی داری بر کیفیت و کمیت اسانس دارد. بدین صورت که مناطق با مقدار مس، فسفر و نیتروژن بیشتر، اما پتاسیم و آهن کمتر، همچنین ترکیبات آلی بیشتر، گیاه *P. frutescens* var. *crispa* با مقدار سزکوئی ترپن های اکسیژن دار و سپس سزکوئی ترپن های هیدروکربنه بیشتر خواهند داشت؛ اما مناطقی که از نظر ترکیبات خاک ذکر شده در بالا به صورت برعکس باشند دارای گیاهانی هستند که مقادیر سزکوئی ترپن های اکسیژن دار و دی ترپن های بیشتری دارند. مناطقی که از نظر اقلیمی در نواحی خشک و نیمه خشک کشور باشند و میزان بارندگی کم تا خیلی کم دارند از نظر کیفیت اسانس در سطح بالاتری هستند. این مناطق احتمالاً در طول جغرافیایی بیشتر و عرض جغرافیایی کمتر واقع شده اند و از نظر دمایی سردتر می باشند.

گروه اول دارای عرض جغرافیایی بیشتر، ارتفاع از سطح دریا کمتر، میزان بارندگی سالانه بیشتر، دمای گرم تر، pH و EC کمتر، میزان فسفر، نیتروژن، ماده آلی و مس بیشتر بودند. این مناطق از نظر شاخص های دومارتن و ایوانف جزو مناطق مرطوب و بسیار مرطوب و از نظر شاخص کوپن و آمبرژه جزو مناطق معتدل هستند. تجزیه اسانس این مناطق نشان داد که به طور کلی این مناطق مقادیر بیشتری از ترکیبات رزفوران^۱، (۳ای)-دکن-۲-وان^۲، پریلا کتون، دی هیدرو-اوژنول^۳، (ای)-کاریوفیلن، ترانس-کادینا-۱(۶)، ۴-دین^۴، (ای، ایی)-آلفا-فارنزن^۵، سیگما-کادین^۶، آلفا-کادینول^۷ و (۲د، ۳ای)-فارنزیل استات^۸ داشتند همچنین می توان گفت این گونه مناطق که آب و هوایی معتدل و رطوبت بالایی دارند از نظر ترکیبات سزکوئی ترپن های هیدروکربنه و اکسیژنه غنی تر می باشند. گروه دوم نیشابور و خرم آباد که بر اساس شاخص های کوپن و آمبرژه جزو مناطق سرد هستند. همچنین از نظر شاخص دومارتن، این مناطق در دسته مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارند. این مناطق همچنین دارای طول جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، pH، EC، پتاسیم و آهن بیشتری هستند، همچنین دمای سردتری نسبت به گروه اول دارند. این مناطق از نظر ترکیبات ۱-اکتن-۳-آل^۹، لینالول^{۱۰}، الشولتزیا کتون^{۱۱}، آلفا-دهیدرو-الشولتزیا کتون، پریلا آلدئید، سیس-دی هیدرو-آلفا-ترپینیل استات، آگوما کتون،

1. Rosefuran
2. (3E)-Decen-2-one
3. dihydro-Eugenol
4. trans-Cadina-1(6),4-diene
5. (E,E)-α-Farnesene
6. δ-Cadinene
7. α-Cadinol
8. (2Z,6E)-Farnesyl acetate
9. 1-octen-3-ol
10. Linalool
11. Elsholtzia ketone

12. α-Copaene
13. α-Humulene
14. Ledene oxide-(II)
15. β-Cedren-9-one
16. 14-Hydroxy-α-Muurolene
17. Neophytadiene
18. Methyl hexadecanoate
19. Phytol



شکل ۲: تجزیه کلاستر (ward) بر اساس اجزای اسانس و تشخیص کموتایپ‌های مختلف

گیاه *Perilla frutescens* var. *crispa*

و سیگما کادینن دارند، درحالی‌که مقادیر آلفا-کوپائن و آلفا-دهیدرو-الشولتزیا کتون در آن‌ها کمتر است. دومین مؤلفه همبستگی مثبت و بالایی با میزان سیس-دی هیدرو-آلفا-ترپینیل استات و متیل هگزا دکانوات همچنین همبستگی منفی و بالا با (۱۳ای)-دکن-۲-وان، آلفا-کادینول، (ای)-کاریوفیلین و ترانس-کادینا-۱(۶)، ۴-دین داشت (شکل ۳)؛ بنابراین انتخاب بر اساس مقادیر بیشتر مؤلفه دوم موجب انتخاب اکوتیپ‌هایی می‌شود که مقادیر بیشتری از سیس-دی هیدرو-آلفا-ترپینیل استات و متیل هگزا دکانوات دارند (شکل ۳).

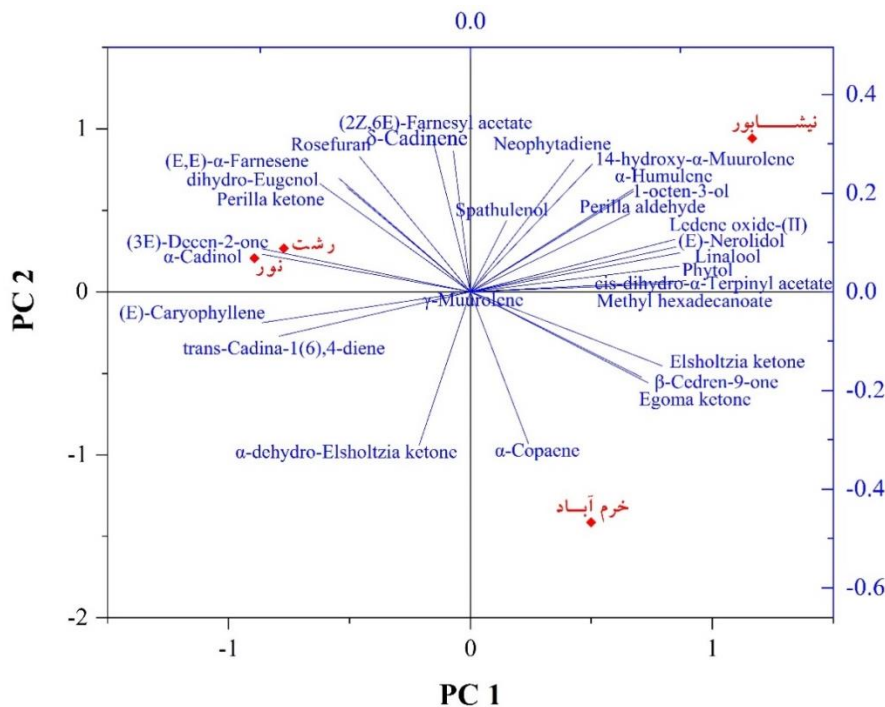
در بای‌پلات ترسیم‌شده بر مبنای مؤلفه‌های اصلی اول و دوم (شکل ۲)، مناطق مورد مطالعه به گروه‌هایی تقسیم شدند. بر اساس نتایج بای‌پلات به نظر می‌رسد که گیاهان کشت‌شده در دو منطقه رشت و نور با گیاهان سایر مناطق کشت متفاوت بوده و کاملاً از سایرین جدا شدند. گیاهان کشت‌شده در منطقه نیشابور و خرم‌آباد هرکدام در موقعیت متفاوتی در بای‌پلات نسبت به اجزای اسانس قرار گرفتند.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی: به منظور ارزیابی دقیق‌تر مناطق مورد مطالعه و همچنین رابطه بین اجزای اسانس، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از ترکیبات اسانس و مناطق مورد مطالعه انجام شد. سپس با رسم بای‌پلات دو مؤلفه اول، ارتباط بین صفات و روش‌های مختلف و سهم هر صفت در مؤلفه تعیین شد (شکل ۳). برای مطالعه روابط بین صفات، از ترسیم گرافیکی بای‌پلات استفاده شد. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از ماتریس داده‌های حاصل از اجزای اسانس و مناطق کشت گیاه، سهم قابل توجهی از تنوع مشاهده‌شده به وسیله دو مؤلفه اصلی اول توجیه شد؛ لذا بر اساس دو مؤلفه اول، بای‌پلات ترسیم گردید. مؤلفه اول همبستگی بالا و مثبت با ترکیبات (۲زد، ۱۶ای)-فارنزیل استات و سیگما کادینن داشت، درحالی‌که همبستگی منفی و بالایی با آلفا-کوپائن و آلفا-دهیدرو-الشولتزیا کتون نشان داد. بنابراین انتظار می‌رود انتخاب بر اساس مقادیر بالای مؤلفه اول موجب انتخاب اکوتیپ‌هایی شود که مقادیر بیشتری از (۲زد، ۱۶ای)-فارنزیل استات

نمونه‌های رشت و نور موقعیت مشابهی در نمودار بای‌پلات داشتند که نشان از شباهت زیاد گیاهان کشت شده در این دو منطقه است (شکل ۳). این دو اکوتیپ در موقعیت مثبت مؤلفه دوم و منفی مؤلفه اول قرار گرفتند و از نظر ترکیبات سزکوئی‌ترین‌های اکسیژنه مقادیر بیشتری را دارند. گیاهان این دو منطقه، مقادیر بیشتری از پریلاکتون، (۱۳ای)-دکن-۲-وان، ترانس-کادینا-۱(۶)، ۴-دین، (ای)-کاریوفیلین، دی‌هیدرو-اوژنول، آلفا-کادینول و (ای، ای)-آلفا-فارنزن دارند. منطقه نیشابور در ربعی از بای‌پلات قرار گرفته است که هر دو مؤلفه مقادیر مثبت دارند و تعداد بیشتری از ترکیبات اسانس در این قسمت از نمودار قرار گرفته‌اند. گیاهان این منطقه، تعداد بیشتری از ترکیبات اسانس را دارا می‌باشند. علاوه بر آن، مقادیر بیشتری از ترکیبات سیس-دی‌هیدرو-آلفا-تریپنیل استات، (ای)-نرولیدول، لیدن اکسید-(II)، هیدروکسی-آلفا-مورولن، آلفا-هومولن، اکتن-۳-آل، پریلا آلدئید، نئوفیتادین و لینالول را دارد که بررسی

میانگین ترکیبات موجود در این ربع نشان داد که منطقه نیشابور سهم بیشتری از ترکیبات سزکوئی‌ترین‌های اکسیژنه و دی‌تریپنیل‌ها را دارا می‌باشد. گیاهان منطقه خرم‌آباد در قسمتی از بای‌پلات است که مؤلفه اول مثبت و مؤلفه دوم منفی می‌باشد. این نمونه حاوی مقادیر بیشتری از ترکیب اسانس از نوع مونوترپن‌های اکسیژنه می‌باشد و مقدار بیشتری از آلفا-دهیدرو-الشولتزاکتون، آگوماکتون و آلفا-کوپائن دارد (شکل ۳).

با توجه به زوایای بین بردار صفات مختلف، ملاحظه می‌شود که ترکیب اکتن-۳-آل با آلفا-هومولن، ترکیب (۱۳ای)-دکان-۲-وان با آلفا-کادینول، ترکیب سیس-دی‌هیدرو-آلفا-تریپنیل استات با متیل‌هگزادکانوات، همچنین ترکیب آگوماکتون با بتا-سدرن-۹-وان و ترکیب دی‌هیدرو-اوژنول با (ای، ای)-آلفا-فارنزن همبستگی مثبت و بالایی با یکدیگر داشتند (شکل ۳)؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مسیر سنتزی آن‌ها احتمالاً با یکدیگر ارتباط دارد.



شکل ۳: آنالیز بای‌پلات ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاهان *Perilla frutescens* var. *crispa*

در مناطق کشت بر اساس دو مؤلفه اول

بحث

در بین مناطق مختلف کشت، تنوع در محتوی و اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه *P. frutescens* var. *crispa* مشاهده شد. بطوریکه گیاهان کشت شده در مناطق رشت و نیشابور با شرایط اقلیمی مختلف به ترتیب دارای بیشترین و کمترین راندمان اسانس بودند (جدول ۵). رفعتی و همکاران، اخیراً تاثیر شرایط رویشگاهی و مزرعه بر روی کمیّت و کیفیت اسانس گیاه *Nepeta crassifolia* در استان آذربایجان شرقی را مطالعه کرده‌اند (Rafati et al., 2021). نتایج آنها نیز نشان داد که شرایط محیطی رویشگاه و مزرعه بر روی میزان اسانس گیاه موثر است بطوریکه درصد اسانس در نمونه‌های رویشگاه طبیعی با همدیگر اختلاف معنی‌داری داشته و بیشترین مقدار اسانس متعلق به منطقه مرنند بود در حالیکه نمونه اسانس‌های به دست آمده از مزرعه با همدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین، یآوری تاثیر رویشگاه‌ها با ارتفاع مختلف را بر روی محتوای اسانس گونه‌ای از مریم گلی (*Salvia sharifii* Rech. f. & esfand.) نشان داد (Yavari, 2022). گزارش شده است که تولید و تجمع اسانس به عنوان ماده موثره شناخته شده در گیاهان اسانس‌دار بطور معنی‌داری تحت تاثیر شرایط محیطی و ویژگی‌های خاک رویشگاه‌های طبیعی یا مناطق کشت گیاه قرار می‌گیرد. استنباط دقیق این موضوع می‌تواند در الگوبرداری از شرایط محیطی برای توسعه کشت و بهره‌برداری اقتصادی از گیاهان مورد استفاده قرار گیرد (Yavari, 2022).

در این تحقیق، در مجموع تعداد ۲۸ ترکیب در اسانس گیاه *P. frutescens* var. *crispa* کشت شده در مناطق اقلیمی مختلف شناسایی شد که غلظت هر یک از ترکیبات تحت تاثیر شرایط محیطی مناطق کشت قرار گرفته است (جدول ۵). تاثیر شرایط متغیر محیطی بر روی کیفیت اسانس و اجزای شیمیایی

تشکیل دهنده آن در تعدادی از گیاهان گزارش شده است. نتایج ارزیابی رفعتی و همکاران بر روی گیاه *Nepeta crassifolia* نیز نشان داد که غلظت ترکیبات غالب اسانس گیاه شامل نپتالاکتون^۱ (*I* (4aa, 7a, 7aa) و نپتالاکتون II (4aa, 7a, 7aβ) تحت تاثیر شرایط رویشگاه طبیعی و مزرعه قرار می‌گیرد (Rafati et al., 2021). در مطالعه دیگر، بررسی اثر ارتفاع بر خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) نشان داده است که افزایش ارتفاع از سطح دریا سبب کاهش ویژگی‌های افزایش محتوی مواد ثانویه گیاه می‌شود (Najjarfirozjaee et al., 2014).

تفاوت در پروفایل تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی *Lychnophora ericoides* به دست آمده از رویشگاه‌های مختلف که بومی برزیل می‌باشد، نیز گزارش شده است. بر اساس این تحقیق مشخص شد که الگوی تولید و ذخیره متابولیت‌های ثانویه در گیاه بر اثر شرایط محیطی تغییر می‌کند (Gobbo-Neto et al., 2010). محققین میزان ارتفاع را مؤثرترین عامل در تولید ترکیبات مؤثره گیاه آویشن دناایی (*Thymus daenensis*) در رویشگاه‌های مختلف بیان نمودند (Safaei et al., 2017). سنبل و همکاران (Sonboli et al., 2009) ترکیبات شیمیایی و اثر ضد باکتریایی اسانس *Salvia hydrangea* را در دو رویشگاه مختلف (شهرستان آباده واقع در استان فارس و تکاب واقع در آذربایجان غربی) مطالعه کردند. تفاوت‌های کمی و کیفی مشاهده شده می‌تواند ناشی از تاثیر عوامل مختلف اکولوژیکی، جغرافیایی، اقلیمی و خاکی بر ترکیب شیمیایی اسانس جمعیت‌های مختلف گونه مورد مطالعه باشد. خاصیت ضد باکتری متوسط این گونه را می‌توان به ماده او۸- سینثول نسبت داد.

شمالی، غربی و شرقی به این نتیجه رسید که ترکیبات اسانس در جهت شرقی بیشتر از ترکیبات اسانس در جهت‌های غربی و شمالی است، همچنین میزان اسیدپتیک خاک با درصد اسانس رابطه معکوس داشت، ولی میزان نیتروژن خاک رابطه مستقیمی با میزان تولید اسانس برقرار کرد. در مطالعه حاضر اثر خصوصیات خاک بر میزان مواد موثره اسانس گیاه مشهود بوده و نتایج مشابهی حاصل شد. راستی (Rasti, 2002) در منطقه عمارلو رودبار، در بررسی تأثیر رویشگاه (ارتفاع و جهت شیب) بر کیفیت و کمیت اسانس *Juniperus exelsa* از سه نقطه ارتفاعی در سه جهت شرقی، غربی و جنوبی گزارش کرد که ترکیبات اسانس در جهات مختلف شیب و در ارتفاعات مختلف متفاوت است که با نتایج حاصل از این تحقیق همراستا می‌باشد. بر اساس مطالعه‌ای که روی گونه *T. serpyllum* L. انجام شده است، ارتفاع در بیشتر مناطق تأثیر منفی بر کمیت اسانس داشته است (Abu-Darwish et al., 2009). در مطالعه حبیبی و همکاران (Habibi et al., 2007) روی اسانس *T. kotschyanus* در منطقه طالقان، مشخص شد که ارتفاع از سطح دریا همبستگی منفی با کمیت اسانس این گونه دارد که با نتایج تحقیق حاضر همسو بوده است. نتایج تحقیق آریانفر و همکاران (Arianfar et al., 2018) که بر روی درمنه دشتی در سه سطح ۱۴۰۰، ۱۶۰۰ و ۱۸۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا صورت گرفت نشان داد که اثر ارتفاع از سطح دریا بر روی بازده اسانس معنی‌دار بوده است که با افزایش ارتفاع بر درصد بازده اسانس درمنه دشتی افزوده شد، بیشترین بازده اسانس در ارتفاع ۱۸۰۰ متری از سطح دریا مشاهده شده است. که با نتایج این تحقیق مغایر بوده است که احتمالاً به علت تفاوت در نوع گونه گیاهی و سایر خصوصیات اقلیمی مناطق مورد مطالعه بوده است. گزارش شده است که بین ارتفاع از سطح

رضایی و همکاران (Rezaei et al., 2002) اسانس سنبل‌الطیب کوهستانی (*Valeriana sisymbriifolia*) را در سه منطقه رویشگاهی مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که میان ترکیبات عمده موجود در اسانس مناطق مختلف کشور، تفاوت وجود داشت. ترکیب آلفا - پینن با ۶/۱۶ درصد از استان آذربایجان، بیشترین درصد را نسبت به استان‌های همدان و اصفهان نشان داد. در مطالعه حاضر در مناطق نور و رشت ترکیبات رزفوران، (۳ای)-دکن-۲-وان، دی هیدرو-اوژنول، (ای)-کاریوفیلن، (ای، ای) آلفا-فارنزن و آلفا-کادینول بیش از خرم‌آباد و نیشابور گزارش گردید.

رقم‌های مختلف گیاهی از لحاظ ترکیب شیمیایی و غلظت ترکیبات فعال زیستی متفاوت هستند. تعدادی از مطالعات نشان داده است که تغییرات در ترکیب شیمیایی اسانس در رقم‌های مختلف می‌تواند توسط عوامل مختلف، از جمله رطوبت، شرایط خاک، دما و فصل (Kiazolu et al., Evergetis et al., 2016)، زمان برداشت (Inan et al., 2011)، زمان کاشت (Chauhan et al., 2013)، منطقه جغرافیایی (Ruberto et al., 2002) و مراحل رشد (Saeb and Gholamrezaee, 2012) تحت تأثیر قرار گیرد. به طوری که در تحقیق اخیر ترکیبات لینالول، الشولتزیا کتون، سیس-هیدرو-آلفا-تریپنیل استات، آگوما کتون، (ای)-نرولیدول، لدن اکسید (II)، بتا-سدرن-۹-وان، متیل هگزادکانوات و فیتول در نیشابور و خرم‌آباد (مناطق با ارتفاع بیشتر نسبت به سطح دریا) مقادیر بالاتری را به خود اختصاص داده‌اند (جدول ۵).

محمدی سلیمانی (Mohammadi Soleimani, 2010) به مطالعه اثر برخی عوامل محیطی بر ترکیبات اسانس گونه *Teucrium chamaedrys* در مراتع نمارستاق آمل پرداخت. وی با مطالعه در سه جهت

روغن حاصل از بذرهاى این گیاه به اقلیم محل کاشت بستگی دارد (Siriamornpun et al., 2006). در بررسی تأثیر ویژگی‌های بوم‌شناختی (خاک و ارتفاع) بر کمیت و کیفیت اسانس گل و برگ *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium* در رویشگاه‌های سیاه‌بیشه استان مازندران؛ نمونه‌ها از دو طبقه ارتفاعی (۲۱۰۰ و ۲۲۰۰ متر) انتخاب گردید. نتایج حاصل از تجزیه واریانس بازده اسانس، عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین طبقات ارتفاعی از نظر بازده اسانس گل و وجود تفاوت معنی‌دار از نظر بازده اسانس برگ را به وضوح نشان داد. بیشترین میزان بازده اسانس برگ متعلق به ارتفاع ۲۱۰۰ متری بود. از بین ویژگی‌های خاک و ارتفاع تنها بین میزان نیتروژن و بازده اسانس برگ همبستگی منفی وجود داشت (Azarnivand et al., 2010).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به تنوع تحقیقات انجام شده بر روی گیاه *Perilla frutescens* var. *crispa* در سال‌های اخیر، گرایش عمومی به استفاده از مواد گیاهی و فراورده‌های آن در کشورهای مختلف در حال افزایش است. نتایج این تحقیق نشان داد که این گیاه توان سازگاری با اقلیم‌های مختلف را دارد. در بین مناطق مطالعه شده، رشت و نور از شرایط اقلیمی مناسبی برای کشت و تولید این گیاه برخوردار هستند چراکه گیاهان کشت شده در این مناطق درصد و عملکرد اسانس بیشتری را دارا بودند. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که شرایط اقلیمی بر نوع ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه نیز موثر است بطوریکه درصد سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنه در اسانس گیاهان کشت شده در مناطق بسیار مرطوب بیشتر از سایر مناطق مورد مطالعه می‌باشد. توسعه کشت و پرورش این گیاه بویژه در مناطقی که از عملکرد

دریا و میزان اسانس و درصد دو ترکیب تیمول و کارواکرول رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد. همچنین تعداد ترکیبات مشاهده شده در اسانس نیز با افزایش ارتفاع افزایش می‌یابد که با نتایج اخیر هم‌راستا بوده است (Mohammadian et al., 2014). جمشیدی و همکاران (Jamshidi et al., 2006) به منظور بررسی کمی و کیفی اسانس گیاه آویشن کوهی (*Thymus serpyllum*) در سه ارتفاع ۲۴۰۰، ۲۶۰۰ و ۲۸۰۰ متر از سطح دریا در زیر حوضه دریاچه تار منطقه دماوند، اظهار داشتند که میزان درصد اسانس بین ۹۵ درصد تا ۱/۸۷ درصد از ارتفاع زیاد به کم تغییر می‌کند و می‌توان نتیجه گرفت که بهترین محل این گیاه برای حصول بهترین عملکرد کمیت و کیفیت اسانس، ارتفاع ۲۴۰۰ متر می‌باشد. به طور کلی در سه ارتفاع مختلف ۲۷ ترکیب شناسایی شد که مهم‌ترین مواد موثره کارواکرول و تیمول بوده است.

تجلی و همکاران (Tajali et al., 2009) به بررسی و شناسایی ترکیبات اسانس گیاه کافوری (*Camphorosma monspeliaca*) در مراحل مختلف فنولوژیک در رویشگاه‌های طبیعی اراک، همدان و شهرکرد پرداختند. نتایج تحقیق نشان داد که بازده اسانس گیاه در سه منطقه مورد بررسی از ۰/۱ تا ۰/۲ درصد متغیر است. همچنین در مجموع ۱۱۴ ترکیب شیمیایی در اسانس گیاه کافوری در هر سه منطقه و در هر دو مرحله فنولوژیک رویشی و زایشی شناسایی شد. بیشترین تعداد ترکیب شیمیایی تشخیص داده شده مربوط به منطقه همدان با ۱۰۳ ترکیب در مرحله زایشی و کمترین مربوط به منطقه اراک با ۵۵ ترکیب در مرحله زایشی می‌باشد و شهرکرد با ۷۸ ترکیب در مرحله زایشی در حد واسط بین این دو منطقه می‌باشد. محققان با تحقیق بر روی *P. frutescens* در سه ناحیه تایلند، نشان دادند که ترکیب اسیدهای چرب

کیفیت بیشتری برخوردار باشد، می‌تواند با منافع اقتصادی بیشتری برای تولیدکنندگان در تامین نیاز صنایع دارویی همراه باشد. همچنین با الگو برداری (مدلسازی) از نتایج این تحقیق، می‌توان در مکان‌یابی کشت این گیاه ارزشمند و تولید آن در سایر مناطق کشور اقدام نمود.

References

- Abu-Darwish, M.S., Abu Dieyeh, Z.H., Mufeed, B., Al- Tawaha, A.R.M. and Al-dalain, S.Y.A. 2009. Trace element contents and essential oil yields from wild Thyme plant (*Thymus serpyllum* L.) grown at different natural variable environments, Jordan. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7(3-4): 920-924.
- Ahmed, H.M. 2018. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Perilla frutescens* (L.) Britt. *Molecules*. 24, 102.
- Ahmed, H.M. and Tavaszi-Sarosi, S. 2019. Identification and quantification of essential oil content and composition, total polyphenols and antioxidant capacity of *Perilla frutescens* (L.) Britt. *Food Chemistry*, 275: 730-738.
- Anjula Pandey, A. and Bhatt, C. 2008. Diversity distribution and collection of genetic resources of cultivated and weedy type in *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *frutescens* and their uses in Indian Himalaya. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55: 883-892.
- Arianfar, M., Akbarinodehi, D., Hemati, K. and Rostampoor, M. 2018. Effects of altitude and aspect on efficiency of producing essence and phytochemical properties of *Artemisia aucheri* Boiss. and *Artemisia sieberi* Besser in South Khorasan rangelands. *Rangeland*, 12(3): 281-294. (In Persian)
- Asif, M. 2012. Chemical and nutritional characterization of *Perilla frutescens* seed oil. *The Libyan Journal of Pharmacy and Clinical Pharmacology*, 1:623012
- Azarnivand, H., Ghavam Araban, M., Sefidkon, F. and Tavili, A. 2010. The effect of ecological characteristics on quality and quantity of the essential oils of *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(4): 556-571. (In Persian)
- Baharmast, Z., Kheiry, A., Sanikhani, M. and Soleimani, A. 2021. Study and comparison of morphological and phytochemical traits of *Mentha pulegium* L. in different habitats of Guilan province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 8(2): 60-75. (In Persian)
- Baser, K.H.C., Demirci, B. and Dönmez, A.A. 2003. John Wiley & Sons, Ltd. Composition of the essential oil of *Perilla frutescens* (L.) Britton from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 122-123.
- Chang, X.L., Zhao, Z.L., Li, X.L., Xu, H., Sun, Y. and Wang, W.H. 2014. Extraction and advanced adsorbents for the separation of perillaldehyde from *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *crispa* F. *viridis* leaves. *Food Science and Technology Research*, 20: 189-199.
- Chauhan, N.K., Singh, S., Haider, S.Z., Lohani, H. and Kushwaha, B.L. 2013. Compositional variability in volatiles from different plant organs of *Perilla frutescens* L. cultivated in Uttarakhand (India). *Journal of Pharmacy Research*, 6: 361-363.
- Chen, Z., Wu, K., Zhu, W., Wang, Y., Su, C., Yi, F., 2022. Chemical compositions and bioactivities of essential oil from *Perilla* leaf (*Perillae folium*) obtained by ultrasonic-assisted hydro-distillation with natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 375, art. no. 131834.
- Consonni, R., Cagliani, L.R., Docimo, T., Romane, A. and Paola Ferrazzi, P. 2013. *Perilla frutescens* (L.) Britton: honeybee forage and preliminary results on the metabolic profiling by NMR spectroscopy, *Natural Product Research*, 27(19):1743-1748.
- Dimita, R., Min Allah, S., Luvisi, A., Greco, D., De Bellis, L., Accogli, R., Mininni, C., Negro, C. 2022. Volatile compounds and total phenolic content of *Perilla frutescens* at microgreens and mature stages. *Horticulturae*, 8 (1), art. no. 71.


- Duan, S., Li, Z., Fan, Z., Qin, M., Yu, X., Li, L. 2022. Effects of dietary addition of *Perilla frutescens* seeds on the content of polyunsaturated fatty acids in egg yolk of *Gallus domesticus*. Pakistan Journal of Zoology, 54 (1), pp. 161-166.
- Evergetis, E., Michaelakis, A., Papachristos, D.P., Baderitakis, E., Kapsaski-Kanelli, V.N. and Haroutounian, S.A. 2016. Seasonal variation and bioactivity of the essential oils of two *Juniperus* species against *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894). Journal of Parasitology Research, 115: 2175-2183.
- Ghanbari, M., Souri, M., Omidbaigi, R. and Hadavand Mirzaei, H. (2014). Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Achillea millefolium* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(5): 692-701. (In Persian)
- Ghane, M., Pirdashti, H., Ghajar Sepanlou, M. and Babaeizad, V. 2018. Evaluation of morphological, yield and medicinal properties of *Perilla* (*Perilla Frutscens*) under soil fertility treatments in Mashhad Ardehal and Sensen regions of Kashan. Journal of Plant Production, 25(2): 99-117. (In Persian)
- Gobbo-Neto, L., Guaratini, T., Pessoa, C., de Moraes, M., Costa-Lotufo, L., Vieira, R.F., Colepicolo, P. and Lopes, N.P. 2010. Differential metabolic and biological profiles of *Lychnophora ericoides* from different localities in Brazilian Campos rupestres. Journal of the Brazilian Chemical Society, 21(4): 750-759.
- Gorgini Shabankare, H., Asgharipour, M.R. and Fakheri, B. 2015. Morpho-chemical Diversity among Iranian *Teucrium polium* L. (Lamiaceae) populations in Fars province. Journal of Agricultural Science and Technology, 17 (3) :705-716.
- Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoun Hosseini, N., Chaeichi, M., Fakhr Tabatabaei, M. and Bigdeli, M. 2007. Effect of altitude on essential oil and components in wild Thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss) Taleghan region. Pajouhesh-Va-Sazandegi (In Agronomy and Horticulture), 19(4): 2-10. (In Persian)
- Heydari, A., Hadian, J., Esmaeili, H., Kanani, M.R., Mirjalili, M.H. and Sarkhosh A. 2019. Introduction of *Thymus daenensis* into cultivation: Analysis of agro-morphological, phytochemical and genetic diversity of cultivated clones. Industrial Crops and Products, 131, 14-24.
- Inan, M., Kirpik, M., Alpaslan, D., Kaya, A. and Kirici, S. 2011. Effect of harvest time on essential oil composition of *T. spicata* L. growing in flora of Adiyaman. Advances in Environmental Biology, 5(2): 356-358.
- Jamshidi, A.M., Aminzadeh, M., Azarnivand, H. and Abedi, M. 2006. Effect of evaluation for quality and quantity of essential oil *Thymus kotschyanus* (Damavand - Tar). Journal of Medicinal Plants, (5)18: 17-22. (In Persian)
- Jin-hua, Zh., Er-hua, R., Ping-yi, G., Xin, W., Yin-yuan, W. and Xiang-yang, Y. 2012. The interacting effect of urea and quizalofop-ethyl herbicide on improving growth and controlling weeds in *Perilla frutescens* L. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 1055-1064.
- Kang, H.-B., Kim, S.-H., Uhm, S.-H., Kim, D.-K., Lee, N.-S., Jeong, Y.-G., Sung, N.-Y., Kim, D.-S., Han, I.-J. and Yoo, Y.-C. 2022. *Perilla frutescens* leaf extract attenuates vascular dementia-associated memory deficits, neuronal damages, and microglial activation. Molecular Biology, 44, 257-272.
- Kang, N.S. and Lee, J.H. 2011. Characterization of phenolic phytochemicals and quality changes related to the harvest times from the leaves of Korean purple *Perilla* (*Perilla frutescens*). Food Chemistry, 124: 556-562.
- Kiazolu, J.B., Intisar, A., Zhang, L., Wang, Y., Zhang, R. and Wu, Z. 2016. Phytochemical screening and chemical variability in volatile oils of aerial parts of *Morinda morindoides*. Natural Product Research, 30: 2249- 2252.
- Lee, J., Kim, D-S., Cho, J., Hong, S.J., Pan, J.H., Kim, J.K. and Shin, E-Ch. 2019. *Perilla frutescens* Britton: A comprehensive study on flavor/taste and chemical properties during the roasting process. Molecules. 24, 1374.

- Lee, J.H., Park, K.H., Lee, M.H., Kim, H.T., Seo, W.D., Kim, J.Y., Baek, I., Jang, D.S. and Ha, T.J. 2013. Identification, characterization, and quantification of phenolic compounds in the antioxidant activity-containing fraction from the seeds of Korean Perilla (*Perilla frutescens*) cultivars. Food Chemistry, 136: 843–852.
- Li, B. and Kim, M. 2021. Cultivation of *Perilla frutescens* (Lamiaceae) in prehistoric Korea. Journal of archaeological science: Reports Volume 40, Part B, 103224.
- Lin, K.-H., Zhou, Y.-J., Wu, C.-W., Chang, Y.-S. 2020. Growth, physiological, and antioxidant characteristics in green and red *Perilla frutescens* varieties as affected by temperature-and water-stressed conditions. Scientia Horticulturae, 274, 109682.
- Lotfi, K., Oraei, M., Hazrati, S., Faramarzi, A. and Ajali, J. 2021. Investigation of morphophysiological diversity of different populations of *Stachys lavandulifolia* based on multivariate statistical methods. Journal of Crop Breeding, 13(39): 195-207.
- Lu, X., Hao, L., Wang, F., Huang, Ch. and Wu, SH. 2013. Molecular cloning and overexpression of the tyrosine aminotransferase (TAT) gene leads to increased Rosmarinic acid yield in *Perilla frutescens* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 115: 69-83.
- Meng, L., Lozano, Y.F., Gaydou, E.M. and Li, B. 2009. Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* varieties. Molecules. 14:133-140.
- Mohammadi Soleimani, S. 2010. The effect of some environmental factors on the composition of essential oil of *Teucrium chamaedrys*. Master Thesis in Range Management. Tarbiat Modares University Noor. (In Persian)
- Mohammadian, A., Karamian, R., Mirza, M. and Sepahvand, A. 2014. Effects of altitude and soil characteristics on essential of *Thymus fallax* Fisch.et C.A. Mey. in different habitats of Lorestan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(4): 519-528. (In Persian)
- Najjarfirozjaee, M., Hemmati, K., Khorasaninejhad, S., Daraei Garmakhany, A. and Bagherifard, A. 2014. Effect of altitude on morphological and biochemical characteristics of Nettle (*Urtica dioica* L.) Plant in mazandaran and golestan provinces. Journal of Plant Environmental Physiology, 9(3): 1-11. (In Persian)
- Negi, V.S., Rawat, L.S., Phondani, P.C. and Chandra, A. 2011. *Perilla frutescens* in Transition: a medicinal and oil yielding plant need instant conservation, a case study from Central Himalaya, India. Environment & We an International Journal of Science & Technology, 6: 193-200.
- Nina, C., Tatiana, S., Camelia, S., Veaceslav, G., Radu, N. and Valentin, G. 2014. Biological and phytochemical research on *Perilla frutescens* Var. *purpuracens* (Hayata). In republic of Moldova. Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei, Ştiinţele vieţii, 2: 323.
- Nitta, M., Lee, J.K. and Ohnishi, O. 2003. Asian *Perilla* crops and their weedy forms: their cultivation, utilization and genetic relationships. Economic Botany, 57: 245-253.
- Omidbaigi, R. 2007. Approaches to the production and processing of medicinal plants, Volume I, Behnashr Publication, 283 pages. (In Persian)
- Rafati, A., Valizadeh, N., Sefidkon, F., Imani, Y. and Noormand Moayyed F. 2021. Variability in the quantity and quality of the essential oil of *Nepeta crassifolia* in natural habitats and agronomical conditions of East Azerbaijan Province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 10.22092/IJMAPR.2021.354805.3002. (In Persian)
- Rasti, A. 2002. Study of the effect of habitat on Aras plant species in Amarloo Rudbar region and identification and comparative study of its essential oil compounds at different altitudes and slope directions. Master Thesis, Urmia University. (In Persian).
- Razazi, N., Ashraf Jafari, A., Khodarahmpour, Z. and Sadat, Sh. 2021. Phytochemical comparison of essential oils in five species of *Stachys* L. in Khorramabad agronomic conditions. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 9(3): 1-15. (In Persian)
- Rezaei, M., Jaymand, K. and Moalemi, M. 2002. Study on chemical constituents of *Valeriana sisymbriifolia* vahl of essential oils from three different localities. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 18: 123-135. (In Persian)

- Rouphael, Y., Raimondi, G., Paduano, A., Sacchi, R., Barbieri, G. and De Pascale, S. 2015. Influence of organic and conventional farming on seed yield, fatty acid composition and tocopherols of *Perilla*. Amer. Journal of the Chemical Society, 9(4): 303-308.
- Ruberto, G., Barrata, M.T., Sari, M. and Ka'abeche, M. 2002. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour and Fragrance Journal, 17: 251-254.
- Saeb, K. and Gholamrezaee, S. 2012. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(z2): s547-s549.
- Safaei, L., Sharifi Ashoorabadi, E., Afiuni, D. 2017. Study of effective environmental factors on Thyme quality and quantity in field and habitat conditions. Plant Ecophysiology (Arsanjan Branch), 9(29): 195-203.
- Sato, S., Ikeda, H., Furukawa, H., Murata, Y. and Tomoda, M. 2004. Effect of nutrient solution concentration on inorganic and glycyrrhizin content *Glycyrrhiza glabra*. Yakugaku Zasshi. 124(10): 705-709.
- Sharma, S., Arunachalam, K., and Arunachalam, A. 2022. Morphology and physiology of *Perilla frutescens* (Linn.) Britt in relation to micro-climate and edaphic characteristics Tropical Ecology, 1-12. doi.org/10.1007/s42965-021-00195-w
- Shen, Q., Qin, X., Wang, X., Tian, Sh., Xiang, Y. and Zhao, J. 2014. Effects of plant density on the economic yield and agronomic characters of *Perilla frutescens* L., Journal of Agricultural Science and Technology, 15(9): 1516-1520.
- Siriamornpun, S., Li, D., Yang, L., Suttajit, S. and Suttajit, M., 2006. Variation of lipid and fatty acid composition in Thai *Perilla* seeds grown at different locations. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 28(1): 17-21.
- Sonboli, A., Kanani, M., Yousefzadi, M. and Mojarad, M. 2009. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Salvia hydrangea* from two localities of Iran. Journal of Medicinal Plants, 8(30): 20-28. (In Persian)
- Tajali, A.A., Amin, Gh.R. and Gandomkar Ghalhari, A. 2009. Study and identification compounds of essential oil of *Camphorosma monspeliaca* in different phenological Stages in Arak, Hamedan and Shahr-E-Kord Rangelands. Rangeland, 3(2): 302-316. (In Persian)
- Tian, J., Zeng, X.B., Zhang, S., Wang, Y.Z., Zhang, P., Lu, A.J. and Peng, X. 2014. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China. Industrial Crops and Products, 59: 69-79.
- Wei, M.-C., Wang, C.-S., Wei, D.-H. and Yang, Y.-C. 2021. Insights into the supercritical CO₂ extraction of *Perilla* oil and its theoretical solubility. Processes, 9: 239.
- Yavari, A. 2022. Study on essential oil variability of *Salvia sharifii* Rech. f. & esfand. in different natural habitats of Hormozgan Province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 9(4): 33-47. (In Persian)



Evaluation of the effect of nutrition on the quantity and quality of *Satureja khuzestanica* Jamzad. essential oils in ecological conditions of Khorramabad

Shahla Ahmadi^{1*} , Fatemeh Sefidkon², Bohloul Abbaszadeh², Mahnaz Farhadi¹

¹Research Division of Natural Resources Department, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Khorramabad, Iran. Email: ahmadishahla82@yahoo.com

²Research Department of Medicinal Plants and Byu-products, Research Institute of Forest and Rangelands, AREEO, Tehran, Iran

Article type:

Research article

Abstract

This research was carried out to study the effects of chemical and biological fertilizers (manure and vermicompost), as well as their combinations on the quality and quantity of the essential oil content and composition of *S. khuzestanica* in Zagros Botanical Garden of Agricultural and Natural Resource Research Center of Lorestan based on a complete random block design with 3 replications in 3 years, during 2016-2020. There were 24 plots of 3x3m in the study, 100 cm away from each other, in which the plants were sown at a distance of 50 cm. The experimental treatments included 50 kg/ha of NPK (50, 25, 25), animal manure (30 and 60 tons/ha), vermicompost (5 tons/ha), and a combination of NPK combination and animal manure and vermicompost, all applied only once at the planting stage. During the flowering stage, shoots were harvested and their essential oils were obtained by hydro-distillation. The essential oils were then analyzed by GC and GC/MS. The results of combined analysis of variance showed that the effects of year and interaction of year and fertilizer on the percentage of essential oil were significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively. Furthermore, the maximum essential oil percentage and oil yield in *S. khuzestanica* were 5.4% and 433 kg/ha with NPK + M60 treatment during the third year. Carvacrol (93.1-88.8, 96.0-89.6, 94.9-88.8 percent) was the most important composition of the essential oil in all treatments and years of the experiment. In general, the nutritional treatments increased the amount of essential oil and carvacrol compared to the control, and during the three years of testing, the yield of dry weight and therefore essential oil increased. The results of this research indicated that the use of organic fertilizers alone or in combination with chemical fertilizers has a positive effect on improving the essential oil yields, and the use of integrated nutrition method for *S. khuzestania* is economic.

Article history

Received: 18-07-2022

Revised: 23-11-2022

Accepted: 29-11-2022

Keywords

Essential oil

Carvacrol

Dietary treatments

Khorramabad

Satureja khuzestanica

Cite this article as: Ahmadi, Sh., Sefidkon, F., Abbaszadeh, B., Farhadi, M. (2023). Evaluation of the effect of nutrition on the quantity and quality of *Satureja khuzestanica* Jamzad. essential oil in ecological conditions of Khorramabad. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 36-48.



©The author(s)

Doi: 10.30495/ejmp.2023.702343

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.3.4



بررسی اثر تغذیه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی *Satureja khuzestanica* Jamzad. در شرایط اکولوژیک خرم آباد

شهلا احمدی^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲، بهلول عباس زاده^۲، مهناز فرهادی^۲

^۱ بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم آباد، ایران، رایانامه: ahmadishahla82@yahoo.com

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

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	در این تحقیق به منظور بررسی اثر کود شیمیایی، دامی، ورمی کمپوست و تلفیق آنها بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه مرزه خوزستانی <i>Satureja khuzestanica</i> Jamzad. آزمایشی در باغ گیاه شناسی زاگرس، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان طی سالهای ۱۳۹۶-۱۳۹۹ در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تعداد واحدهای آزمایشی برابر ۲۴ کرت، فاصله کرتها ۱۰۰ سانتی متر، فاصله بوته ها ۵۰ سانتی متر و ابعاد کرت ۳ در ۳ متر بود. تیمارهای آزمایش شامل ۵۰ کیلوگرم در هکتار (50,25,25) NPK، کود دامی ۳۰ و ۶۰ تن در هکتار، ورمی کمپوست ۵ تن در هکتار ترکیب NPK با کودهای دامی و ورمی کمپوست بودند. زمان اعمال تیمارهای تغذیه فقط یک نوبت و در مرحله کاشت نشاء های تهیه شده در زمین اصلی بود. نمونه ها طی سه سال متوالی به روش تقطیر با آب اسانس گیری شدند. اسانس ها بوسیله کروماتوگرافی گازی GC و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی GC/MS تجزیه و شناسایی شدند. نتایج نشان داد که اثر سال و اثر متقابل سال در تیمار بر درصد و عملکرد اسانس به ترتیب در سطح احتمال ۵ و یک درصد معنی دار است. بر اساس نتایج بدست آمده حداکثر بازده و عملکرد اسانس در سال سوم به ترتیب معادل ۵/۴ درصد و ۴۳۳ کیلوگرم در هکتار و در تیمار NPK+M60 بدست آمد. کارواکول (۹۳/۱-۸۸/۸، ۹۶/۰-۸۹/۶، ۹۴/۹-۸۸/۸) مهمترین ترکیب اسانس در تمام تیمارها و سالهای آزمایش بود. به طور کلی تیمارهای تغذیه موجب افزایش میزان اسانس و کارواکول نسبت به شاهد شده و در طی سه سال آزمایش عملکرد وزن خشک و در نتیجه عملکرد اسانس روند افزایشی داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد کودهای آلی به تنهایی و یا در ترکیب با کود شیمیایی در بهبود عملکرد اسانس این گونه مرزه تاثیر مثبتی داشته و استفاده از روش تلفیقی تغذیه در مورد <i>S. khuzestanica</i> مقرون به صرفه می باشد.
واژه های کلیدی:	
اسانس	
تیمار تغذیه ای	
خرم آباد	
کارواکول	
مرزه خوزستانی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۷	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۰۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۸	

استناد: احمدی، شهلا؛ سفیدکن، فاطمه؛ عباس زاده، بهلول؛ فرهادی، مهناز. (۱۴۰۲). بررسی اثر تغذیه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی

(Satureja khuzestanica Jamzad.)، در شرایط اکولوژیک خرم آباد. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۴۸-۳۶.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.702343

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.3.4

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسنده گان.



موجب رشد و نمو گیاه شده و آلودگی کمتری را در محیط زیست ایجاد می‌کنند (Ali et al., 2015). بررسی اثر کود های شیمیایی، دامی، ورمی کمپوست و بیوفسفات بر گیاه مرزه^۱ نشان داد که استفاده از ورمی کمپوست و بیوفسفات تاثیر مثبت بر فاکتورهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک مرزه دارد (Naiji and Souri, 2015). در بررسی اثر کود دامی و کود شیمیایی بر گیاه دارویی آلوئه، تلفیق کود دامی با کود شیمیایی بیشترین تاثیر را بر رشد آلوئه ورا داشت به طوری که بیشترین شاخص سطح برگ (۱/۶)، سرعت رشد محصول (۷۹/۰ گرم در متر مربع در روز) و حداکثر ماده خشک (۵۷/۱) در تیمار تلفیقی کود دامی با کود شیمیایی مشاهده شد (Farrokhi et al., 2018). همچنین در آزمایش دیگری روی آلوئه ورا معلوم شد کاربرد سطوح مختلف نیتروژن (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم در هر گلدان) اختلاف معنی داری با هم داشتند و افزایش میزان نیتروژن باعث افزایش ارتفاع، تعداد برگ‌ها و قطر ساقه شد (Hazrati and Tahmasebi, 2012). در تحقیقی نشان داده شد که مصرف کود شیمیایی (N150.P150.K100) در مقایسه با کودهای زیستی بیشترین تاثیر را در افزایش عملکرد دانه، ماده خشک برگ و عملکرد بیولوژیک، را در گیاه دارویی بادرشبو داشت (Rahimzadeh et al., 2011).

در بررسی تاثیر نیتروژن و فسفر بر رشد و میزان اسانس گیاه درمنه شیرین استفاده از تیمارهای شامل کود نیتروژن و فسفر در چهار سطح به مقادیر صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین ارتفاع بوته و شاخه‌های فرعی در تیمارهای N₈₀P₄₀ و N₄₀P₄₀ بدست آمد و درصد اسانس در تیمار N₄₀P₀ و N₈₀P₀ افزایش معنی داری را نسبت به سایر تیمارها داشت (Peyvandi et al., 2009).

مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica* Jamzad) متعلق به تیره نعناعیان و از گیاهان انحصاری ایران است که در نواحی جنوبی استان لرستان و شمالی استان خوزستان، در مناطق خشک، آفتابی و خاکهای سنگلاخی، در خاک نسبتاً فقیر آهکی با اسیدیته ۷-۸/۲ رشد می‌کند (Jamzad, 2012). این گیاه بوته‌ای چند ساله حاوی مقادیر بالای مونوترپنوئید کارواکرول است (Jamzad, 2012). کارواکرول دارای اثرات متعددی از جمله ضد عفونی کننده، ضد التهاب، ضد درد، ضد باکتری، قارچ، مخمر و آنتی اکسیدان می‌باشد (Sepahvan et al., 2005). تحقیقات اندکی در زمینه‌های مختلف زراعی و به زراعی این گونه با ارزش دارویی انجام شده است (Nooshkaam et al., 2016). امروزه توجه به گیاهان دارویی و مواد طبیعی به جای استفاده از مواد شیمیایی مصنوعی اهمیت کشت و فرآوری این گیاهان را دو چندان کرده است. فراهم آورد شرایط تغذیه مناسب برای بدست آوردن حداکثر ماده موثره در گیاهان دارویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعات فراوانی در خصوص نیاز تغذیه‌ای بسیاری از گیاهان دارویی انجام شده است.

کاربرد کودها موجب افزایش کربن آلی و بهبود کیفیت خاک می‌شود (Blundell et al., 2020). از سویی دیگر مواد آلی و ترکیبات حاصل از تجزیه آنها موجب کاهش تثبیت فسفر خاک در مقایسه با فسفات معدنی می‌گردد (Yazdani Buicki, 2010).

مواد آلی اثرات مفیدی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی، حاصلخیزی، افزایش ماده آلی، غنی‌سازی، تنظیم اسیدیته و بهبود ساختار خاک دارند و از ارکان مهم باروری خاک محسوب میشوند. همچنین این کودها با رها سازی آهسته و کنترل شده

افزایش معنی داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد اما اختلاف بین تیمارها معنی دار نبود. هیچ یک از تیمارها اختلاف معنی داری در وزن هزار دانه نسبت به تیمار شاهد نشان نداد (Saeednejad and Rezvani Moghaddam, 2010).

کاربرد ورمی کمپوست سبب افزایش بارز ارتفاع، تعداد چتر، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه، در گیاه دارویی رازیانه می شود. افزودن ورمی کمپوست به خاک عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجب افزایش رشد اندام هوایی و تولید ماده خشک و در نهایت بهبود عملکرد دانه می شود (Darzi et al., 2006, 2008, 2009).

کاربرد ۲۴ تن در هکتار ورمی کمپوست طی ۴ سال، عوامل موجود در خاک شامل ماده آلی، اسیدهیومیک، جمعیت میکروارگانیسم ها و پایداری ساختمان خاک را به طور معنی داری افزایش داد (Albiach et al., 2001). در پژوهشی دیگر، اثر کودهای آلی و بیولوژیک مختلف روی گیاه دارویی مرز (Satureja khuzistanica Jamzad) مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد که ورمی کمپوست چه به تنهایی و چه در کاربرد همزمان با کودهای بیولوژیک نیتروکسین و نیتراژین منجر به بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه شد (Rezvani Moghaddam et al., 2013). لیاک و پانک (Liuc and Pank, 2005) گزارش کردند که کاربرد ورمی کمپوست در گیاه دارویی بابونه رومی (*Chamaemelum nobile L.*) باعث افزایش تعداد گل و درصد اسانس شد. بررسی اثر کمپوست، ورمی کمپوست و کود دامی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی زیره سبز نشان داد که مصرف کودهای آلی و دامی باعث افزایش

در بررسی تاثیر مصرف کود نیتروژن (۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره خالص در هکتار) بر بازده و درصد ترکیب های تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه تحت شرایط مزرعه مشخص شد که بیشترین ارتفاع بوته، تعداد پنجه در بوته، مساحت سایه انداز گیاه، طول ریشه و وزن ریشه در گیاه دارویی بادرنجبویه مربوط به، تیمار ۹۰ کیلوگرم کود نیتروژن بود، همچنین بیشترین میزان عملکرد بیولوژیکی مربوط به تیمار ۶۰ کیلوگرم کود نیتروژن بود (Abbaszadeh et al., 2007).

ورمی کمپوست در نتیجه هضم بقایای مواد آلی ضمن عبور از دستگاه گوارش کرم های خاکی به وجود می آید (Jahani et al., 2011). ورمی کمپوست منبعی غنی از مواد شبه هورمونی، ویتامینها، عناصر میکرو، ماکرو و آنزیمها است که موجب رشد زیاد و سریع گیاهان می گردد و با افزایش تثبیت نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک آنها را در دسترس گیاهان قرار می دهد (Prabha et al., 2007). ورمی کمپوست با افزایش میزان عناصر غذایی در دسترس گیاه و آزادسازی تدریجی آنها باعث افزایش رشد گیاه شده و میزان ماده خشک تولیدی را افزایش می دهد (Saeednejad and Rezvani Moghaddam, 2010). استفاده از ورمی کمپوست به علت داشتن خصوصیات مانند تخلخل زیاد، قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر معدنی و ظرفیت بالای نگهداری آب، در کشاورزی پایدار برای بهبود رشد و کیفیت محصولات زراعی و باغی پیشنهاد می شود (Arancon et al., 2002; Scheffer and Koehler, 2004; Atiyeh et al., 1993). در آزمایشی روی زیره سبز تحت تیمارهای ۱۵ و ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست، ۳۰ تن در هکتار کود گاوی و ۲۰ تن در هکتار کود گوسفندی، بیشترین ارتفاع بوته در تیمار ورمی کمپوست مشاهده گردید. در تمام تیمارها تعداد چتر در بوته

عملکرد دانه، ماده خشک، تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در چتر و ارتفاع بوته شد (Saeednejad and Rezvani Moghaddam, 2010).

افزایش جمعیت دنیا موجب نیاز روز افزون به تولید گیاهان دارویی شده است. یکی از راه‌های افزایش عملکرد گیاهان دارویی فراهم کردن عناصر مغذی مورد نیاز گیاه با استفاده از انواع کودها می‌باشد. در همین راستا پژوهشی با هدف بررسی تاثیر روشهای مختلف تغذیه شامل کودهای آلی (دامی و ورمی کمپوست)، کود شیمیایی (NPK) و تلفیق آنها بر کمیت و کیفیت اسانس مرزه خوزستانی به منظور تعیین بهترین تیمار تغذیه و اثر آن بر میزان اسانس و عملکرد آن در شرایط اکولوژیک خرم آباد اجرا شد.

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی و وضعیت عمومی محل اجرای آزمایش: این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۹-۱۳۹۷، در باغ گیاه شناسی زاگرس مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان واقع در شهرستان خرم آباد انجام شد. این باغ در شمال غربی شهر خرم‌آباد، در حاشیه غربی دریاچه کیو واقع شده است. خاک آن سیلتی-کلی-لومی و ارتفاع از سطح دریا ۱۱۴۷ متر است.

جمع آوری بذر و کشت گیاهان: به منظور اجرای آزمایش بذر مرزه خوزستانی از رویشگاه آن در شهرستان پلدختر استان لرستان از ارتفاع ۳۵۰ متری از سطح دریا و در سال ۱۳۹۶، جمع‌آوری شد. بذرها در سینی‌های نشاء حاوی خاک، ماسه و کود به نسبت مساوی کشت شدند. پس از آماده‌سازی زمین مورد نظر، گیاهچه‌ها به زمین اصلی منتقل شده و در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در ۳ تکرار کاشته شدند. فاصله کرتها از هم یک متر و فاصله تکرارها دو متر

در نظر گرفته شد. تیمارهای کودی عبارت بودند از N50P25K25، کود دامی ۳۰ و ۶۰ تن در هکتار، ورمی کمپوست ۵ تن در هکتار ترکیب NPK با کود دامی ۳۰ و ۶۰ تن در هکتار و ورمی کمپوست که پیش از کاشت و در یک مرحله اعمال شدند.

سرشاخه گلدار گیاهان در مرحله گلدهی کامل در طی سالهای اول، دوم و سوم پس از کشت (۱۳۹۹-۱۳۹۷)، برداشت شد. برای هر تیمار از هر سه تکرار کشت شده به صورت مجزا نمونه برداری انجام شد. نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه و در سایه خشک شدند. سپس ۵۰ گرم از گیاهان آسیاب شده و به روش تقطیر با آب به مدت ۲ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس نسبت به وزن خشک تعیین گردید. اسانس‌ها بوسیله کروماتوگرافی گازی GC و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی GC/MS مورد اندازه‌گیری و شناسایی قرار گرفتند. دستگاه GC از نوع گازکروماتوگرافی فوق سریع مدل UFM-Thermo دارای ستون H-5 (به طول ۱۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۴ بود. دمای اولیه، ۶۰ درجه سانتیگراد (با زمان نگهداری ۳ دقیقه) بود که در نهایت با افزایش ۸۰ درجه سانتیگراد دما در هر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سانتیگراد رسید. از گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ با حرکت در طول ستون با سرعت ۳۲ سانتیمتر بر ثانیه استفاده شد. دستگاه GC-MS گاز کروماتوگرافی متصل شده با طیف سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرو متر بوده است. برنامه ریزی حرارتی ستون GC/MS از ۲۴۰-۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵

سانتیمتر بر ثانیه در طول ستون حرکت میکرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است. پس از شناسایی اجزای اسانس‌ها، مقدار کمی هر یک در اسانس مشخص شد و با مقایسه نتایج حاصل، عملکرد کمی و کیفی اسانس تولیدی هر گونه تحت تیمارهای مختلف تغذیه در شرایط آبی مشخص شد. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات، داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار mstatc استفاده شد و میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب سالهای آزمایش مشخص شد که اثر سال، تیمار و برهمکنش سال در تیمار بر بازده اسانس مرزه خوزستانی^۱ در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در مجموع بازده اسانس مرزه خوزستانی در سال سوم تفاوت معنی‌داری با سالهای اول و دوم داشت (جدول ۲). اثر متقابل سال در تیمار مشخص کرد که در مجموع، تیمار کود دامی ۶۰ تن در هکتار به همراه NPK در سال سوم بیشترین مقدار بازده اسانس را (معادل ۵/۴) درصد داشت.

مقایسه میانگین تیمارها مشخص نمود که بیشترین بازده اسانس در سال اول با ۳/۳ درصد در تیمار ورمی‌کمپوست و کمترین بازده اسانس در تیمار شاهد با ۱/۱ درصد مشاهده شد. در سال دوم بیشترین بازده اسانس در تیمار NPK+M60 با ۴/۴ درصد و کمترین بازده اسانس در تیمار M60 با بازده ۱/۵ درصد

مشاهده شد. در سال سوم بیشترین بازده اسانس در تیمار NPK+M60 با ۵/۴ درصد و همچنین NPK+M30 با ۴/۶ درصد و کمترین بازده در تیمار ورمی‌کمپوست با ۲ درصد مشاهده شد (جدول ۳). نتایج حاصل از تجزیه واریانس خرد شده در زمان، سالهای آزمایش نشان داد که اثر سال، تیمار و برهمکنش سال در تیمار بر عملکرد اسانس مرزه خوزستانی *S. khuzestanica* در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها مشخص نمود که بیشترین عملکرد اسانس در سال اول با ۴۴ کیلوگرم در هکتار در شاهد و کمترین عملکرد اسانس در تیمار ورمی‌کمپوست با ۱۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد. در سال دوم بیشترین عملکرد اسانس در تیمار NPK+M60 با ۱۵۶/۴ کیلوگرم در هکتار و کمترین عملکرد اسانس در تیمار M60 با ۵۲ کیلوگرم در هکتار بود. در سال سوم بیشترین عملکرد اسانس در تیمار NPK+M60 با ۴۳۳ کیلوگرم در هکتار و کمترین عملکرد اسانس در تیمار ورمی‌کمپوست با ۲۱۱ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج حاصل از شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس نشان داد که ترکیب اصلی اسانس مرزه خوزستانی در همه تیمارهای تغذیه در سالهای ۱۳۹۹-۱۳۹۷ کارواکول بود. بیشترین میزان آن به ترتیب ۹۴/۱، ۹۶/۰ و ۹۳/۱ درصد و در تیمار تغذیه‌ای N50P25K25، و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد و به ترتیب با ۸۸/۸، ۸۹/۶ و ۸۸/۸ درصد مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۱: تجزیه واریانس مرکب درصد و عملکرد اسانس در هشت تیمار حاصلخیزی خاک *Satureja Khuzestanica* طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۹.

میانگین مربعات	درصد اسانس	درجه آزادی	منابع تغییرات
۴۴۰/۴۳۱	۰/۰۵۶	۲	تکرار
**۵۲۶۰۴/۹۵	**۸/۸۹	۲	سال
۱۴۸/۴۹	۰/۲۱	۴	خطا×سال
۷۹۶/۱۶**	**۲/۷۹	۷	تیمار
۵۱۸/۶۵**	**۲/۲۴	۱۴	سال×تیمار
۹۶/۴۵	۰/۰۵	۴۲	خطا
		۷۱	خطای کل

** نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین مرکب درصد اسانس و عملکرد اسانس در هشت تیمار حاصلخیزی خاک *Satureja Khuzestanica* طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۹

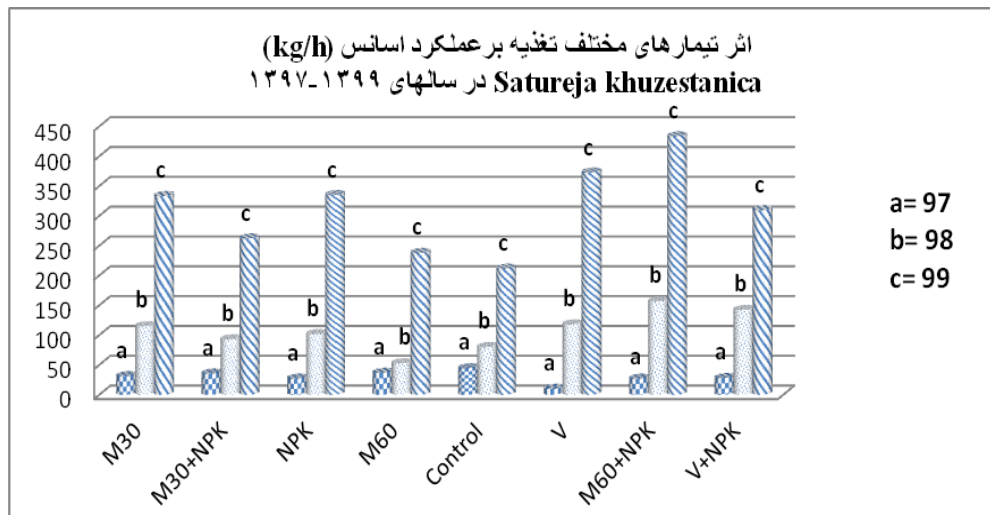
عملکرد اسانس (Kg/h)	درصد اسانس	تیمار
ab۵۵/۲۷	c۲/۹۱	کود گاوی ۳۰ تن در هکتار (M30)
bc۴۵/۳۲	bc۳/۱۸	کود گاوی ۳۰ تن در هکتار + کود شیمیایی (NPK+M30)
ab۵۳/۰۷	c۲/۹۴	اوره ۵۰، فسفر ۲۵ و پتاسیم ۲۵ کیلوگرم در هکتار (NPK+M30)
c۳۶/۳۷	d۲/۵۶	کود گاوی ۶۰ تن در هکتار (M60)
c۳۷/۳۸	d۲/۵۲	ورمی کمپوست ۵ تن در هکتار (Vermi 5t/h)
ab۵۸/۰۸	d۲/۳۴	شاهد (Control)
a۶۱/۷۹	a۴/۰۶	کود گاوی ۶۰ تن در هکتار + کود شیمیایی (NPK+M60)
ab۵۳/۳۰	b۳/۳۷	ورمی کمپوست + کود شیمیایی (Vermi+NPK)

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین آنها در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر سال بر بازده و عملکرد اسانس در هشت تیمار تغذیه‌ای گیاه دارویی مرزه خوزستانی کشت شده در باغ گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان (۱۳۹۷-۱۳۹۹)

عملکرد اسانس (Kg/h)	درصد اسانس	سال
c۱۲/۰۵	b۲/۴۵	اول
b۳۵/۸۱	b۲/۸۵	دوم
a۱۰۲/۳۶	a۳/۶۵	سوم

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین آنها در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.



نام کامل تیمارها در جدول ۲ نوشته شده است.

شکل ۱: اثر تیمارهای تغذیه بر عملکرد اسانس مرزه خوزستانی در شرایط اکولوژیک خرم آباد طی سالهای ۱۳۹۷-۱۳۹۹

جدول ۴: اثر کودهای تغذیه‌ای بر مقدار کارواکرول اسانس *Satureja khuzestanica* در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۹

سال	control	M30	NPK+M30	NPK(50,25,25)	M60	Vermi5	Vermi+NPK	NPK+M60
۹۷	۸۸/۸	۹۰/۱	۹۱/۱	۹۴/۹	۹۰/۷	۹۱/۴	۹۳/۶	۹۳/۳
۹۸	۸۹/۶	۹۱/۲	۹۱/۸	۹۶/۰	۹۲/۷	۹۳/۳	۹۲/۳	۹۰/۷
۹۹	۸۸/۸	۸۹/۲	۹۲/۴	۹۳/۱	۸۹/۸	۸۶/۴	۹۲/۶	۹۰/۶
میانگین	۸۹	۹۰/۲	۹۱/۸	۹۴/۷	۹۱/۱	۹۰/۴	۹۲/۸	۹۱/۵

نام کامل تیمارها در جدول ۲ نوشته شده است

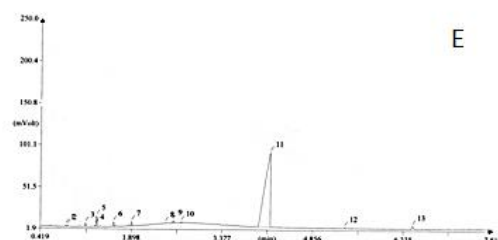
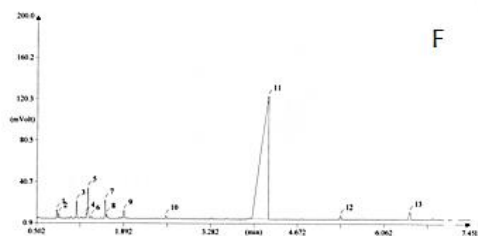
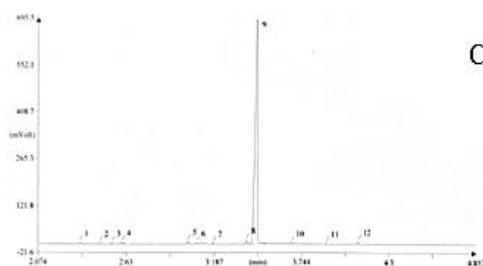
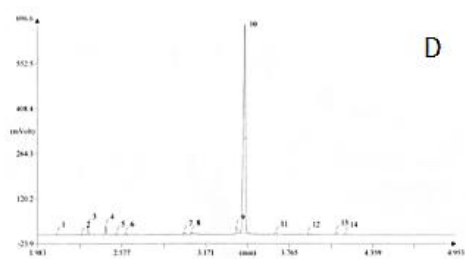
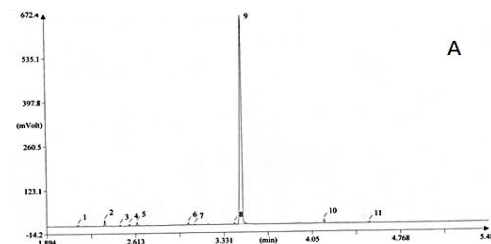
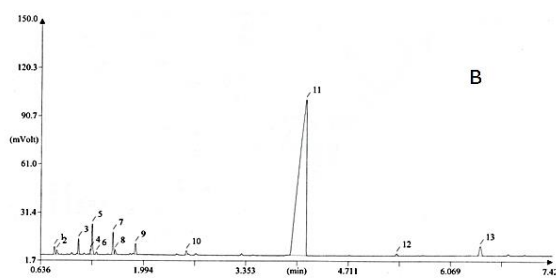
جدول ۵: اثر تیمارهای تغذیه بر بازده اسانس *Satureja khuzestanica* Jamzad. در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۹

سال	control	M30	NPK+M30	NPK(50,25,25)	M60	Vermi5	Vermi+NPK	NPK+M60
۹۷	۳/۲	۲/۵	۲/۷	۲/۲	۳/۱	۱/۱	۲/۴	۲/۴
۹۸	۲/۳	۲/۵	۳/۱	۲/۳	۱/۴	۳/۴	۳/۵	۴/۴
۹۹	۲/۱	۳/۸	۳/۸	۴/۳	۳/۲	۲/۵	۴/۲	۵/۴
میانگین	۲/۵	۲/۹	۳/۲	۲/۹	۲/۶	۲/۳	۳/۴	۴

جدول ۶: مقایسه ترکیبات اسانس تیمار شاهد با تیمار (N50P25K25)

ردیف	نام ترکیب	RI	۱۳۹۷		۱۳۹۸		۱۳۹۹	
			N50P25K25	control	N50P25K25	control	N50P25K25	control
۱	α -thujene	۹۱۹	---	---	---	۰/۴	۰/۲	۰/۷
۲	α -pinene	۹۴۱	---	---	---	۰/۲	۰/۱	۰/۴
۳	sabinene	۹۷۸	---	---	---	۰/۷	---	---
۴	β -pinene	۹۸۰	---	---	---	---	---	---
۵	myrcene	۱۰۰۲	۰/۲	---	---	---	۰/۶	۰/۴

۶	1,8-cineole	۱۰۱۸	---	---	۰/۳	---	---	---
۷	α -terpinene	۱۰۴۶	---	---	---	۰/۳	۰/۲	---
۸	p- cymene	۱۰۵۵	۱/۲	---	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۲/۸
۹	γ - terpinene	۱۰۸۶	۱/۲	۲/۸	۰/۲	۱/۹	---	۱/۶
۱۰	terpinenolene	۱۱۰۲	۰/۴	۰/۳	۰/۲	۰/۳	---	۰/۴
۱۱	linalol	۱۱۱۷	۰/۸	۱/۶	۰/۵	۰/۱	۰/۸	۰/۸
۱۲	terpinen-4-ol	۱۲۲۴	۰/۵	۰/۸	۰/۶	۰/۶	۰/۵	---
۱۳	α - terpineol	۱۲۴۰	۰/۲	۰/۴	۰/۲	۰/۴	---	---
۱۴	thymol	۱۳۲۲	۰/۴	---	۰/۹	۰/۳	---	---
۱۵	carvacrol	۱۳۳۶	۹۴/۴	۸۸/۸	۹۶/۰	۸۹/۰	۹۳/۱	۸۸/۸
۱۶	E- caryophyllene	۱۴۸۰	---	---	۶/۰	۰/۲	۲/۱	۰/۵
۱۷	β -bisabolene	۱۵۰۰	---	---	---	---	۲/۱	۱/۳
۱۸	Caryophyllene	۱۶۶۰	۰/۲	---	---	۰/۸	---	---
مجموع			۹۹	۹۵/۲	۹۹	۹۹	۹۹/۷	۹۹/۶



شکل ۲: کروماتوگرام آنالیز اسانس تحت تاثیر تیمار N50P25K25 در سالهای ۹۷ (A)، ۹۸ (C)، ۹۹ (E) و شاهد در سالهای ۹۷ (B)، ۹۸ (D)، ۹۹ (F).

بحث

نتایج تجزیه واریانس برای دو صفت بازده و عملکرد اسانس که در جدول‌های (۱، ۲، ۳ و ۴) به ترتیب ارائه شده است، نشان دهنده این است که بین تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری در طول سال‌های اجرای طرح وجود داشت. براساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید که در اثر سال، اثر تیمار و اثر متقابل تیمار در سال تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بر این اساس در گیاه دارویی *S. khuzistanica* افزایش عملکرد اسانس در تیمار ۳۰ و ۶۰ تن در هکتار کود دامی به همراه NPK مشاهده شد، که نشان دهنده تاثیر مثبت کودهای آلی و شیمیایی بر رشد این گونه است. لذا نتایج به دست آمده نشان دهنده واکنش مثبت گیاه به استفاده از روش‌های تلفیقی و استفاده همزمان کودهای آلی و شیمیایی جهت افزایش صفات عملکردی می‌باشد. از آنجا که در تیمارهای تلفیقی با استفاده از ترکیب مناسبی از کودهای شیمیایی و آلی، وضعیت خاک بهبود پیدا کرده و بر اثر تغذیه مناسب گیاه، رشد و میزان فتوسنتز آن افزایش می‌یابد، می‌توان انتظار افزایش عملکرد وزن خشک و اسانس را داشت. افزایش صفات عملکردی گیاه در تیمار تلفیقی به دلیل افزایش در حجم کانونی گیاه، افزایش سطح برگ و در نتیجه استفاده و جذب بهتر نور است که می‌تواند بدلیل جذب بهتر و یکنواخت‌تر مواد غذایی در طول دوره رشد و همچنین اصلاح ساختار فیزیکی و شیمیایی خاک باشد (Malakuti, 1999, Francis, 1990). در این آزمایش نیز استفاده از کود شیمیایی خالص و دامی به تنهایی موثر نبود. ورمی کمپوست و کودهای زیستی به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر تاثیری در افزایش درصد اسانس نداشته اما عملکرد رویشی و در نتیجه عملکرد اسانس را افزایش می‌دهد (Rezaei Moadab et al., 2015).

در روش تغذیه مبتنی بر کودهای شیمیایی خالص، به دلیل آزادسازی سریع عناصر غذایی در خاک، گیاه فقط در ابتدای رشد وضعیت مطلوبی خواهد داشت و در روش تغذیه ارگانیک نیز به دلیل آزادسازی آهسته عناصر غذایی از کود دامی و همچنین کمبود عناصر پر نیازی چون نیتروژن و فسفر گیاه در طول دوره رشد از وضعیت مناسب تغذیه‌ای برخوردار نمی‌باشد (Malakuti, 1999, Sharifi Ashurabadi et al., 2001). در یک بررسی مشخص شد که عملکرد کمی و کیفی اسانس رازیانه تحت تاثیر مقادیر ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار ازت تغییر نکرده است (Paschalina, 2006). از طرفی استفاده از کودهای دامی خالص نیز به دلیل کمبود برخی از عناصر پر مصرف شرایط مناسب تغذیه‌ای را برای رشد گیاه فراهم نمی‌کنند (Sharifi Ashurabadi et al., 2003). در این تحقیق نیز در مجموع سه سال آزمایش، استفاده از کود شیمیایی خالص یا کود آلی به تنهایی به اندازه تلفیق این دو کود موثر نبود.

براساس نتایج به دست آمده در سال اول تا سال سوم آزمایش در اسانس مرزه خوزستانی و در همه تیمارهای اعمال شده کارواکول (۸/۸۸-۹/۹۴، ۶/۸۹-۰/۹۶، ۸/۸۸-۱/۹۳ درصد) ترکیب اصلی و غالب اسانس بود. با توجه به مقادیر قابل توجه کارواکول در اسانس سایر ترکیبات ناچیز بودند (جدول ۴). در تحقیقات قبلی کارواکول این گونه در شرایط وحشی و زراعی بین ۸۰ تا ۹۶/۵ درصد گزارش شده بود (Ahmadi et al. 2009, Hadian et al., 2011). همچنین در بررسی اسانس مرزه خوزستانی در سه رویشگاه طبیعی این گیاه کارواکول بیشترین ترکیب سازنده اسانس در همه رویشگاه‌ها (تخته‌چان و منگره در لرستان به ترتیب به میزان ۸۷/۶ و ۹۴/۶ درصد و لیوس در خوزستان ۹۰/۷ درصد) بود (Dousti, 2016)، که با نتایج تحقیق حاضر تطابق

اسانس مرزه خوزستانی تیمار V5+NPK عملکرد اسانس را در دو سال زراعی نسبت به سایر تیمارها افزایش داد (Mohammadi et al., 2021). در این آزمایش عملکرد اسانس مرزه خوزستانی در تیمار V+NPK در سال دوم بعد از تیمار M60+NPK در سال دوم قرار گرفت.

نتیجه گیری نهایی

تامین عناصر غذایی مورد نیاز از عوامل تاثیر گذار بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان دارویی است. نتایج این پژوهش نشان دهنده پاسخ مثبت گیاه دارویی مرزه خوزستانی به تیمارهای تغذیه بود. به طور کلی در بین تیمارهای بکار رفته، تلفیق کود شیمیایی و ۶۰ تن در هکتار کود گاوی نسبت به سایر تیمارها بیشترین تاثیر مثبت را در افزایش بازده و عملکرد اسانس مرزه خوزستانی داشت.

دارد. در تحقیق دیگری اجزای اصلی اسانس این گونه پاراسیمن (۳۶/۹ درصد) و کارواکرول (۲۹/۶ درصد) گزارش شده بود که در مقایسه با این تحقیق میزان کارواکرول آن بسیار پایین می باشد (Farsam et al., 2004).

نتایج این آزمایش نشان داد که مرزه خوزستانی بیشترین بازده اسانس را در تیمارهای M60+NPK و V+NPK به ترتیب با میانگین ۴ و ۳/۴ درصد داشت (جدول ۵). بازده اسانس مرزه خوزستانی در رویشگاه های تخته چان، منگره و لویس به ترتیب ۲/۸، ۱/۶ و ۱/۴ درصد گزارش شده بود (Dosti, 2016) که بسیار کمتر از نتایج بدست آمده در این پژوهش است. استفاده از تیمارهای تغذیه بازده اسانس را به طور معنی داری تغییر می دهد و نقش اساسی در تعیین کمیت و کیفیت اسانس ایفا می کند (Pandi et al., 2015). در بررسی اثر تیمارهای تغذیه بر عملکرد

References

- Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Ardakani, M.R., Paknejad, F. and Lebaschi, A.H. 2007. Effects of different rates and methods for nitrogen application on morphological characteristics and yield of Balm (*Melissa officinalis* L.) under field condition. *Journal of Agricultural Sciences*, 13 (1):127 - 137.
- Ahmadi, Sh., Sefidkan, F., Babakhanlou, P., Asgari, F., Khademi, K., and Karimifar, M.A. 2009. Comparing essential oil composition of *Satureja bachtiarica* Bunge. before and full flowering stages in field and provenance. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 25 (2): 159-169.
- Albiach R., Canet R., Pomares F. and Ingelom F. 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*, 76:125-129
- Ali, U., Sajid, N., Khalid, A., Rabbani, M.M., Syed, J.H. and Malik, R.N. 2015. A review on vermicomposting of organic wastes. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 34(4), 1050-1062.
- Arancon, N., Edwards, C.A., Bierman, P., Welch, C. and Metzger, J.D. 2004. Influences of vermicompost on field strawberries:1. Effects on growth and yields. *Bioresource Technology*, 93:145-153.
- Atiyeh, R.M., Arancon, N., Edwards, C.A. and Metzger, J.D. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Tech.*, 84(1): 7-14.
- Blundell, R., Schmidt, J.E., Lgwe, A., Cheung, A.L., Vannette, R.L., Gaudin, A.C.M. and Castell, C.L. 2020. Organic management promotes natural pest control through altered plants resistance to insects. *Nature plants*, 6:483-491.

- Darzi, M.T., Qalavand, A. and Rajali, F. 2009. The effects of biofertilizers application on n.p.k. assimilation and seed yield in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Journal of medicinal and aromatic plants research, 25 (1): 1-19.
- Darzi, M.T., Qalavand, A. and Rejali, F. 2008. Effect of application of Mycorrhiza, vermicompost and biophosphate fertilizer on flowering, biological yield and root coexistence in fennel. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 10 (1): 88-109.
- Darzi, M.T., Qalavand, A. Rejali, F., and Sefidkon, F. 2006. Application of biofertilizers on yield and yield components of Fennel. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 22 (4): 276-292.
- Dousti, B. 2016. Quantitative and qualitative comparison of *Satureja khuzestanica* essential oil in different habitats in west and south-west Iran. Journal of plant research (Iranian Journal of biology), 29(2): 377-384.
- Farrokhi, E., Koochaki, A., Nassiri Mahallati, M. and Khademi, R. 2018. The effect of manure, chemical and biological fertilizers on *Aloe vera* growth in Bushehr province. Journal of agroecology, 10(1): 1-21.
- Farsam, H., Amanlou, M., Radpour, M.R., Salehnia, A.N. and Shafiee, A. 2004. Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad. from Iran. Journal of flavour and fragrance, 19(4): 308-310.
- Francis, C.A., Bulter, F.C. and King, L.D. 1990. Sustainable agriculture in temperate zones. John Wiley and sons. New York, 487 pp.
- Hadian, J., Mirjalilia, M.H., Kananib, M.R., Salehnia, A. and Ganjipoor, P. 2011. Phytochemical and morphological characterization of *Satureja khuzistanica* Jamzad. populations from Iran. Chemistry and biodiversity, 8: 902
- Hazrati Yadkori, S., and Tahmasebi Sarvestani, Z. 2012. Effects of different nitrogen fertilizer levels and hormone benzyl adenine (BA) on growth and ramet production of *Aloe vera* L. Iranian journal of medical and aromatic plants, 28(2): 210-223.
- Jahani, M., Besharati, H., and Golchin, A. 2011. Effect of iron and zinc enriched vermicompost on plant dry weight and seedling emergence of corn single cross 704. Iranian Journal of Soil Research, 25(1): 33-38.
- Jamzad, Z. 2012. Flora of Iran, No. 76: Lamiaceae. Agricultural research, education and extension organization research institute of forest and rangelands, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, P:1066.
- Luic, J. and Pank B. 2005. Effect of vermicompost and fertility levels on growth and oil yield of Roman chamomile. Scientia Pharmaceutica, 46: 63-69.
- Malakuti, J., 1999. Sustainable agriculture and increasing yield by optimizing fertilizer consumption in Iran. Agricultural Education Publications, 411 pages.
- Mohammadi, M., Sefidkon, F., Asadi-Sanam, S. and Kalatejari, S. 2021. Effects of nutritional treatments on morphological characteristics and essential oil yield of *Satureja khuzistanica* Jamzad. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(2):193-213
- Naiji, M. and Souri, M.K. 2015. Evaluation of growth and yield of savory (*Satureja hortensis*) under organic and biological fertilizers toward organic production. Plant productions, 38(3): 93-105.
- Nooshkaam, A., Majnoon Hosseini, N., Hadian, J., Jahansoz, M.R., Khavazi, K., Salih Nia, A.N. and Hedayatpour, S., 2016. Investigating the effect of biological and chemical fertilizers on the chemical and qualitative characteristics of medicinal plant *Satureja khuzistanica* Jamzad. Crop production, 8(4):87-103.
- Pandey, V., Patel, A. and Patra, D.D. 2015. Amelioration of mineral nutrition productivity, antioxidant activity and aroma profile in marigold (*Tagetes minuta* L.) with organic and chemical fertilization. Industrial Crops and Products, 76: 378-385.
- Paschalina, S., Koutsos, T.V. and Katsiotis, S.T. 2006. Study of nitrogen fertilizers rate on fennel cultivars for essential oils yield and composition. Journal of Vegetable science, 12: 85- 93.

- Peyvandi, M., Rafati, A. and Mirza, M. 2009. The effect of nitrogen and phosphorus on the growth and amount of sweet *Artemisia* essential oil. Iranian journal of medicinal and aromatic plants research, 25 (1): 84-75.
- Prabha, M.L., Jayraaj, I.A., Jayaraj, S. and Rao, D.S. 2007. Effect of vermicompost on growth parameters of selected vegetable and medicinal plants. Asian journal of microbiology, biotechnology Jayraaj, research and environmental sciences, 9: 321-326.
- Rahimzadeh, S., Sohrabi, Y., Heidari, G. and Pirzad, A. 2011. The effect of biofertilizers on some morphological traits and yield of the medicinal plant Badershbo (*Dracocephalum moldavica* L.). Journal of horticultural sciences, 25(3): 335-343
- Rezaei Moadab, A., Nabavi Kalat, S.M. and Sadrabadi Haghghi, R. 2015. Effect of vermicompost and biofertilizers on vegetative yield and essential oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) in climatic conditions of Mashhad. Journal of agricultural ecology, 5 (4): 362-350
- Rezvani Moghadam, P., Amin Ghafoori, A., Bakhshaei, S. and Jafari, L. 2013. Study the effects of biological and organic fertilizers on quantitative traits and essential oil of savoy (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology, 5(2): 105-112.
- Saeednejad A.H. and Rezvani Moghaddam, P. 2010. Effect of compost, vermicompost and cattle manure on yield, yield components and oil content of *Cuminum cyminum*. Journal of Horticultural Science, 24: 142-148. (in Persian with English summary).
- Sharifi Ashourabadi, E., Matin, A.A.Gh. and Lebaschi, M. H. 2003. Investigate of physiological growth indices in fennel (*Foeniculum Vulgare* Mill.) in different methods of soil fertilization. Iranian medicinal and aromatic plants research, 19(2):157-182.
- Sharifi Ashurabadi, A., Qalavand, A., Noor Mohammadi, Q., Matin, A., Aminf G., Babakhanlou, P., Bachechi, M. and Sefidkan, F. 2001. Effect of fertilization and manur on seed yield and biomass of fennel. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 3(1): 1-26.
- Scheffer M.C. and Koehler, S. 1993. Influence of organic fertilization on the biomass, yield and yield composition of the essential oil of *Achillea millefolium*. Acta Horticulture, 331:109-114.
- Sepahvand, A., Kordbache, P., Delfhan, B., Zeini, F., Hashemi, S. and Mahmoodi, M. 2005. Antifungal effects of essential oil of *Satureja khuzistanica*s in region of Lorestan with method of in vitro. Iran. J. Yafteh. Lorestan univ. Medical sci, 2:37-43
- Yazdani Biuki, R., Rezvani Moghaddam, P., Khazaei, Kh., Ghorbani, Q. and Astaraei, A. 2010. Effects of salinity and drought stresses on germination characteristics of marigold seeds. Iranian Agricultural Research, 8(1): 12-19.

Comparison of the essential oils of medicinal plant populations of *Eryngium noeanum* Boiss. and *Eryngium iranicum* Mozaff in Iran

Abdolbaset Mahmoudi¹, Mohammad-Taghi Ebadi¹, Mahdi Ayyari^{1*} 

¹Department of Horticultural Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, Email: m.ayyari@modares.ac.ir

Article type:	Abstract
Research article	In this study <i>Eryngium noeanum</i> Boiss. from four different regions of Alamot (AL) (Qazvin province), Ahuan Col (AH) (Semnan), Razaqan (RZ) (Markazi province), and Bashm Col (BA) (Semnan) and also, <i>Eryngium iranicum</i> Mozaff. from Nikpey village (NP) (Zanjan) at elevations of 1600, 1980, 2450, 2150, and 1400 m above the sea level were collected during the summer 2018. The shade-dried plant materials were hydro-distilled by a cleverger apparatus. Qualitative and quantitative analyses of the essential oils were carried out by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and GC-FID, respectively. The essential oil contents were obtained as 0.3, 0.4, 0.55, 0.2, and 0.1% (w/w) for AL, AH, RZ, BA, and NP, respectively. The main components of essential oils were amorpho-4,11-diene (14.0, 17.6, 9.0, and 13.6%), δ -selinene (21.5, 40.5, 23.1, and 35.7%), spathulenol (4.6, 0.7, 6.4 and 5.5%), eudesm-7(11)-en-4-ol (3.4, 0.5, 6.7, and 4.4%), and <i>cis</i> -falcarinol (20.3, 1.0, 20.0, and 15.2%) for AL, AH, RZ, and BA, respectively. Also, the main components of the essential oils in NP sample were <i>n</i> -octanal (12.8%), myrtenol (12.5%), and <i>cis</i> -falcarinol (13.5%). The main compounds in different populations of <i>E. noeanum</i> and <i>E. iranicum</i> essential oils were sesquiterpenes (about 70-90%) and non-terpene (56%), respectively. <i>Eryngium noeanum</i> Boiss. is a medicinal rangeland and native plant of Iran, has not been given due attention. Despite prickly appearance, it has a big aerial part with considerable essential oil contents including valuable sesquiterpenes and polyacetylenic compounds ranking it among the highly commercial essential oils worldwide. This calls for many research studies in different fields as extensive biological studies on the essential oil components of this plant can greatly help determine and standardize its quality.
Article history Received: 01-10-2022 Revised: 19-11-2022 Accepted: 21-11-2022	
Keywords Essential oil Zul-e-Biabani <i>cis</i> -Falcarinol δ -Selinene Rangeland plants	

Cite this article as: Mahmoudi, A., Ebadi, M.T., Ayyari, M. (2023). Comparison of volatile compounds in some *Eryngium noeanum* Boiss. Populations and *Eryngium iranicum* Mozaff. in Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 49-64.



©The author(s)
Doi: 10.30495/ejmp.2023.702346

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.4.5



مقایسه ترکیبات فرار جمعیت‌هایی از گیاه دارویی *Eryngium noeanum* Boiss. و *Eryngium iranicum* Mozaff. در ایران

عبدالباسط محمودی^۱، محمدتقی عبادی^۱، مهدی عیاری^{۱*}

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، رایانامه: m.ayyari@modares.ac.ir

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	در این مطالعه اندام هوایی گونه <i>Eryngium noeanum</i> Boiss. با نام فارسی "زول بیابانی"، از چهار رویشگاه مختلف الموت (AL) (استان قزوین)، گردنه آهوان (AH) (سمنان)، رازقان (RZ) (مرکزی) و گردنه بشم (BA) (سمنان) و گونه <i>Eryngium iranicum</i> Mozaff. از اطراف روستای نیک‌پی (NP) (زنجان) به ترتیب با ارتفاع ۱۶۰۰، ۱۹۸۰، ۲۴۵۰، ۲۱۵۰ و ۱۴۰۰ متر از سطح دریا در تیر ماه سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید. نمونه‌های گیاهی خشک شده در سایه، با روش تقطیر با آب توسط کلونجر اسانس‌گیری شد. آنالیز کیفی و کمی اسانس به ترتیب توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) و دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC-FID) انجام شد. محتوای اسانس به ترتیب، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵۵، ۰/۲ و ۰/۱ درصد (وزنی/وزنی) برای AL، AH، RZ، BA و NP بود. مهمترین ترکیبات نمونه اسانس‌ها شامل: آمورفا-۱۱،۴-داین ^۱ (۱۴/۰، ۱۷/۶، ۹/۰ و ۱۳/۶ درصد)، گاما-سلینین ^۲ (۲۱/۵، ۴۰/۵، ۲۳/۱ و ۳۵/۷ درصد)، اسپاتولنول ^۳ (۴/۶، ۰/۷، ۶/۴ و ۵/۵ درصد)، اودیسم-۱۱-ان-۴-آل ^۴ (۳/۴، ۰/۵، ۶/۷ و ۴/۴ درصد) و سیس-فالكارینول ^۵ (۲۰/۰، ۱/۰، ۲۰/۳ و ۱۵/۲ درصد) به ترتیب برای نمونه‌های AL، AH، RZ و BA بود. همچنین در نمونه NP مهمترین ترکیبات نمونه اسانس شامل: ان-اکتانال ^۶ (۱۲/۸ درصد)، میرتنول ^۷ (۱۲/۵ درصد) و سیس-فالكارینول (۱۳/۵ درصد) بود. عمده ترکیبات موجود در اسانس گونه <i>E. noeanum</i> در جمعیت‌های مختلف را سزکوئی‌ترین‌ها (حدود ۷۰-۹۰ درصد) و عمده ترکیبات اسانس <i>E. iranicum</i> را ترکیبات غیرترینی (۵۶ درصد) تشکیل می‌دهد. زول بیابانی از دسته گیاهان دارویی مرتعی و بومی ایران، که کمتر مورد توجه قرار گرفته است. علیرغم ظاهری تیغ دار، دارای پیکره رویشی بزرگ، درصد اسانس قابل قبول و همچنین ترکیبات سزکوئی‌ترینی و پلی استیلنی ارزشمندی است که می‌تواند در میان اسانس‌های تجاری دنیا قرار بگیرد. همچنین پایه تحقیقات متعدد دیگر در حوزه‌های مختلف باشد. مطالعات بیولوژیک بر ترکیبات اسانس این گیاه، می‌تواند به تعیین معیار کیفیت و استاندارد سازی آن کمک بسیار زیادی کند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۰۹	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۲۸	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۳۰	
واژه‌های کلیدی:	
اسانس	
زول بیابانی	
سیس-فالكارینول	
گاما-سلینین	
گیاهان مرتعی	

استناد: محمودی، عبدالباسط؛ عبادی، محمدتقی؛ عیاری، مهدی. (۱۴۰۲). مقایسه ترکیبات فرار جمعیت‌هایی از گیاه دارویی *Eryngium noeanum* Boiss. و *Eryngium iranicum* Mozaff. در ایران. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۶۴-۴۹.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.702346
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.4.5

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان.



1. Amorpha-4,11-diene
2. δ -selinene
3. Spathulenol
4. Eudesm-7(11)-en-4-ol
5. *cis*-Falcarinol
6. *n*-Octanal
7. Myrtenol

مقدمه

دریا گزارش شده است (Mozaffarian, 2013). در رابطه با ترکیبات اسانس یا اثرات فارماکولوژیک این گونه از زول تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. جنس *Eryngium L.* در طب سنتی اروپا استفاده می‌شود و به دلیل داشتن ترکیباتی مانند فنولیک اسید، فلاونوئیدها، تری‌ترپنوئید ساپونین‌ها، مشتقات کومارینی، استیلن‌ها و اسانس آن‌ها خواصی همانند مدر بودن، ضد دیابت، ضد التهاب، ضد اسپاسم، ضد درد، ضد قارچ و ضد انعقاد خون از این گیاهان مشاهده شده است (Duke et al., 2002; Le Claire et al., 2005; Küpeli et al., 2006; Zhang et al., 2011; Thiern et al., 2008). در ایران، عرق بعضی از گونه‌های این جنس تحت عنوان عرق بوقناق برای پایین آوردن سطح گلوکز خون استفاده می‌شود. با توجه به مطالعه‌های پیشین این جنس محتوای بالایی از اسانس ندارند (Żukowski and Jackowiak, 1995) به گونه‌ای که در گزارش تیم و همکاران (Thiern et al., 2011) مقدار اسانس برای گونه *E. planum* از ۰/۰۵ درصد و ۰/۲۳ درصد به ترتیب برای ریشه و قسمت گل‌دهنده بود. در مطالعه مربوط به اسانس دو گونه *E. thyrsoideum* و *E. billardieri* مقدار اسانس به ترتیب از ۰/۰۷-۰/۰۵ درصد و ۰/۳۵-۰/۰۲ درصد برای این دو گونه با توجه به مناطق مختلف گزارش شد (Mahmoudi et al., 2019; Mahmoudi et al., 2020) ولی با این وجود اسانس این گونه‌ها دارای گستره‌ی وسیعی از ترکیبات از جمله سزکوئی‌ترین‌های آلفا-بیسابولول^۲، آلفا-مورولن^۳ و جرماکرن^۴ و ترکیبات اکسیژن‌دار غیرترپنی مانند تری متیل بنزآلدهاید^۵ و ترانس-۲-دودسینال^۶ می‌باشد (Merghache et al., 2014);

جنس *Eryngium L.* یکی از جنس‌های خانواده چتریان و زیر خانواده Saniculoidea می‌باشد. در این خانواده ۲۷۴ گونه از این جنس وجود دارد که در جهان در آسیای مرکزی، آمریکا، مرکز و جنوب شرقی اروپا مانند لهستان، شمال آفریقا و استرالیا گسترش دارند (Wo'rz, 2005; Wo'rz and Diekmann, 2019; Sepanlou et al., 2010). این جنس در ایران دارای ۱۱ گونه بوده و در اکثر مناطق مختلف ایران از جمله شمال، غرب، شمال‌غرب، شرق، شمال‌شرق، مرکز و حتی جنوب کشور پراکنش دارند. گونه‌های این جنس به علاوه با نام فارسی زول شناخته می‌شود که همه گونه‌های آن کم و بیش معطر بوده و هر یک دارای عطر قوی تا ضعیف می‌باشند. به علت خاردار بودن آن‌ها در طب سنتی کمتر استفاده می‌شوند (Mozaffarian, 2012). همچنین از گیاهان این جنس در منابع طب سنتی ایران با نام "قَرَصَعَنَه"^۱ یاد شده است (Sepanlou et al., 2019). گونه *Eryngium noeanum* Boiss گیاهی چندساله، خاردار، دارای ساقه‌ای عموماً منفرد، به رنگ سفید روشن، با ارتفاع حدوداً ۱۲۰ سانتی‌متر که با نام فارسی "زول بیابانی" در ایران از آن یاد می‌شود (Mozaffarian, 2012; Mozaffarian, 2008). گونه *E. iranicum* Mozaff. گیاهی چندساله با ریشه اصلی و بلند، قاعده ساقه پوشیده شده از بقایای فیبری برگ‌های سال گذشته، ساقه گیاه بلند انفرادی به ارتفاع ۲۵ تا ۵۵ سانتی‌متر که در قسمت پایین رنگ آن مایل به سفید و در قسمت بالایی مایل به آبی می‌باشد. برگ‌های این گونه گیاهی برخلاف گونه‌های دیگر زول در ایران دارای خار نمی‌باشد. این گونه در ایران برای اولین بار در حدفاصل زنجان به سمت میانه (حدوداً ۶۰ کیلومتر از زنجان به میانه) در ارتفاع حدوداً ۱۳۵۰ متری از سطح

1. Qaracaane

2. α -bisabolol
3. α -muurolene
4. Germacrene D
5. Trimethylbenzaldehyde
6. trans-2-dodecenal

(Merghache et al., 2014). فاکتورهای محیطی از عوامل مهم تاثیر گذار بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان مختلف می‌باشد. از این بین عواملی مانند ارتفاع از سطح دریا تاثیر بالایی بر میزان موثره دارد. به گونه‌ای که در گیاه لعل کوهستان افزایش ارتفاع باعث کاهش مقدار ترکیبات اسانس مانند کارواکرول^{۱۴} و همچنین محتوای اسانس کاهش می‌یابد. اما در مطالعه اثر اقلیم بر محتوای اسانس *Achillea aucheri* مشخص شد که افزایش ارتفاع اثر افزایشی بر میزان اسانس این گیاه دارد (Ale Omrani et al., 2019; Farhang et al., 2014). بر این اساس با در نظر گرفتن اثرات فاکتورهای محیطی و مراحل مختلف رشد بر روی کمیت و کیفیت اسانس که در مطالعه‌های مختلفی به آن اشاره شده است (Nejadhabibvash et al., 2018; Bylait et al., 2000;) Santos-Gomes et al., 2001) و نبود گزارشی در رابطه با شناسایی ترکیبات اسانس این دو گونه و همچنین اهمیت این گیاهان در صنعت عرق‌گیری ایران، گیاهان از مناطق مختلف برای ارزیابی کمی و کیفی ترکیبات اسانس و مقایسه آن‌ها با یکدیگر، جمع‌آوری شدند. در واقع این مطالعه اولین گزارش بر روی شناسایی ترکیبات اسانس این گونه‌ها از ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه: اندام هوایی *E. noeanum* در مرحله گلدهی در تیر ماه ۱۳۹۷ جهت بررسی ترکیبات فرار، از مناطق الموت (استان قزوین)، گردنه آهوان (سمنان-دامغان)، رازقان (استان مرکزی)، گردنه بشم (سمنان-فیروزکوه) و همچنین اندام هوایی *E. iranicum* در مرحله گلدهی در تیر ماه ۱۳۹۷ از نیکپی (استان زنجان) جمع‌آوری گردید. جدول ۱،

Sefidkon et al., 2004; Wong et al., 1994; Darriet et al., 2014). ترکیبات ترانس-۲-دودسینال با مقدار ۲۸/۴ درصد، ۱۳-تترادسینال^۱ (۲۷/۴ درصد)، دودکانال^۲ (۱۴/۶ درصد) و ۵،۴،۲-تری متیل بنزآلدهاید^۳ (۱۰/۷ درصد) از ترکیبات اصلی اسانس برگ *E. foetidum* گزارش شد. به علاوه در اسانس ساقه این گونه ترکیبات دودکانال (۲۰/۲ درصد)، ۵،۴،۲-تری متیل بنزآلدهاید (۱۸/۴ درصد) و ترانس-۲-دودسینال مقدار ۸/۳ درصد از اسانس را شامل می‌شد. ترکیبات شاخص موجود در اسانس مربوط به ریشه این گیاه شامل: ۵،۴،۲-تری متیل بنزآلدهاید (۵۶/۰ درصد)، ۱۳-tetradecenal (۹/۳ درصد) و *trans-2-dodecenal* با مقدار ۷/۶ درصد بود (Thomas et al., 2017). در اسانس قسمت‌های مختلف گونه *E. planum* ترکیباتی همچون مونوترپن‌ها (لیمونن^۴، آلفا-پینن^۵ و بتا-پینن^۶) و سزکوئی‌ترپن‌های هیدروژن‌دار در برگ‌های رزت و ساقه‌ای آن مشاهده شد. به علاوه ترکیب سیس-کریزانتیل استات^۷ به همراه استرهای دیگری همچون پروپینوات^۸، بوتانوات^۹، هگزانوات^{۱۰} و اکتانوات^{۱۱} از عمده ترکیبات موجود در قسمت گل‌دهنده این گونه بودند. سیس-فالکارینول و ۴،۳،۲-تری متیل بنزآلدهاید^{۱۲} از ترکیبات اصلی اسانس ریشه گیاه بودند (Thiem et al., 2011). ترکیبات اصلی اسانس گونه *E. tricuspdatum* شامل آلفا-بیسابولول (۳۲/۶ درصد) و آلفا-کورکومن^{۱۳} (۶/۵ درصد) بود

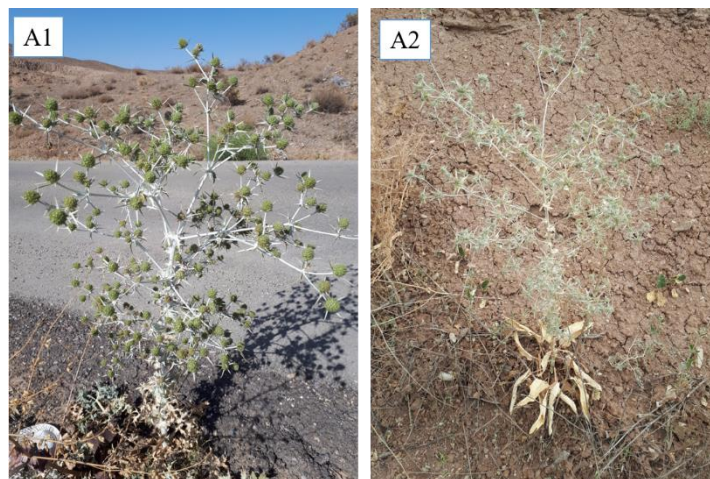
1. 13-tetradecenal
2. Dodecanal
3. 2,4,5-trimethylbenzaldehyde
4. Limonene
5. α -Pinene
6. β -Pinene
7. *cis*-chrysanthenyl acetate
8. Propionate
9. Butanoate
10. Hexanoate
11. Octanoate
12. 2,3,4-trimethylbenzaldehyde
13. α -curcumene

14. Carvacrol

ویژگی‌های جغرافیایی مناطق جمع‌آوری را نشان می‌دهد. شکل A-۱ ساختار اندام هوایی گیاه *E. noeanum* و شکل A-۲ ساختار اندام هوایی *E. iranicum* را نشان می‌دهد.

جدول ۱: ویژگی‌های جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

نام محل	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	میانگین دمای سالانه (°C)	اقلیم	میانگین بارندگی سالانه (mm)
الموت	۲۱°۳۶'۹/۵"	۴۹°۵۰'۱۸"	۱۶۰۰	۱۵	نیمه خشک سرد	۳۱۸
گردنه آهوان	۴۵°۳۵'۲۴"	۴۲°۵۳'۲۲"	۱۹۸۰	۱۹/۵	خشک و نیمه خشک	۱۱۶
رازقان	۲۰°۳۵'۲۲"	۵۶°۴۹'۲۲"	۲۴۵۰	۱۵/۱	خشک و نیمه خشک	۲۶۵
گردنه بشم	۵۰°۳۵'۲۲"	۲۶°۵۳'۲۲"	۲۱۵۰	۱۹	خشک	۲۹۰
نیک‌پی	۵۷°۳۶'۳۲"	۰۶°۴۸'۲۲"	۱۴۰۰	۱۴	خشک و سرد	۳۰۶



شکل ۱: A1: تصویر اندام هوایی *E. noeanum* و A2 تصویر اندام هوایی *E. iranicum* در مرحله گلدهی

گازکروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) نگهداری شدند.

شناسایی ترکیبات اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC و GC-MS: دستگاه گازکروماتوگراف (GC) Agilent مدل 7890B، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی آن با ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع و سپس با افزایش دمای ۵ درجه در دقیقه تا دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت و در نهایت، به مدت ۲ دقیقه در آن دما حفظ شد. دمای

اسانس‌گیری: اندام‌های گیاهان مورد نظر در دمای محیط در سایه خشک و ۱۰۰ گرم نمونه خشک به وسیله آسیاب به قطعات ریز خرد شده و با روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شدند (British Pharmacopoeia, 1988). آبیگری نمونه‌های اسانس توسط سدیم سولفات (Na_2SO_4) انجام گرفت و درصد اسانس به صورت وزنی/وزنی اندازه‌گیری شد. سپس اسانس‌ها در داخل ویال در بسته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان تزریق به دستگاه گازکروماتوگرافی (GC) و

E. noeanum دارای بویی مطبوع نبود. مقدار اسانس در این نمونه حدودا ۰/۱۱ درصد بدست آمد (شکل ۴). به طور کلی ۳۸ ترکیب با درصدهای متفاوت از اسانس گونه *E. noeanum* شناسایی شدند (جدول ۲). در نمونه AL حدودا ۹۵/۹ درصد ترکیبات اسانس شناسایی شد. گستره درصد ترکیبات، ۲۱/۵ - ۰/۱ درصد، ترکیبات اصلی در این نمونه گاما-سلینین (۲۱/۵ درصد)، سیس-فالکارینول (۲۰/۳ درصد)، آمورفا-۱۱،۴-داین (۱۴/۰ درصد) و اپی-آلفا-کادینول^۱ (۵/۲ درصد) بود. ترکیبات شناسایی شده در نمونه AH حدودا ۹۲/۵ درصد از اسانس را شامل می‌شدند و حد آن‌ها ۴۰/۵ - ۰/۱ درصد بوده، ترکیبات شاخص اسانس این نمونه گاما-سلینین (۴۰/۵ درصد)، آمورفا-۱۱،۴-داین (۱۷/۶ درصد)، بتا-سزکوئی فلاندرن^۲ (۸/۰ درصد) و ترانس-کارپوفیلین^۳ (۵/۹ درصد) بودند. به علاوه در نمونه RZ درصد شناسایی ترکیبات اسانس ۹۶/۴ درصد، رنج کمترین مقدار تا بیشترین آن ۲۳/۱ - ۰/۱ درصد بوده و شاخص‌ترین ترکیبات گاما-سلینین (۲۳/۱ درصد)، سیس-فالکارینول (۲۰/۰ درصد)، آمورفا-۱۱،۴-داین (۹/۰ درصد)، سزکوئی سینتول^۴ (۸/۴ درصد) و اودیسم-۷(۱۱)-ان-۴-آل (۶/۷ درصد) بودند. درصد کل ترکیبات شناسایی شده در نمونه BA ۹۶/۵ درصد بوده و کمترین تا بیشترین مقدار آن به ترتیب ۳۵/۷ - ۰/۱ درصد مربوط به ترکیب ترانس-بتا-اوسیمین^۵ و گاما-سلینین بود. به علاوه دیگر ترکیب‌های اصلی آمورفا-۱۱،۴-داین (۱۳/۷ درصد)، سیس-فالکارینول (۱۵/۱ درصد)، اسپاتونول (۵/۵ درصد) و اپی-آلفا-کادینول (۵/۱ درصد) بودند (جدول ۲). بعلاوه در اسانس گونه *E. iranicum* ۲۴ ترکیب شناسایی شد که

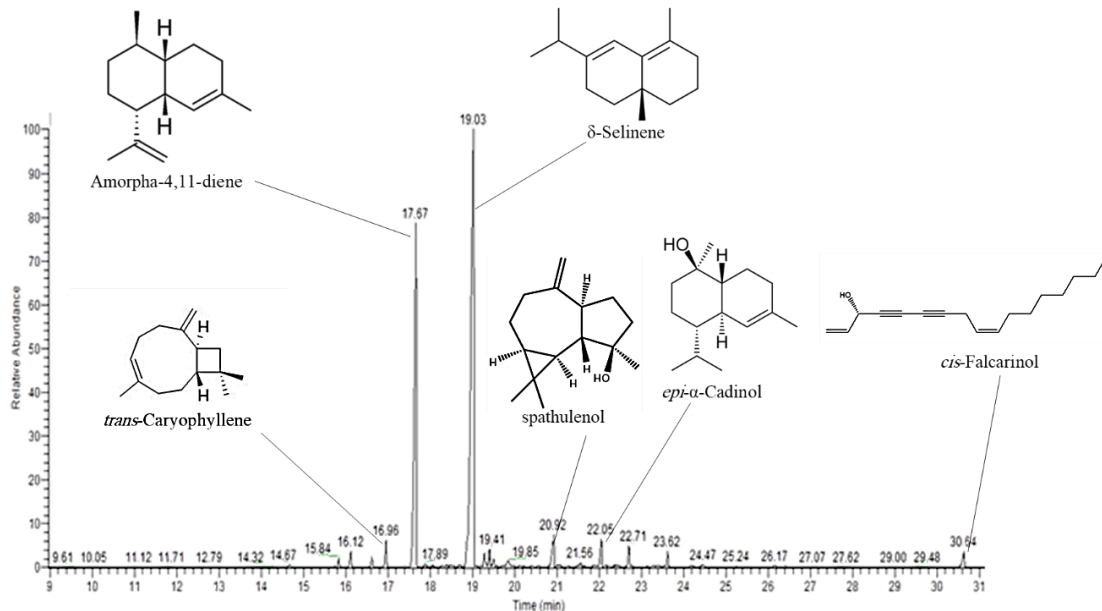
تزریق ۲۵۰ درجه و دمای شناسایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم با درصد خلوص ۹۹۹/۹۹٪، با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دستگاه گاز کروماتوگراف Termoquest-Finnigan متصل به طیف سنج جرمی Trace mass spectrometer به همراه ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر برای آنالیزهای کیفی مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی مشابه دستگاه GC، دمای منبع یون و رابط حرارتی به ترتیب ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل هلیوم با ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص بازداری و مطابقت هر ترکیب با منابع از طریق تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C8-C24) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها به دست آمد. همچنین مقایسه طیف‌های جرمی هر ترکیب با کتابخانه‌های موجود که شامل Adams، Wiley و Main library بود نیز انجام شد.

نتایج

در مطالعه حاضر ترکیبات اسانس اندام هوایی گونه‌های *E. noeanum* و *E. iranicum* توسط دستگاه GC-MS و GC مورد ارزیابی کمی و کیفی قرار گرفت. این دو گونه دارای اسانسی با رنگ زرد پررنگ تا نارنجی بودند. اسانس گونه *E. noeanum* دارای بویی مطبوع بود. مقدار اسانس گونه مورد نظر در این مطالعه با توجه به محل جمع‌آوری متفاوت بود. به صورتی که این مقدار برای نمونه‌های AL، AH، RZ و BA به ترتیب ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵۵ و ۰/۲ درصد بدست آمد. بیشترین و کمترین این مقدار به ترتیب مربوط به نمونه‌های RZ و BA بود. اسانس گونه *E. iranicum* همانطور که بیان شد دارای رنگ زرد پررنگ تا نارنجی بود. اما همانند اسانس گونه

1. *epi-α-cadinol*
2. *β-sesquiphellandrene*
3. *trans-caryophyllene*
4. *sesquicimene*
5. *trans-β-ocimene*

۸۰/۴ درصد از کل ترکیبات اسانس را شامل می‌شد. شناسایی نداشت. البته یک ترکیب با درصد نسبتاً زیادی نیز قابلیت



شکل ۲: کروماتوگرام GC-MS مربوط به اسانس گیاه *E. noeanum* از گردنه آهوان

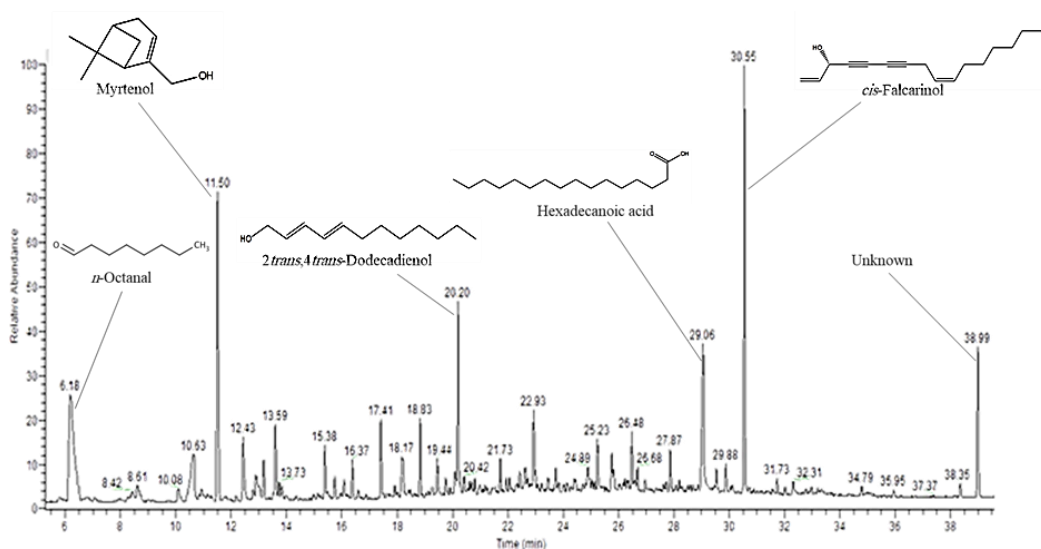
مربوط به زول بیابانی کمتر بود. درصد ترکیبات مونوترپنی در اسانس نمونه NP نسبت به نمونه‌های دیگر در این مطالعه چندین برابر بیشتر بود. با توجه به جدول ۲ مقدار ترکیبات مونوترپنی در نمونه NP حدوداً ۲۰ درصد بود درحالی‌که بیشترین مقدار این ترکیبات در اسانس گونه *E. noeanum* مربوط به نمونه AL با مقدار ۲/۳ درصد بود. جمعیت‌های مختلف گونه زول بیابانی از مناطق مختلف جمع‌آوری شدند (جدول ۱) که تفاوت‌هایی در رابطه با محتوای اسانس و ترکیبات آن در بین این جمعیت‌ها مشاهده شد (جدول ۲). این تفاوت به دلیل تفاوت در ویژگی‌های اقلیمی هر منطقه برمی‌گردد. به گونه‌ای که در جمعیت AL در ارتفاع ۱۶۰۰ متری از سطح دریا مقدار اسانس ۰/۳ درصد بود با افزایش ارتفاع به ۱۹۸۰ متر در نمونه AH مقدار اسانس به ۰/۴ درصد افزایش پیدا کرد و در نمونه BA به ۰/۵۵ درصد رسید

با توجه به نتایج شناسایی ترکیبات اسانس (جدول ۲) تفاوت قابل توجهی بین اسانس این دو گونه از زول از نظر کمی و کیفی وجود داشت. ترکیبات شاخص موجود در اسانس این گونه شامل این-اکتانال (۱۲/۸ درصد)، میرتنول (۱۲/۵ درصد)، سیس-فالکارینول (۱۳/۵ درصد) و هگزادکانوئیک اسید (۷/۵ درصد) بود. به طور کلی غالباً ترکیبات موجود در اسانس گونه *E. noeanum* از دسته ترکیبات سزکوئی-ترین بودند که بیشترین (۸۹/۴ درصد) و کمترین (۶۹/۳ درصد) آن‌ها به ترتیب مربوط به نمونه‌های AH و AL بود. اما مقدار این دسته از ترکیبات در اسانس نمونه NP بسیار کمتر بود. بیشترین درصد ترکیبات اسانس در گونه *E. iranica* با مقدار ۵۶/۵ درصد را ترکیبات غیرترپنی شامل می‌شد، که این مقدار در اسانس نمونه‌های AL، AH، RZ و BA

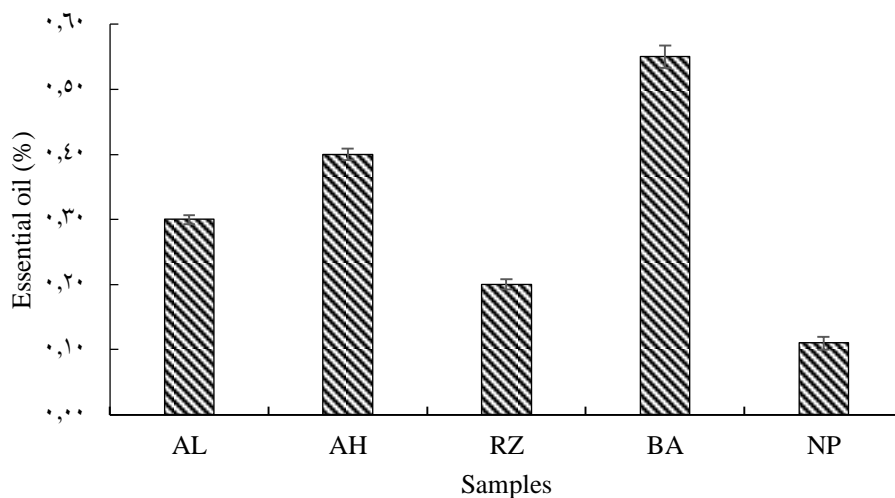
1. Hexadecanoic acid

دریا تغییراتی مانند درصد اسانس داشت. در نمونه RZ ترکیب آمورفا-۱،۴-داین همانند درصد اسانس آن با افزایش ارتفاع کاهش پیدا کرد.

اما در نمونه RZ که در ارتفاعی بالاتر از تمام نمونه‌ها جمع‌آوری شد، مقدار آن کاسته شد و به ۰/۲ درصد رسید. اصلی‌ترین ترکیب اسانس زول بیابانی که گاما-سلین بود، در اثر عوامل اقلیمی مانند ارتفاع از سطح



شکل ۳: کروماتوگرام GC-MS مربوط به اسانس گیاه *E. iranicum* از نیکپی



شکل ۴: مقایسه درصد محتوای اسانس چهار جمعیت از گونه *E. iranicum* از مناطق مختلف AL: *E. noeanum* نمونه الموت، AH: *E. noeanum* نمونه گردنه آهوان، RZ: *E. noeanum* نمونه رازقان، BA: *E. noeanum* نمونه گردنه بشم و NP: *E. iranicum* نمونه نیکپی

برخلاف گونه *E. thyrsoideum* دارای بیشترین مقدار اسانس می‌باشد (Mahmoudi et al., 2020). که این تفاوت می‌تواند ناشی از پتانسیل خود گونه و اثر

بحث
در بین گونه‌های این جنس که تا این زمان از نظر اسانس از ایران مقایسه شده‌اند گونه *E. noeanum*

سلینین^۱ در مطالعه سودفیان و همکاران (Sodeifian et al., 2017) از گونه *E. billardieri* با مقدار ۳/۲ درصد گزارش شد (Sodeifian et al., 2017). همچنین ترکیب بتا-سلینین و آلفا-سلینین^۲ به ترتیب با مقدار ۰/۷ درصد و ۱/۰ درصد در گونه *E. serbicum* گزارش شد (Capetanios et al., 2007). در گزارش بروفی و همکاران (Brophy et al., 2003) اسانس گونه *E. pandanifolium* حاوی درصد بالایی از دو ترکیب فوق بود (Brophy et al., 2003). شناسایی ترکیبات اسانس *E. planum* نشان داد که ترکیب سیس-فالکارینول با مقدار ۶۴/۴ درصد و ۴۹/۱ درصد به ترتیب در ریشه و ساقه‌های تشکیل شده در کشت بافت این گونه مشاهده شد. مقدار این ترکیب در اسانس دو گونه مورد بررسی در مطالعه حاضر جزء ترکیب شاخص بود اما مقدار آن نسبت به اسانس گونه *E. planum* بسیار کمتر بود (Thiem et al., 2011). در مطالعه محمودی و همکاران (Mahmoudi et al., 2020) بر روی بررسی ترکیبات اسانس گونه *E. thyrsoideum* جمع‌آوری شده از مناطق الموت (استان قزوین)، صلوات‌آباد (سنندج، استان کردستان) و پایگلان (مریوان، استان کردستان)، ترکیب ۶،۳،۲-تری متیل بنزآلدهاید^۳ به ترتیب ۱۸/۶ درصد، ۳۴/۰ درصد و ۱۱/۵ درصد در این گونه حضور داشت (Mahmoudi et al., 2020) در حالی که مقدار این ترکیب در دو گونه *E. iranikum* و *E. noeanum* در این مطالعه نسبت به گونه مذکور بسیار کمتر بود. این ترکیب به علاوه با ۲۱/۰ درصد در گونه *E. billardieri* جمع‌آوری شده از گنجانامه همدان مشاهده شد (Mahmoudi et al., 2019) مقدار این ترکیب در گونه *E. planum* همانند این دو گونه کم بود و حداکثر آن در قسمت گل‌دهنده با مقدار ۱/۶

عوامل اقلیمی مختلف بر روی کمیت اسانس آن باشد. به صورت کلی گونه‌های *Eryngium* L. بازده اسانس بالایی ندارند. در گزارش‌های زیادی به این موضوع اشاره شده است (Mahmoudi et al., 2020; Merghache et al., 2014; Brophy et al., 2003; Kikowska et al., 2020). به عنوان مثال بازده اسانس اندام هوایی در گونه *E. thyrsoideum* زیر ۰/۱ درصد می‌باشد. به علاوه مقدار اسانس اندام هوایی *E. maritimum* بین ۰/۱۳ - ۰/۰۶ درصد گزارش شده است (Darriet et al., 2014). همچنین مقدار اسانس در گونه *E. pandanifolium* (۰/۳ درصد) و *E. tricuspidatum* (۰/۹ درصد) به مراتب پایین‌تر از گونه *E. noeanum* در این مطالعه بود (Merghache et al., 2014; Brophy et al., 2003). مقدار اسانس گونه *E. iranikum* تقریباً در حد مقدار اسانس گونه *E. tricuspidatum* بود. رنگ اسانس گونه‌های مختلف *Eryngium* از زرد بسیار کم‌رنگ تا بی‌رنگ (*E. thyrsoideum*)، زرد کم‌رنگ (*E. glomeratum*)، تا زرد (*E. tricuspidatum*) و زرد مایل به سبز (*E. palmatum*) متفاوت می‌باشد (Marcetic et al., 2014; Landoulsi et al., 2016; Merghache et al., 2014; Mahmoudi et al., 2020). که در این مطالعه همانطور که بیان شد رنگ اسانس گونه زول بیابانی زرد پررنگ تا نارنجی و دارای بویی مطبوع بود. رنگ اسانس گونه *E. iranikum* نیز زرد پررنگ تا نارنجی بود اما همانند اسانس زول بیابانی بوی مطبوعی نداشت. علاوه بر کمیت اسانس و خصوصیات ظاهری آن، شاخص مهم دیگر اسانس کیفیت آن می‌باشد. با توجه به نتایج جدول ۲، ترکیب گاما-سلینین در تمام نمونه‌های مربوط به گونه زول بیابانی جزء شاخص‌ترین ترکیبات بوده و اسانس این گیاه می‌تواند منبع خوبی برای این ترکیب باشد. از خانواده این ترکیب، بتا-

1. β -selinene2. α -selinene

3. 2,3,6-trimethyl benzaldehyde

E. iranicum بسیار کمتر از گونه‌های ذکر شده در بالا بود (Capetanos et al., 2007). همانگونه که اشاره شد، غالباً ترکیبات در اسانس گونه *E. iranicum*، ترکیبات غیرترپنی بودند و نسبت به اسانس گونه زول بیابانی مقدار این دسته از ترکیبات دو برابر یا حتی بیشتر بود. در اسانس دو گونه *E. serbicum* و *E. palmatum* درصد ترکیبات غیرترپنی به ترتیب ۸/۰ و ۷/۰ درصد بود که نسبت به گونه *E. iranicum* مقدار بسیار پایینی را شامل می‌شدند (Capetanos et al., 2007). همانطور که اشاره شد ویژگی‌های اقلیمی باعث تفاوت در مقدار اسانس و ترکیبات آن شده است. از بین عوامل اقلیمی یکی از فاکتورهای اصلی که باعث ایجاد تغییرات کمی و کیفی اسانس در گیاهان می‌شود، ارتفاع از سطح دریا می‌باشد (Farhang et al., 2014; Ale Omrani Nejad et al., 2019). در این مطالعه توده‌های مختلف زول بیابانی برداشت شده از ارتفاع‌های مختلف بود، هرچند که دیگر عوامل اقلیمی در این چهار محل برداشت متفاوت بودند و نمی‌توان از اثر آن‌ها چشم‌پوشی کرد، اما اقلیم دو منطقه گردنه آهوان و بشم و همچنین ارتفاعی که گیاهان از آن جمع‌آوری شدند تقریباً شبیه بود و دو اقلیم دیگر شامل: الموت و رازقان ارتفاع پایین‌تر و بالاتری نسبت به گردنه آهوان و بشم داشتند و خصوصیات اقلیمی آن‌ها متفاوت‌تر بود. کمیت و کیفیت اسانس در گردنه آهوان و بشم نسبت به الموت و رازقان بهتر بود. که با مقایسه ارتفاع این چهار منطقه می‌توان گفت که با افزایش ارتفاع، در این گونه گیاهی مقدار اسانس افزایش پیدا کرده است. یعنی مقدار اسانس در نمونه AL کمتر بوده و با افزایش ارتفاع مقدار اسانس دو جمعیت AH و BA افزایش یافته است. در مقابل محتوای اسانس نمونه RZ در ارتفاع بالاتر کاهش یافت که نشان دهنده افزایش اسانس تا یک ارتفاع خاص برای این

درصد گزارش شد (Thiem et al., 2011). ترکیب بتا-سزکوئی فلاندرن که در گونه *E. noeanum* یکی از ترکیبات شاخص بود در مقایسه با مقدار آن در گونه‌های *E. glomeratum* و *E. barrelieri* که حداکثر دارای ۰/۴ درصد از این ترکیب در اسانس خود بودند به مراتب بیشتر بود (Landoulsi et al., 2016). ترکیب ان-اکتانال یکی از ترکیبات شاخص اسانس گونه *E. iranicum* بود درحالی‌که مقدار این ترکیب در اسانس گونه *E. thyrsoideum* بسیار کمتر و در حد ۰/۷ درصد بود (Mahmoudi et al., 2020). همچنین ترکیب هگزادکانوئیک اسید در اسانس گونه *E. caucasicum* به مقدار ۷/۲ درصد مشاهده شد که تقریباً با مقدار این ترکیب در اسانس گونه *E. iranicum* در این مطالعه برابر بود (Hashemabadi and Kaviani., 2011). مقدار ترکیبات مونوترپن هیدروژن‌دار مانند آلفا-پینن، بتا-پینن و میرسن^۱ در گونه زول بیابانی در مقایسه با دو گونه *E. serbicum* و *E. palmatum* بسیار پایین بوده به این صورت که در اسانس این گونه‌ها مقدار آلفا-پینن به ترتیب ۵/۷ درصد و ۴/۴ درصد و مقدار بتا-پینن در اسانس گونه *E. serbicum* ۴/۳ درصد بود (Capetanos et al., 2007). مقدار کل مونوترپن‌ها در مطالعه کاپتانوس و همکاران (Capetanos et al., 2007) در اسانس گونه *E. serbicum* ۱۹/۱ درصد و گونه *E. palmatum* ۱۴/۲ درصد اسانس را شامل می‌شد این مقدار نسبت به مونوترپن‌های گونه زول بیابانی بسیار بیشتر بود اما تقریباً با ترکیبات مونوترپن گونه *E. iranicum* در این مطالعه برابر بود. مقدار سزکوئی‌ترین‌های مربوطه به ترتیب در دو گونه *E. serbicum* و *E. palmatum* ۶۶/۳ درصد و ۷۰/۰ درصد بوده درحالی که مقدار این نوع ترکیبات در اسانس گونه *E. noeanum* بیشتر بود. اما مقدار این ترکیبات در اسانس گونه

1. Myrcene

دمای سالانه، نوع اقلیم و ارتفاع (حدودا تا ۲۰۰۰ متر از سطح دریا) تقریبا مشابه هستند. اما دو جمعیت دیگر در ارتفاعی پایین تر (AL) یا بالاتر (RZ) رویش یافته‌اند که باعث کاهش مقدار اسانس و درصد ترکیب گاما-سلینن در آن‌ها شده است. ترکیب آمورفا-۴،۱۱-داین نیز که یکی از ترکیبات اصلی می-باشد، در اسانس نمونه RZ مقدار آن کاسته شده است. که می‌تواند ناشی از رویش آن در ارتفاعی متفاوت از سطح دریا با سایرین باشد. در مطالعه آل عمرانی نژاد و همکاران (Ale Omrani Nejad et al., 2019) مشخص شد که مقدار ترکیب کارواکرول در اسانس گیاه لعل کوهستان همبستگی منفی و معنی-داری با افزایش ارتفاع دارد که با افزایش ارتفاع مقدار آن کاسته شده است.

گونه می‌باشد. افزایش مقدار اسانس با افزایش ارتفاع در مطالعه فرهنگ و همکاران (Farhang et al., 2014) برای گیاه *Achillea aucheri* نشان داده شده است که همسو با افزایش اسانس در جمعیت‌های AH و BA می‌باشد. در گیاه لعل کوهستان (*Oliveria decumbens*) نیز محتوای اسانس با افزایش ارتفاع کاهش پیدا کرده است (Ale Omrani Nejad et al., 2019). ترکیب اصلی در اسانس این گیاه گاما-سلینن بود که مقدار آن در بین این چهار جمعیت از زول بیابانی تغییراتی مانند محتوای اسانس داشت. دو جمعیت AH و BA که در موارد ذکر شده از جمعیت‌های بهتر از نظر محتوای اسانس نسبت به بقیه بودند؛ در اقلیم‌هایی تقریبا مشابه با توجه به جدول ۱ رشد و تکامل پیدا کرده بودند. که از نظر میانگین

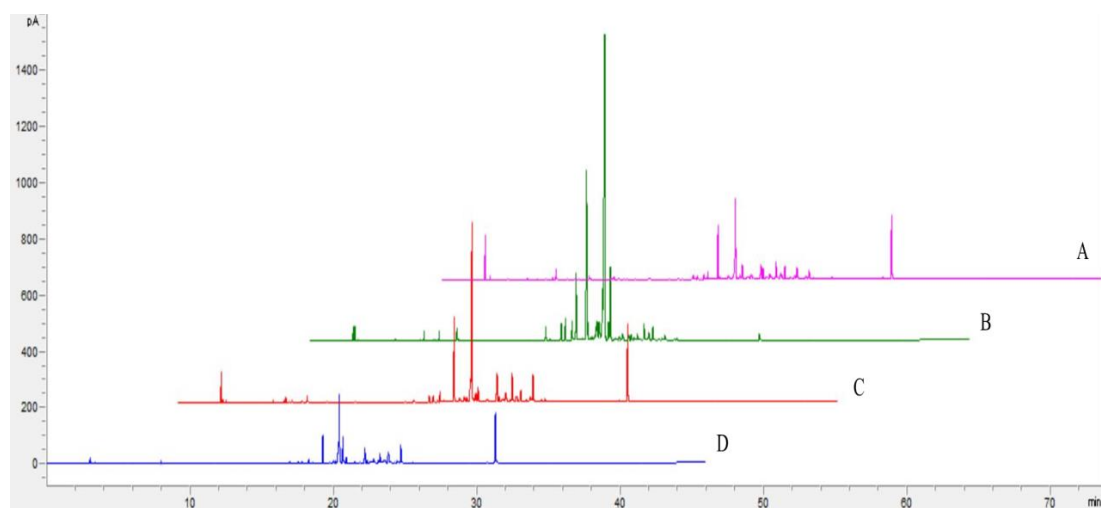
جدول ۲: کمیت و کیفیت ترکیبات موجود در اسانس اندام‌های هوایی در مرحله گلدهی چهار جمعیت از گونه *E. noeanum* و گونه *E. iranicum* از مناطق مختلف

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری محاسباتی	درصد ترکیبات اسانس				
			<i>E. noeanum</i>		<i>E. iranicum</i>		
			BA	RZ	AH	AL	NP
۱	Heptanal	۹۰۶	tr*	tr*	tr*	۰/۱	-
۲	α -Pinene	۹۳۶	tr*	tr*	tr*	۰/۱	-
۳	Sabinene	۹۷۶	۰/۳	۰/۱	۰/۱	۰/۳	-
۴	β -Pinene	۹۸۳	۰/۶	tr*	۰/۱	۰/۲	-
۵	Myrcene	۹۹۰	۰/۳	tr*	tr*	۰/۱	-
۶	2-Pentyl furan	۹۹۲	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۵	-
۷	n-Octanal	۱۰۰۷	۰/۸	۱/۰	۰/۷	۲/۳	۱۲/۸
۸	Sylvestrene	۱۰۳۳	-	-	۰/۱	۰/۱	-
۹	trans- β -ocimene	۱۰۴۶	۰/۱	-	۰/۷	۰/۲	-
۱۰	n-Undecane	۱۰۹۹	-	tr*	tr*	۰/۱	-
۱۱	n-Nonanal	۱۱۰۸	-	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۱/۶
۱۲	2-trans-Nonen-1-al	۱۱۶۵	-	۰/۴	۰/۱	۰/۷	-
۱۳	2-cis-Nonen-1-al	۱۱۶۶	-	-	-	-	۱/۰
۱۴	Octanoic acid (=caprylic acid)	۱۱۸۷	-	-	-	-	۵/۶
۱۵	Myrtenol	۱۲۱۹	-	-	-	-	۱۲/۵
۱۶	Geraniol	۱۲۵۳	-	-	-	-	۲/۸
۱۷	2-trans-Decenal	۱۲۶۷	-	-	-	-	۰/۷

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری محاسباتی	درصد ترکیبات اساس				
			<i>E. noeanum</i>			<i>E. iranicum</i>	
			BA	RZ	AH	AL	NP
۱۸	Allyl octanoate	۱۲۷۰	-	-	-	-	۰/۸
۱۹	Thymol	۱۲۹۶	-	-	-	-	۳/۴
۲۰	Carvacrol	۱۳۰۵	-	-	-	-	۰/۶
۲۱	δ -Elemene	۱۳۳۷	-	tr*	۱/۲	۰/۱	-
۲۲	α -Cubebene	۱۳۴۹	-	۰/۲	۰/۱	۰/۲	-
۲۳	2,3,6-Trimethyl benzaldehyde	۱۳۶۴	۰/۴	۰/۵	-	۰/۱	۲/۳
۲۴	Geranyl acetate	۱۳۷۸	-	-	-	-	۰/۷
۲۵	α -Copaene	۱۳۷۹	tr*	۰/۱	۰/۱	۰/۲	-
۲۶	β -Patchoulene	۱۳۷۹	۰/۹	۰/۶	۱/۴	۱/۰	-
۲۷	Anisyl methyl ketone	۱۳۹۱	-	-	-	-	۰/۶
۲۸	β -Elemene	۱۳۹۳	۰/۹	۰/۶	۲/۰	۰/۹	-
۲۹	α -Gurjunene	۱۴۱۲	۱/۵	۱/۳	۱/۷	۱/۳	-
۳۰	<i>trans</i> -Caryophyllene	۱۴۲۶	۰/۲	۰/۷	۵/۹	۲/۰	-
۳۱	Aromadendrene	۱۴۴۳	tr*	-	۰/۱	۰/۱	-
۳۲	Amorpha-4,11-diene	۱۴۵۴	۱۳/۶	۹/۰	۱۷/۶	۱۴/۰	-
۳۳	α -Humulene	۱۴۶۳	-	tr*	۱/۶	۰/۷	-
۳۴	Dehydro aromadendrene	۱۴۷۰	۰/۸	-	۰/۲	۰/۱	-
۳۵	<i>cis</i> - β -Guaiene	۱۴۸۲	۰/۷	۰/۵	۰/۸	۰/۶	-
۳۶	Germacrene D	۱۴۸۷	۰/۷	۱/۱	۱/۷	۰/۶	-
۳۷	δ -Selinene	۱۵۰۹	۳۵/۷	۲۳/۱	۴۰/۵	۲۱/۵	-
۳۸	Sesquicineole	۱۵۲۰	۰/۹	۸/۴	۲/۰	۱/۶	-
۳۹	δ -Cadinene	۱۵۲۵	۱/۳	۱/۲	-	-	-
۴۰	β -Sesquiphellandrene	۱۵۲۸	۲/۷	۲/۰	۸/۰	۴/۷	-
۴۱	β -Vetivenene	۱۵۴۳	۰/۶	۰/۸	۰/۸	۱/۳	-
۴۲	<i>2trans,4trans</i> -Dodecadienol	۱۵۵۸	-	-	-	-	۵/۵
۴۳	Dodecanoic acid	۱۵۶۵	-	-	-	-	۰/۸
۴۴	γ -Undecalactone	۱۵۷۷	-	-	-	-	۰/۶
۴۵	Spathulenol	۱۵۸۸	۵/۵	۶/۴	۰/۷	۴/۶	۰/۵
۴۶	14-hydroxy-9- <i>epi-trans</i> -Caryophyllene	۱۶۲۳	-	-	-	-	۱/۲
۴۷	<i>epi</i> - α -Cadinol	۱۶۳۷	۵/۱	۳/۸	۱/۶	۵/۲	-
۴۸	α -Cadinol	۱۶۶۶	۲/۰	۶/۶	۱/۳	۳/۵	-
۴۹	Campherone	۱۶۷۶	-	-	-	-	۲/۳
۵۰	(<i>2cis,6cis</i>)-Farnesol	۱۶۹۸	۰/۴	۰/۵	۰/۱	۰/۵	-
۵۱	Eudesm-7(11)-en-4-ol	۱۷۰۷	۴/۴	۶/۷	۰/۵	۳/۴	-
۵۲	7,14-Anhydro- amorpha-4,9-diene	۱۷۴۷	۰/۶	۰/۴	۰/۳	۲/۵	-
۵۳	Isopropyl tetradecanoate	۱۸۱۱	-	-	-	-	۰/۶

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری محاسباتی	درصد ترکیبات اسانس				
			<i>E. noeanum</i>		<i>E. iranikum</i>		
			BA	RZ	AH	AL	NP
۵۴	6,10,14-Trimethyl-2-Pentadecanone	۱۸۴۳	-	-	-	-	۱/۸
۵۵	Hexadecanoic acid	۱۹۷۰	-	-	-	-	۷/۵
۵۶	Ethyl hexadecanoate	۱۹۹۵	-	-	-	-	۰/۷
۵۷	<i>cis</i> -Falcarinol	۲۰۲۷	۱۵/۲	۲۰/۰	۱/۰	۲۰/۳	۱۳/۵
۵۸	Unknown	؟	-	-	-	-	۴/۲
جمع کل شناسایی شده‌ها			۹۶/۴	۹۶/۳	۹۳/۲	۹۵/۹	۸۰/۴
جمع کل			۹۶/۴	۹۶/۳	۹۳/۲	۹۵/۹	۸۴/۶

*tr: مقدار ناچیز، کمتر از ۰/۱ درصد، AL: *E. noeanum* نمونه الموت، AH: *E. noeanum* نمونه گردنه آهوان، RZ: *E. noeanum* نمونه رازقان، BA: *E. noeanum* نمونه گردنه بشم و NP: *E. iranikum* نمونه نیکپی



شکل ۵: کروماتوگرام GC مربوط به اسانس چهار جمعیت از گونه *E. noeanum*: A: نمونه الموت (AL)، B: نمونه آهوان (AH)، C: نمونه گردنه آهوان (BA)، D: نمونه رازقان (RZ)

جدول ۳: نوع، تعداد و درصد گروه‌های اجزای موجود در اسانس *E. noeanum* و *E. iranikum*

نوع ترکیب	NP		AL		AH		RZ		BA	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مونوترپن	۶	۱/۹	۷	۲/۳	۷	۱/۸	۵	۰/۹	۶	۱۹/۹
سزکوئی‌ترین	۲۰	۷۷/۹	۲۲	۶۹/۳	۲۲	۸۹/۴	۲۱	۷۳/۲	۲۰	۷۷/۹
غیرترین	۶	۱۶/۶	۸	۲۴/۳	۷	۲	۸	۲۱/۲	۶	۱۶/۶
کل	۳۲	۹۶/۴	۳۷	۹۵/۹	۳۶	۹۳/۲	۳۴	۹۶/۳	۳۲	۹۶/۴

AL: *E. noeanum* نمونه الموت، AH: *E. noeanum* نمونه گردنه آهوان، RZ: *E. noeanum* نمونه رازقان، BA: *E. noeanum* نمونه گردنه بشم و NP: *E. iranikum* نمونه نیکپی

نتیجه‌گیری کلی

ترکیبات موثره آن می‌باشد که تا کنون گزارش دقیقی از آن منتشر نشده است و در صورت تایید مواد موثره اصلی، کیفیت ترکیبات فرار گونه‌های بوقناق می‌تواند بر اساس آن تنظیم و گزارش شود. این موارد می‌تواند به کشت و اهلی سازی گونه‌های در معرض انقراض بوقناق نیز کمک شایانی نماید. به خصوص گونه‌های *E. iranicum* و *E. noeanum* که گونه‌های بومی و انحصاری ایران هستند و گزارش حاضر نیز، پتانسیل بالای این گیاهان را نشان داد. لذا، اهلی سازی و کشت بر مبنای ماده موثره خاص، به مطالعات دقیق‌تر و کشف ماده موثره آن‌ها که بسیار ضروری می‌باشد، بستگی خواهد داشت. به علاوه این گزارش نشان داد که توجه به عوامل اقلیمی از جمله ارتفاع از سطح دریا در پروفایل ترکیبات فرار گونه زول بیابانی بسیار موثر می‌باشد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان داشت که از آنجا که عرق بوقناق با عنوان خاصیت کاهنده قند خون، موجود در بازار ایران از گونه‌های مختلف گیاه *Eryngium* تولید می‌گردد، گاه با اثرات درمانی مناسب و گاهی با نارضایتی مراجعان مواجه می‌شود که نیاز به استاندارد سازی مناسب دارد. جمع‌آوری این گونه‌ها بدون توجه به نوع گونه توسط افراد محلی انجام می‌گردد و وارد فرایند عرق‌گیری در صنعت می‌شوند و تمامی عرق‌های استحصال شده به عنوان عرق بوقناق شناخته می‌شوند که علاوه بر شناسایی گونه مناسب، باید تحقیقات لازم برای شناخت ترکیبات موثره آن نیز صورت پذیرد. استاندارد کردن فرآورده‌های مختلف از گیاه بوقناق، به خصوص عرق آن، وابسته به شناسایی دقیق

References

- Ale Omrani Nejad, S.M.H., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., Abdossi, V. and Khalighi-Sigaroodi, F. 2019. The impact of macro environmental factors on essential oils of *Oliveria decumbens* Vent. from different regions of Iran. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 14(2).
- British Pharmacopoeia. 1988. British pharmacopoeia London HMSO. 137-138.
- Brophy, J. J., Goldsack, R. J., Copeland, L. M. and Palá-Paúl, J. 2003. Essential oil of *Eryngium* L. species from New South Wales (Australia). *Journal of Essential Oil Research*. 15(6): 392-397.
- Bylaitė, E., Roozen, J.P., Legger, A., Venskutonis, P.R. and Posthumus, M.A. 2000. Dynamic head space-gas chromatography-olfactometry analysis of different anatomical parts of lovage (*Levisticum officinale* Koch) at eight growing stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(12): 6183-6190.
- Capetanios, C., Saroglou, V., Marin, P. D., Simic, A. and Skaltsa, H. D. 2007. Essential oil analysis of two endemic *Eryngium* L. species from Serbia. *Journal-serbian chemical Society*. 72(10): 961-965.
- Darriet, F., Andreani, S., De Cian, M. C., Costa, J. and Muselli, A. 2014. Chemical variability and antioxidant activity of *Eryngium maritimum* L. essential oils from Corsica and Sardinia. *Flavour and Fragrance Journal*. 29(1): 3-13.
- Duke, J.A., Bute-Godwin, M.J., du Cellier, J. and Duke, P.A. 2002. *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press, New York, 896p.
- Farhang, S. A., Kheyri, A., Soleymani, A. and Zibaseresht, R. 2015. Evaluation of morphological traits and oil contents of *Achillea aucheri* from different altitudes. *Journal of Medicinal Plants and By-products*. 4(2): 219-223.
- Hashemabadi, D. and Kaviani, B. 2011. Chemical constituents of essential oils extracted from the leaves and stems of *Eryngium caucasicum* Trautv. from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 14(6): 693-698.

- Kikowska, M., Kalembe, D., Dlugaszewska, J. and Thiem, B. 2020. Chemical composition of essential oils from rare and endangered species—*Eryngium maritimum* L. and *E. alpinum* L. *Journal of Plants*. 9(4): 417.
- Küpeli, E., Kartal, M., Aslan, S. and Yesilada, E. 2006. Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology*. 107(1): 32-37.
- Landoulsi, A., Roumy, V., Duhal, N., Skhiri, F. H., Rivière, C., Sahpaz, S. and Hennebelle, T. 2016. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts and roots of *Eryngium barrelieri* Boiss. and *Eryngium glomeratum* Lam. from Tunisia. *Chemistry & biodiversity*. 13(12): 1720-1729.
- Le Claire, E., Schwaiger, S., Banaigs, B., Stuppner, H. and Gafner, F. 2005. Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other Apiaceae. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53(11): 4367-4372.
- Mahmoudi, A., Ayyari, M. and Ebadi, M.T. 2019. Chemical Composition of Essential Oils in *Eryngium billardieri* F. Delaroche from Three Different Regions in Iran. In: proceedings of 8th National Congress on Medicinal Plants, 24-25 April., Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, pp. 454.
- Mahmoudi, A., Ebadi, M. T. and Ayyari, M. 2020. Aerial parts volatile components of three different accessions of *Eryngium thyrsoideum* Boiss. from Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 36(2): 245-258. (In Persian)
- Marcetic, M., Petrovic, S., Milenkovic, M., Vujisic, L., Tesevic, V. and Niketic, M. 2014. Composition and antimicrobial activity of root essential oil of Balkan endemic species *Eryngium palmatum*. *Chemistry of Natural Compounds*. 49(6): 1140-1142.
- Merghache, D., Boucherit-Otmani, Z., Merghache, S., Chikhi, I., Selles, C. and Boucherit, K. 2014. Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspdatum* L. essential oil. *Natural product research*. 28(11): 795-807.
- Mozaffarian, V. 2008. *Iranian Flora, Umbelliferae* (No. 54). Research Institute of Forests and Rangelands, 596p. (In Persian)
- Mozaffarian, V. 2012. Identification of medicinal and aromatic plants of iran. Farhang Moaser Published, 1350p. (In Persian)
- Mozaffarian, V. 2013. Two new species and two new records of Apiaceae from Iran. *Rostaniha*. 14(1): 36-42.
- Santos-Gomes, P. C. and Fernandes-Ferreira, M. 2001. Organ-and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *Journal of agricultural and food chemistry*. 49(6): 2908-2916.
- Sefidkon, F., Dabiri, M. and Alamshahi, A. 2004. Chemical composition of the essential oil of *Eryngium billardieri* F. Delaroche from Iran. *Journal of essential oil research*. 16(1): 42-43.
- Sepanlou, M. G., Ardakani, M. M., Hajimahmoodi, M., Sadrai, S., Amin, G. R., Sadeghi, N. and Lamardi, S. N. S. 2019. Ethnobotanical and traditional uses, phytochemical constituents and biological activities of *Eryngium* species growing in Iran. *Traditional Medicine Research*. 4(3): 148-159.
- Sodeifian, G., Sajadian, S. A. and Ardestani, N. S. 2017. Experimental optimization and mathematical modeling of the supercritical fluid extraction of essential oil from *Eryngium billardieri*: application of simulated annealing (SA) algorithm. *The Journal of Supercritical Fluids*. 127: 146-157.
- Thiem, B., Kikowska, M., Kurowska, A. and Kalembe, D. 2011. Essential oil composition of the different parts and in vitro shoot culture of *Eryngium planum* L. *Molecules*. 16(8): 7115-7124.
- Thomas, P., Essien, E., Ntuk, S. and Choudhary, M. 2017. *Eryngium foetidum* L. essential oils: chemical composition and antioxidant capacity. *Medicines*. 4(2): 24.
- Wong, K. C., Feng, M. C., Sam, T. W. and Tan, G. L. 1994. Composition of the leaf and root Oils of *Eryngium foetidum* L. *Journal of Essential Oil Research*. 6(4): 369-374.

- Wörz, A. and Diekmann, H. 2010. Classification and evolution of the genus *Eryngium* L.(Apiaceae-Saniculoideae): results of fruit anatomical and petal morphological studies. *Plant Diversity and Evolution*. 128(3-4): 387-408.
- Wörz, A. 2005. A new subgeneric classification of the genus *Eryngium* L. (Apiaceae, Saniculoideae). *Botanische Jahrbücher*. 126(2): 253-259.
- Zhang, Z., Li, S., Ownby, S., Wang, P., Yuan, W., Zhang, W. and Beasley, R. S. 2008. Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. *Phytochemistry*. 69(10): 2070-2080.
- Żukowski, W. and Jackowiak, B. 1995. *Gińące i zagrożone rośliny naczyniowe Pomorza Zachodniego I Wielkopolski*; Bogucki Wydawnictwo Naukowe Poznań: Górna Wilda, Poland: 22-25.



Phytochemical, antimicrobial, anticancer and anti-Alzheimer investigation of the hydro-alcoholic leaf extract of *Eucalyptus globulus* L. in laboratory conditions

Morteza Karimpour¹, Amir Arasteh^{1*} 

¹Department of biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran, Email: arasteh@iaurasht.ac.ir

Article type:	Abstract
Research article	This research evaluated the phytochemical, antimicrobial, anticancer and anti-Alzheimer properties of eucalyptus leaf extract (<i>Eucalyptus globulus</i> L.). The fresh leaves of the plant were collected from the suburbs of Rasht in the fall 2016. Extraction was done by maceration method and the composition of the extract was determined by GC-MS method. The antimicrobial effects of the extract were investigated on <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , and <i>Salmonella typhimurium</i> by agar well diffusion method and its MIC and MBC values were determined. The anticancer effect was determined by MTT test on the colon cancer cell line, the antioxidant effect was determined by DPPH method, and the inhibitory effect of the extract on the production of amyloid nano-fibrils was determined by Congo red spectroscopy. Eucalyptol and Globulol were the most abundant in the extract. The diameter of the halo of non-growth of Eucalyptus hydro-alcoholic extract in the well diffusion method on <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , and <i>Salmonella typhimurium</i> were 12, 22, 26, and 15 mm, respectively. Also, the results of MIC and MBC in <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> were 0.625 and 1.25, respectively. These results in <i>Listeria monocytogenes</i> were 1.25 and 2.5; also, the results of MIC and MBC in <i>Salmonella Typhimurium</i> were 5 and 10 mg/ml, respectively. The highest anticancer activity, antioxidant effect, and inhibition of the production of amyloid nano-fibrils were observed at 100, 10, and 0.4 mg/ml of the extract, respectively. Due to its antimicrobial, antioxidant, and anti-amyloidogenic properties, eucalyptus extract can help treat infection and reduce the growth of cancer cells and the complications of Alzheimer's disease.

Article history
Received: 25-12-2022
Revised: 16-05-2023
Accepted: 17-05-2023

Keywords
Antioxidant
Alzheimer
Antibacterial
Eucalyptus
Phytochemistry

Cite this article as: Karimpour, M., Arasteh, A. (2023). Phytochemical, Antimicrobial, Anticancer and Anti-Alzheimer investigation of the hydro-alcoholic leaf extract of *Eucalyptus globulus* L. in laboratory conditions. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 65-78.



©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Doi: 10.30495/ejmp.2023.1918213.1714

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.5.6



بررسی فیتوشیمیایی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد آلزایمیری عصاره هیدروالکلی برگ گیاه دارویی *Eucalyptus globulus* L. در شرایط آزمایشگاهی

مرتضی کریم پور^۱، امیر آراسته^{۱*}

^۱ گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، رایانامه: arasteh@iaurasht.ac.ir

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	این پژوهش به ارزیابی فیتوشیمیایی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد آلزایمیری عصاره برگ گیاه اکالیپتوس (<i>Eucalyptus globulus</i> L.) پرداخته است. برگ‌های تازه گیاه در پاییز ۱۳۹۶ از حومه رشت جمع آوری گردید. عصاره گیری به روش خیساندن و ترکیبات عصاره با روش گازکروماتوگرافی جرمی تعیین گردید. اثر ضد میکروبی عصاره علیه باکتری‌های <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> ^۱ ، <i>اشریشیاکلی</i> ^۲ ، <i>لیستریا مونوسیئوژنز</i> ^۳ و <i>سالمونلا تیغی موریوم</i> ^۴ با روش انتشار در آگار بررسی شد و مقادیر MIC و MBC آن تعیین گردید. اثر ضد سرطانی با آزمون MTT روی رده سلولی سرطان روده انجام شد و اثر آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH و اثر مهارتی عصاره بر تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی با طیف‌سنجی کنگورد تعیین گردید. ترکیبات اکالیپتول ^۵ و گلوبولول ^۶ بیشترین فراوانی را در عصاره داشتند. قطر هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس در روش چاهک روی باکتری‌های <i>اشریشیاکلی</i> ، <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> ، <i>لیستریا مونوسیئوژنز</i> و <i>سالمونلا تیغی موریوم</i> به ترتیب ۱۲، ۲۲، ۲۶ و ۱۵ میلی‌متر و نتایج MIC و MBC در باکتری‌های <i>اشریشیاکلی</i> و <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> به ترتیب ۰/۶۲۵ و ۱/۲۵ و در <i>لیستریا مونوسیئوژنز</i> به ترتیب ۱/۲۵ و ۲/۵ و در <i>سالمونلا تیغی موریوم</i> نیز به ترتیب ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. بیشترین فعالیت ضد سرطانی در غلظت ۱۰۰ و بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰ و بیشترین مهارت تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره مشاهده شد. عصاره اکالیپتوس به دلیل دارا بودن خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آمیلوئیدی می‌تواند به درمان عفونت، کاهش رشد سلول‌های سرطانی و عوارض ناشی از بیماری آلزایمر کمک کند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۴ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷	
واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان آلزایمر آنتی‌باکتریال اوکالیپتوس فیتوشیمی	

استناد: کریم پور، مرتضی؛ آراسته، امیر. (۱۴۰۲). بررسی فیتوشیمیایی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد آلزایمیری عصاره هیدروالکلی برگ گیاه *Eucalyptus globulus* L. در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۷۸-۶۵.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.1918213.1714
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.5.6

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان



1. *Staphylococcus aureus*
2. *Escherichia coli*
3. *Listeria monocytogenes*
4. *Salmonella typhimurium*
5. eucalyptol
6. globulol

مقدمه

دسترس برای تولید رشته‌های آمیلوئیدی مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق، عصاره هیدروالکلی *Eucalyptus globulus* L. مورد ارزیابی فیتوشیمیایی قرار گرفت و اثرات ضد میکروبی آن بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *سالمونلا تیفی موریوم* بررسی گردید. همچنین، اثرات آنتی اکسیدانی و مهارت آن بر رشد سلول‌های سرطانی و تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکلی: برگ‌های تازه *Eucalyptus globulus* L. در پائیز ۱۳۹۶ از حومه رشت جمع‌آوری شد و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت خشک و آسیاب گردید. در گام اول، ۱۰ گرم پودر خشک شده گیاه وزن و در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل شد. محلول به مدت ۷۲ الی ۹۶ ساعت روی شیکر قرار گرفت و عصاره آن از کاغذ صافی عبور داده شد. برای اطمینان از اینکه عصاره فاقد هر گونه آلودگی است، به مدت یک ساعت زیر نور UV قرار گرفت تا استریل شود. عصاره حاصله تا قبل از استفاده در یک ظرف دربسته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال نگه‌داری شد (Sadatrasul et al., 2017).

بررسی فیتوشیمیایی عصاره اکالیپتوس به روش گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-MS): در این تحقیق از دستگاه Agilent 6890 با ستون DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. ابتدا ۱۰ میکرولیتر از عصاره در سرنگ GC-MS قرار داده شد. برنامه دمایی آن از ۵۰ درجه آغاز شد و طی ۶۰ دقیقه، با نرخ ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، تا دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بالا رفت و سپس در این دما به مدت ۳ دقیقه باقی ماند. دمای محل تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم

یکی از شناخته شده ترین بیماری‌های آمیلوئیدی، آلزایمر است که یکی از دلایل مهم مرگ و میر در دنیا به‌شمار می‌رود. این بیماری با حضور پلاک غیرطبیعی پروتئین بتا آمیلوئید در مغز شناسایی می‌گردد (Scheltens et al., 2021). امروزه به سبب ناکارآمدی برخی داروهای شیمیایی و عوارض جانبی فراوان، توجهات مجدداً به گیاهان دارویی معطوف شده است. اکالیپتوس^۱ از درختان خانواده میرتاسه^۲ و بومی استرالیاست (Zein et al., 2020). این گیاه نزدیک به یک قرن پیش وارد ایران شد و از آنجا که در هوای گرم و مرطوب بهتر رشد می‌کند، عمدتاً در نواحی شمالی و جنوبی کشت گردید. اکالیپتوس به دلیل داشتن خاصیت ضد توموری، در درمان سرطان نقش دارد (Abiri et al., 2021)، همچنین خاصیت ضدالتهابی و ضد درد دارد و یا دست کم می‌تواند سبب کاهش درد شود (Mondal et al., 2021). این گیاه دارای ترکیباتی است که آن را قادر می‌سازد تا به‌عنوان یک عامل ضدباکتری یا ضد عفونی‌کننده عمل کند (Yılmaz, 2021). همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی آن سبب مهار رادیکال‌های آزاد می‌شود (Palma et al., 2021a).

در شرایط ناپایدار کننده، همه پروتئین‌ها از جمله آلبومین سرم گاوی به‌صورت رشته‌های آمیلوئیدی در می‌آیند که در آن زنجیره‌های بتا عمود بر محور تولید خود دیده می‌شوند. اگر ترکیبی بتواند از تولید این رشته‌ها ممانعت کند، می‌توان گفت که با مکانیزم مهار تولید رشته‌های آمیلوئیدی بر روند بیماری آلزایمر موثر است. آلبومین سرم گاوی، فراوان‌ترین پروتئین خون است که ۵۸۳ اسید آمینه دارد. این پروتئین ۶۰ درصد پروتئین‌های پلاسما را تشکیل می‌دهد (Martínez et al., 2022)، بنابراین به عنوان یک پروتئین ارزان و در

1. *Eucalyptus*
2. *Myrtaceae*

شد. از گاز هلیوم با سرعت ۰/۸ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از جمله زمان بازداری، اندیس کواتس و مقایسه این طیف‌ها با طیف‌های جرمی کتابخانه دستگاه GC/MS شناسایی شدند (Abbasi et al., 2020).

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره اکالیپتوس: روش انتشار در آگار با ایجاد چاهک برای باکتری‌های اثربشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیژنز و سالمونلا تیفی موریموم در حضور عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس با غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر انجام شد و نتایج آن با نتایج آنتی‌بیوگرام آنتی‌بیوتیک‌های تراسایکلین و جنتامایسین، به‌عنوان نمونه استاندارد، مقایسه گردید. آزمایش‌های MIC، MBC نیز برای هر چهار باکتری با سوسپانسیون میکروبی به کدورت نیم مک فارلند انجام شد و اثر عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس بر روی آن‌ها بررسی شد (Song et al., 2022).

بررسی اثر ضد سرطانی عصاره اوکالیپتوس روی رده سلولی سرطان روده با روش MTT: رده سلولی سرطان روده فریز شده از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران تهیه شد. ویال زیر هود روشن و در دمای آزمایشگاه به مدت ۶-۵ دقیقه ذوب شد و یک میلی لیتر از محیط کشت MEM داخل ویال ریخته شد. این محتویات در ۳ فلاسک کشت سلول ۲۵ میلی لیتری ریخته شد و برای یک هفته در انکوباتور CO₂ دار قرار گرفت. در طی این مدت میزان سطح سلولی تشکیل شده مورد بررسی قرار گرفت. پودر MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر در بافر فسفات مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی اثر ضد سرطانی از پلیت ۹۶ خانه استفاده شد. در ردیف اول ۵۰

میکرولیتر از سلول به همراه ۲۵ میکرولیتر از محیط کشت MEM حاوی ۲-۱٪ FBS ریخته شد. برای اطمینان و از بین بردن خطا، این کار در ۱۲ خانه از پلیت تکرار شد. در ردیف دوم برای هر خانه ۲۵ میکرولیتر سلول به همراه ۲۵ میکرولیتر از عصاره اکالیپتوس گلوبولوس با غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر به همراه ۲۵ میکرولیتر محیط کشت MEM اضافه شد و این هم در ۱۲ خانه تکرار شد. ردیف سوم خالی بود و در ردیف چهارم در هر خانه فقط ۵۰ میکرولیتر محیط کشت MEM به عنوان بلانک ریخته شد و ۱۲ بار تکرار شد. درب پلیت بسته شد و در شرایط استریل در انکوباتور CO₂ دار به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. بعد از گذشت ۲۴ ساعت با سمپلر، مایعات موجود در بالای خانه‌های ردیف اول و دوم و چهارم از پلیت ۹۶ تایی برداشته شد و در هر خانه ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر اضافه شد. سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه و جای تاریک قرار داده شد. بعد از آن به همه خانه‌های ردیف اول و دوم و چهارم به میزان ۲۰۰ میکرولیتر از DMSO اضافه گردید (Bhuyan et al., 2017). ترکیب DMSO حلال بلورهای فورمازان تولید شده در سلول زنده می باشد. پلیت برای یک ساعت دیگر در جای تاریک با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۳۰-۵۷۰ نانومتر، خوانده شد. میزان زنده ماندن سلولها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times \frac{\text{میزان جذب در حضور عصاره}}{\text{میزان جذب سلولها به تنهایی}} = \text{درصد زنده ماندن سلولها}$$

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اکالیپتوس به روش DPPH: ابتدا غلظت‌های مختلف شامل ۰/۱، ۰/۱ و همچنین ۱ تا ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره اکالیپتوس در اتانول تهیه شد و سپس در گام بعدی،

شد و میزان جذب آن در محدوده ۴۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید (Arasteh et al., 2012).

نتایج

نتایج حاصل از روش گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-MS): آنالیز عصاره هیدروالکلی برگ گیاه *Eucalyptus globulus* L. با روش گاز کروماتوگرافی جرمی حضور هفده ترکیب مختلف را در عصاره ردیابی کرد که بیش‌ترین آنها ترکیب اکالیپتول بود. بر این اساس، در دقیقه ۱۱/۹۲ ماده اکالیپتول^۱ به میزان ۴۱/۲۸ درصد، در دقیقه ۲۱/۴۸ ماده اوژنول^۲ به میزان ۳/۰۱ درصد، در دقیقه ۲۳/۶۲ ماده آروماندندرن^۳ به میزان ۶/۹۸ درصد، در دقیقه ۲۶/۹۹ ماده اسپاتولنول^۴ به میزان ۳/۳۹ درصد، در دقیقه ۲۷/۱۵ ماده گلوبولول^۵ به میزان ۱۱/۹۶ درصد، در دقیقه ۲۷/۳۳ ماده لدول (Ledol) به میزان ۴/۱۲ و در دقیقه ۳۵/۶۱ ترکیب نفتوکینون^۶ به میزان ۶/۰۷ درصد در عصاره تأیید شد (جدول ۱). نمودار کلی به دست آمده از روش کروماتوگرافی جرمی عصاره در شکل (۱) قابل مشاهده است.

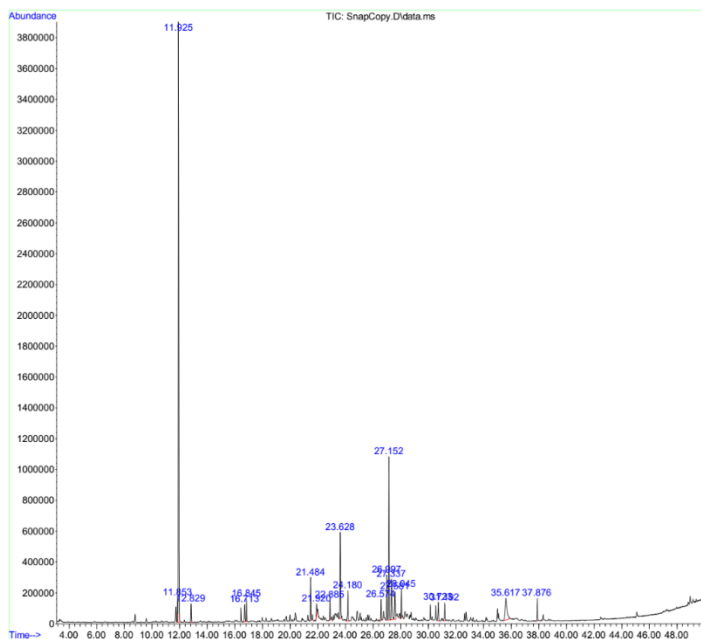
نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد میکروبی: اطلاعات مندرج در جدول (۲)، نتایج آزمون انتشار در آگار با ایجاد چاهک برای باکتری‌های اشریشیاکلی، استفیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیترنز و سالمونلا تیفی موریوم در حضور عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را نشان می‌دهد. نتایج با آنتی‌بیوگرام آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و جنتامایسین، به‌عنوان نمونه استاندارد، مقایسه گردید (شکل‌های ۲، ۳، ۴ و ۵).

آزمایش DPPH برای هر کدام از غلظت‌ها انجام شد. لوله‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند تا رنگ آن‌ها از بنفش پررنگ به زرد تبدیل شود. دستگاه اسپکتروفتومتر روی طول موج ۵۱۸ نانومتر تنظیم شد و پس از صفر شدن دستگاه با محتویات لوله بلانک (B)، میزان جذب لوله‌های C (Abs. C) و S (Abs. S) اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول زیر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی محاسبه گردید (Diloksumpun et al., 2022).

$$100 - \frac{\text{Abs. S}}{\text{Abs. C}} \times 100 = \text{درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی}$$

بررسی اثرات ضد آلزایمیری عصاره اکالیپتوس به روش طیف‌سنجی مرئی: برای بررسی میزان مهار تولید رشته‌های آمیلوئیدی، فرایند تولید در حضور غلظت‌های مختلف از عصاره انجام شد و در هر مورد میزان تولید رشته‌ها با هم مقایسه گردید. برای این کار در شش میکروتیوپ هر کدام ۴۰۰ میکرولیتر از محلول آلبومین سرم گاوی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ریخته شد و به ترتیب به آن‌ها مقادیر صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اوکالیپتوس اضافه شد. باقیمانده حجم تا ۵۰۰ میکرولیتر با بافر سترات-فسفات پر شد. در هر یک از میکروتیوپ‌ها یک مگنت کوچک قرار گرفت و درب آن‌ها با پارافیلیم محکم بسته شد. میکروتیوپ‌ها برای مدت ۴۸ ساعت روی هیتر با دمای بین ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد و دور ۱۰۰ rpm به هم زده شدند. سپس میزان تولید رشته‌های آمیلوئیدی با روش طیف‌سنجی کنگورد اندازه‌گیری و ثبت شد. برای این کار ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه آمیلوئید به دست آمده (پس از ۴۸ ساعت) با ۱۹۰۰ میلی‌لیتر از بافر کنگورد مخلوط

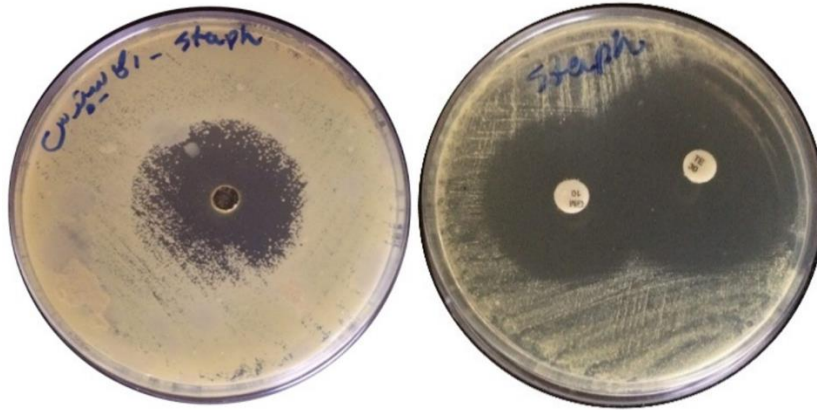
1. Eucalyptol
2. Eugenol
3. Aromandendrene
4. Spathulenol
5. Globulol
6. Naphthoquinone



شکل ۱: کروماتوگرام حاصل از آنالیز عصاره برگ *Eucalyptus globulus* L.

جدول ۱: کمیت و کیفیت فیتوشیمیایی عصاره برگ *Eucalyptus globulus* L. با روش گاز کروماتوگرافی جرمی

ردیف	ماده اصلی	زمان بازداری	احتمال حضور (درصد)	درصد حضور
۱	limonene	۱۱/۸۵	۹۱	۱/۷۸
۲	eucalyptol	۱۱/۹۲	۹۵	۴۱/۲۸
۳	γ -Terpinene	۱۲/۸۳	۹۳	۱/۳۲
۴	cryptone	۱۶/۷۱	۹۶	۱/۴۳
۵	α -Terpineol	۱۶/۸۲	۸۶	۱/۶۱
۶	eugenol	۲۱/۴۸	۹۸	۳/۰۱
۷	α -Gurjunene	۲۲/۸۵	۹۹	۱/۵۲
۸	aromandendrene	۲۳/۶۲	۹۹	۶/۹۸
۹	alloaromadendrene	۲۴/۱۷	۹۹	۲/۶۴
۱۰	epiglobulol	۲۶/۵۷	۹۹	۱/۵۴
۱۱	spathulenol	۲۶/۹۹	۹۰	۳/۳۹
۱۲	globulol	۲۷/۱۵	۹۹	۱۱/۹۶
۱۳	ledol	۲۷/۳۳	۹۳	۴/۱۲
۱۴	β -Eudesmol	۲۷/۵۸	۸۶	۳/۱۱
۱۵	sesquicineole	۳۰/۷۲	۷۲	۱/۷۹
۱۶	naphthoquinone	۳۵/۶۱	۶۲	۶/۰۷
۱۷	phytol	۳۷/۸۷	۹۱	۱/۷۹



شکل ۲: تصاویر مربوط به قطر هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی اکالپتوس بر باکتری *S. aureus*

جدول ۲: نتایج آنتی بیوگرام و روش انتشار در آگار با ایجاد چاهک از عصاره هیدروالکلی اکالپتوس

تترا سایکلین (mm)	جتتامایسین (mm)	عصاره اکالپتوس ۱۰ mg/ml	باکتری مورد بررسی
۳۰ µg per Disk	۱۰ µg per Disk	۱۰ mg/ml (mm)	
۴۲	۳۵	۲۲	استافیلوکوکوس اورئوس
۳۰	۲۳	۱۲	اشریشیا کلی
۲۵	۹	۲۶	لیستریا مونوسیتوژنز
۳۰	۲۱	۱۵ (با غلظت ۲۰ mg/ml)	سالمونلا تیغی موریوم



شکل ۳: تصاویر مربوط به قطر هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی اکالپتوس بر باکتری *E. Coli*



شکل ۴: تصاویر مربوط به قطر هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی اکالپتوس بر باکتری *L. monocytogenes*



شکل ۵: تصاویر مربوط به قطر هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی اکالیتوس بر باکتری *Salmonella typhi*

مشاهده شد. حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره هیدروالکلی اکالیتوس نسبت به باکتری *اشریشیا کلی*، ظرف شماره ۳ با رقت ۱:۸ و غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر است که این مقدار نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز مشابه بود، اما نسبت به باکتری *لیستریا مونوسیئوژنز* پلیت شماره ۲ با رقت ۱:۴ و غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و مقدار آن بر روی *سالمونلا تیفی* موربوم ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد (جدول ۳).

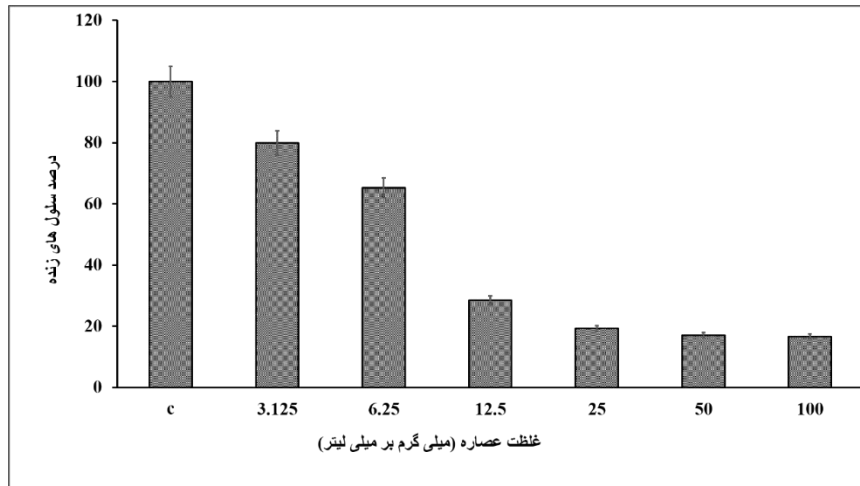
حداقل غلظت مهاري (MIC) عصاره هیدروالکلی اکالیتوس نسبت به باکتری *اشریشیا کلی* در لوله شماره ۴ با رقت ۱:۱۶ و غلظت ۰/۶۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. این مقدار نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* هم به همین صورت بود. مقدار MIC باکتری *لیستریا مونوسیئوژنز* در لوله شماره ۳ با رقت ۱:۸ و غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای باکتری *سالمونلا تیفی* موربوم، با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره در لوله شماره ۲ با رقت ۱:۴ و غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر

جدول ۳: نتایج حداقل غلظت مهاري (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) عصاره هیدروالکلی اکالیتوس

MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	باکتری مورد بررسی
۱/۲۵	۰/۶۲۵	<i>اشریشیا کلی</i>
۱/۲۵	۰/۶۲۵	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>
۲/۵	۱/۲۵	<i>لیستریا مونوسیئوژنز</i>
۱۰	۵	<i>سالمونلا تیفی</i> موربوم (با غلظت ۲۰ mg/ml)

نشان دهنده اثرات ضدسرطانی ترکیبات موجود در عصاره اکالیتوس بر رده سلولی سرطان روده می باشد. میزان IC₅₀ برای عصاره اکالیتوس ۹/۴۵ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید.

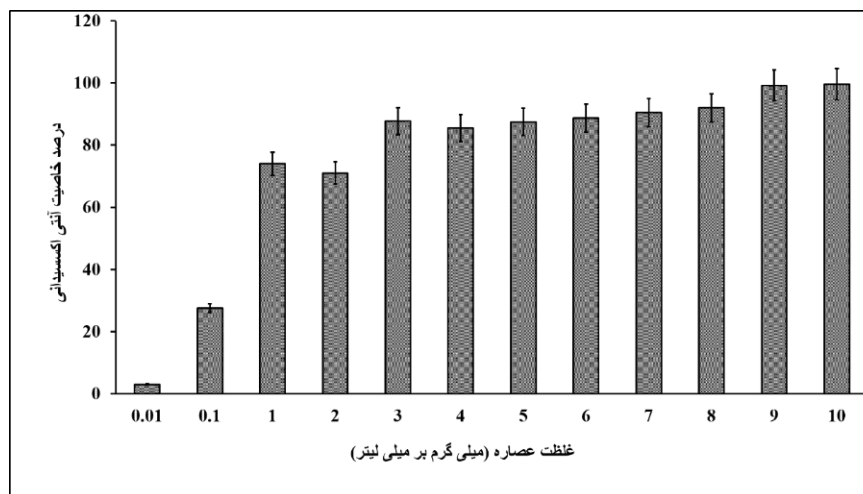
نتایج حاصل از بررسی اثرات ضدسرطانی: همانطور که در شکل (۶) دیده می شود، با افزایش غلظت عصاره، درصد سلول های زنده نسبت به کنترل که فاقد عصاره اکالیتوس است، کاهش می یابد و این



شکل ۶: اثرات ضدسرطانی عصاره برگ *Eucalyptus globulus* L. با آزمون MTT

افزایش می‌یابد. بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۷).

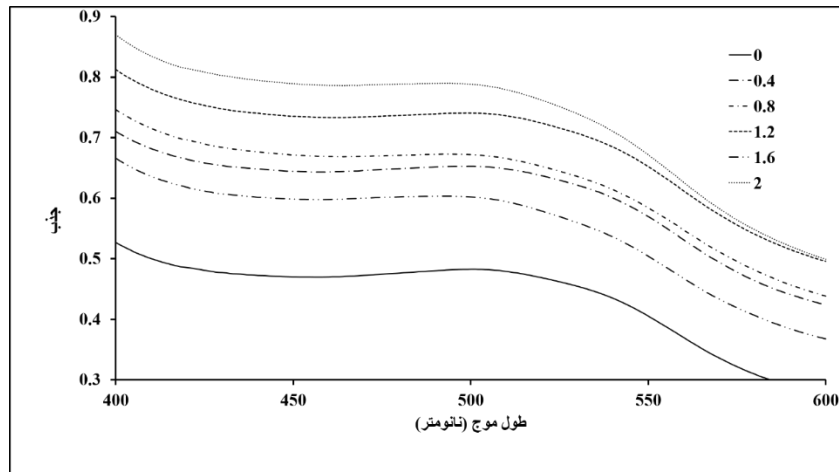
نتایج حاصل از بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی: عصاره برگ گیاه اکالیپتوس دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و همان‌طور که در شکل مشخص است، با افزایش غلظت عصاره، خاصیت آنتی‌اکسیدانی هم



شکل ۷: درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ *Eucalyptus globulus* L.

مرئی انجام شد، نشان داد که عصاره اکالیپتوس در غلظت‌های پائین دارای اثرات مهارتی مناسبی بر تولید رشته‌های آمیلوئیدی است، به‌طوری‌که بیش‌ترین اثر مهارتی عصاره مربوط به غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (شکل ۸).

نتایج حاصل از بررسی اثرات مهارتی بر تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی: بررسی اثر مهارتی عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس بر تولید نانوبیوفیبریل‌های آمیلوئیدی از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان یک پروتئین مدل که در غلظت‌های ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲، ۱/۶ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره با روش طیف‌سنجی

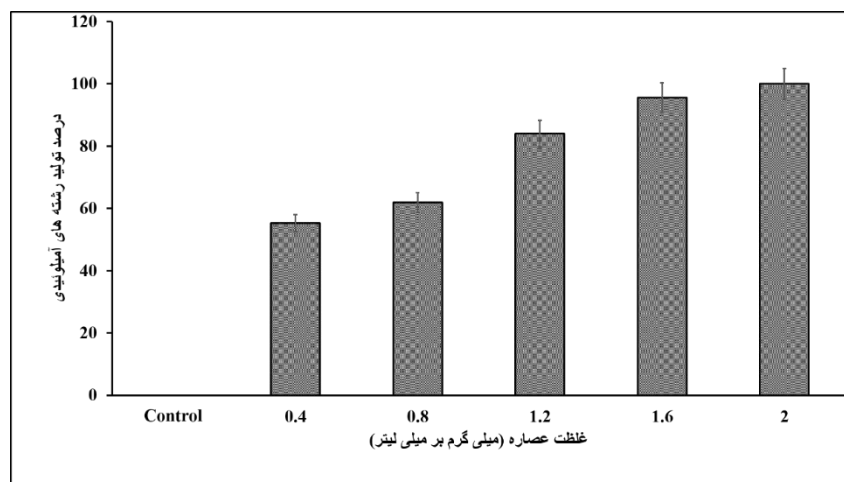


شکل ۸: تغییرات میزان جذب در برابر طول موج در غلظت‌های مختلف از

Eucalyptus globulus L. عصاره برگ

آمیلولیدی در غلظت‌های مختلف از عصاره اکالیپتوس نسبت به نمونه کنترل (فاقد عصاره)، محاسبه شد که در شکل (۹) نشان داده شده است.

با توجه به شکل (۸)، میزان جذب در طول موج ماکزیمم (۵۲۰ نانومتر) بیانگر میزان تولید رشته‌های آمیلولیدی می باشد. بر این اساس، میزان رشته‌های



شکل ۹: درصد تولید رشته‌های آمیلولیدی در غلظت‌های مختلف از عصاره برگ *Eucalyptus globulus* L.

نانورشته‌های آمیلولیدی و رشد سلول‌های سرطانی بررسی شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ماده اکالیپتول با میزان ۴۱/۲۸ درصد فراوان‌ترین ماده موجود در عصاره می‌باشد (جدول ۱). پالما و همکاران با تحقیق بر روی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه اکالیپتوس به نتایج مشابه دست یافتند. طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق ماده اکالیپتول به

بحث

در مطالعه حاضر، ترکیبات شیمیایی عصاره هیدروالکلی *Eucalyptus globulus* L. مورد ارزیابی قرار گرفت و اثرات ضد میکروبی آن بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اش‌ریشیا کلی، لیستریا مونوسیتورنوز و سالمونلا تیفی موربوم بررسی گردید. همچنین، اثرات آنتی‌اکسیدانی و مهاری آن بر تولید

هیدروالکلی اکالیپتوس نسبت به باکتری *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، در غلظت ۰/۶۲۵ و حداقل غلظت کشندگی آن نسبت به این دو باکتری، در غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. حداقل غلظت مهاری این عصاره نسبت به باکتری *لیستریا مونوسیژنوز* در غلظت ۱/۲۵ و حداقل غلظت کشندگی آن در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. حداقل غلظت مهاری عصاره نسبت به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* در غلظت ۵ و حداقل غلظت کشندگی آن در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر دیده شد (جدول ۳). آمر و همکاران در سال ۲۰۲۱ در تحقیق روی اثرات ضد میکروبی هشت گونه از گیاه اکالیپتوس، قطر هاله عدم رشد برای باکتری *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را به ترتیب ۱۲/۳ و ۹/۳ میلی متر گزارش کردند. همچنین مقادیر MIC و MBC را برای *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آوردند (Ameur et al., 2021). سبئی^۳ و همکاران در تحقیقی که روی خاصیت ضد لیستریایی اسانس برگ گیاه اکالیپتوس انجام دادند، مقدار هاله عدم رشد باکتری *لیستریا* در اسانس اکالیپتوس را ۲۸ میلی متر گزارش دادند (Sebei et al., 2015). در تحقیق الانسری^۴ و همکاران نیز مقدار MIC به ترتیب ۰/۸ میکروگرم بر میلی لیتر برای باکتری *باسیلیوس سرئوس* و ۰/۲۲ میکروگرم بر میلی لیتر برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شد (Elansary et al., 2017).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین اثر آنتی اکسیدانی عصاره اکالیپتوس، غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر است (شکل ۷). داکاد و همکاران در مقاله مروری خود، به اثرات آنتی اکسیدانی قوی عصاره

میزان ۶۷/۲۹ درصد بیشترین ماده موثره موجود در عصاره گیاه می باشد (Palma et al., 2021b). سلیرو^۱ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۹، طی انجام تحقیقاتی بر روی برگ گیاه اکالیپتوس، پی بردند که بیشترین ماده موثره در دو عصاره متانولی و کلروفرمی ماده اکالیپتول به میزان به ترتیب ۳۱/۸۶ درصد و ۴۵/۹۴ درصد و در عصاره هگزانای ماده پالمیتیک اسید به میزان ۳۱/۰۶ درصد می باشد (Celeiro et al., 2019). اکالیپول یک ترکیب آنتی باکتریال است (Bahadirli, 2022; Fayyazbakhsh et al., 2022) و در شش ها و سینوس ها خاصیت خلط آوری دارد. با استفاده از این ترکیب در بیماران مبتلا به آسم می توان کارکرد شش ها را بهبود بخشید و یا به روش بخور دادن موضعی از اثرات آن بهره برد (Al-Harrasi et al., 2022). اوکالیپتول یک داروی تاثیر گذار برای درمان سینوزیت است و در ترشحات مخاطی شدید یک کنترل کننده مفید راه های هوایی است (Kazak et al., 2022). اکالیپتول یک آنتی اکسیدان قوی است (Maral et al., 2023) و اثرات ضد سرطانی آن به اثبات رسیده است (Li et al., 2022). همچنین اثرات مهاری آن بر تولید رشته های بتا آمیلوئید موثر در ایجاد بیماری آلزایمر مشخص شده است (Kim et al., 2020a). آمر^۲ و همکاران ۱۲۸ جزء از کل اسانس به دست آمده از اکالیپتوس را گزارش کردند. در بین این ترکیبات، اکالیپتول فراوان ترین جزء یافت شده بود و پس از آن آلفا پینن، پارا-سیمن و گلوبولول قرار گرفتند (Ameur et al., 2021).

در این پژوهش قطر هاله عدم رشد به روش چاهک روی باکتری *لیستریا مونوسیژنوز* ۲۸ میلی متر است که بیشترین هاله عدم رشد را ایجاد نمود (جدول ۲). همچنین، حداقل غلظت مهاری عصاره

3. Sebei
4. Elansary

1. Celeiro
2. Ameur

گلوکز و چشم‌های موش دیابتی مهار کرد (Kim et al., 2020b).

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره اکالیپتوس با میزان بالای ترکیب اکالیپتول که در خود دارد، می‌تواند به عنوان یک مکمل گیاهی با خواص ضد التهابی و ضد میکروبی مورد توجه قرار گیرد. همچنین با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی اکالیپتول، عصاره این گیاه می‌تواند به عنوان یک عامل گیاهی موثر در کاهش عوارض جانبی بیماران مبتلا به سرطان مورد توجه قرار گیرد. اثرات مهاری این عصاره بر تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی نیز، اثر بخشی آن را در کاهش عوارض ناشی از بیماری آلزایمر نمایان می‌کند و می‌توان آن را، پس از انجام آزمایش‌های درون تنی تکمیلی، به عنوان یک جایگزین بالقوه برای داروهای ضد آلزایمر شیمیایی معرفی نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را نسبت به تمام دوستان و همکارانی که در اجرای این پژوهش یاری نمودند، اعلام می‌دارند.

اکالیپتوس اشاره کرده‌اند (Dhakad et al., 2018). ژو و همکاران نیز در سال ۲۰۲۱، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و فیتوتوکسیک گیاه اکالیپتوس را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که ترکیبات این گیاه می‌تواند رادیکال‌های آزاد ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل را از بین ببرد (Zhou et al., 2021).

بر اساس نتایج این تحقیق، ترکیبات موجود در عصاره اکالیپتوس منجر به کاهش یا مهار تولید رشته‌های آمیلوئیدی شد و بهترین اثرات مهاری در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره به دست آمد (شکل ۸ و ۹). بنابراین می‌توان گیاه اکالیپتوس را به عنوان یک گیاه دارویی موثر در کاهش عوارض بیماری آلزایمر، از طریق مهار تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی، معرفی نمود. در مطالعه درون تنی که توسط کیم و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام شد، مشخص شد که اکالیپتول اتصالات محکم و عملکرد سد شبکه را در سلول‌های اپیتلیال رنگدانه شبکه انسانی در معرض گلوکز/آمیلوئید - $(A\beta)$ و در چشم‌های موش بهبود می‌بخشد. آنها نشان دادند که اکالیپتول القای $A\beta$ را در سلول‌های RPE مملو از

References

- Abbasi, N., Khalighi, Z., Eftekhari, Z., Bahmani, M., 2020. Extraction and phytoanalysis of chemical compounds of *Eucalyptus globulus* leaf native to Dehloran, Ilam province, Iran by HS-SPME and GC-MS. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8: 647-652.
- Abiri, R., Atabaki, N., Sanusi, R., Malik, S., Abiri, R., Safa, P., Shukor, N.A.A., Abdul-Hamid, H., 2021. New insights into the biological properties of eucalyptus-derived essential oil: A promising green anti-cancer drug. *Food Reviews International*, 1-36.
- Al-Harrasi, A., Bhatia, S., Behl, T., Kaushik, D., 2022. Essential oils in the treatment of respiratory tract infections, role of essential oils in the management of covid-19. CRC Press, pp. 319-328.
- Ameur, E., Sarra, M., Yosra, D., Mariem, K., Nabil, A., Lynen, F., Larbi, K.M., 2021. Chemical composition of essential oils of eight tunisian *Eucalyptus* species and their antibacterial activity against strains responsible for otitis. *BMC Complement Med Ther* 21, 209.
- Arasteh, A., Habibi-Rezaei, M., Ebrahim-Habibi, A., Moosavi-Movahedi, A.A., 2012. Response surface methodology for optimizing the bovine serum albumin fibrillation. *The protein journal*, 31: 457-465.

- Bahadirli, N.P., 2022. Comparison of chemical composition and antimicrobial activity of *Salvia fruticosa* mill. and *S. Aramiensis* rech. fill. (*Lamiaceae*). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25: 716-727.
- Bhuyan, D.J., Sakoff, J., Bond, D.R., Predebon, M., Vuong, Q.V., Chalmers, A.C., van Altena, I.A., Bowyer, M.C., Scarlett, C.J., 2017. In vitro anticancer properties of selected *Eucalyptus* species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 53: 604-615.
- Celeiro, M., Lamas, J.P., Arcas, R., Lores, M., 2019. Antioxidants profiling of by-products from *Eucalyptus greenboards* manufacture. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8.
- Dhakad, A.K., Pandey, V.V., Beg, S., Rawat, J.M., Singh, A., 2018. Biological, medicinal and toxicological significance of eucalyptus leaf essential oil: a review. *J Sci Food Agric*, 98: 833-848.
- Diloksumpun, S., Wongkattiya, N., Buaban, K., Saleepochn, T., Suttiarporn, P., Luangkamin, S., 2022. Variation in the antibacterial and antioxidant activities of essential oils of five new *Eucalyptus urophylla* st blake clones in thailand. *Molecules*, 27: 680.
- Elansary, H.O., Salem, M.Z.M., Ashmawy, N.A., Yessoufou, K., El-Settawy, A.A.A., 2017. In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of *Eucalyptus* spp. leaf extracts related to phenolic composition. *Nat Prod Res*, 3: 2927-2930.
- Fayyazbakhsh, A., Koutný, M., Kalendová, A., Šašinková, D., Julinová, M., Kadlečková, M., 2022. Selected simple natural antimicrobial terpenoids as additives to control biodegradation of polyhydroxy butyrate. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 14079.
- Kazak, F., 2022. A bioactive compound: eucalyptol. *functional foods and nutraceuticals: bioactive compounds*. Lyon, France: Livre de Lyon, 125-138.
- Kim, D.Y., Kang, M.-K., Lee, E.-J., Kim, Y.-H., Oh, H., Kim, S.-I., Oh, S.Y., Na, W., Kang, Y.-H., 2020a. Eucalyptol inhibits amyloid- β -induced barrier dysfunction in glucose-exposed retinal pigment epithelial cells and diabetic eyes. *Antioxidants*, 9: 1000.
- Kim, D.Y., Kang, M.K., Lee, E.J., Kim, Y.H., Oh, H., Kim, S.I., Oh, S.Y., Na, W., Kang, Y.H., 2020b. Eucalyptol inhibits amyloid- β -induced barrier dysfunction in glucose-exposed retinal pigment epithelial cells and diabetic eyes. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9.
- Li, D., Ilnytsky, Y., Ghasemi Gojani, E., Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., 2022. Analysis of anti-cancer and anti-inflammatory properties of 25 high-thc cannabis extracts. *Molecules*, 27: 6057.
- Maral, H., 2023. Chemical and antioxidant diversity of essential oils of some *Salvia* species from turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 106: 104575.
- Martínez, V.R., Ferrer, E.G., Williams, P.A., 2022. Candésartan, losartan and valsartan Zn (II) complexes interactions with bovine serum albumin. *Future Medicinal Chemistry*, 14: 9-16.
- Mondal, M., Quispe, C., Sarkar, C., Bepari, T.C., Alam, M.J., Saha, S., Ray, P., Rahim, M.A., Islam, M.T., Setzer, W.N., 2021. Analgesic and anti-inflammatory potential of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaf: in vivo and in silico studies. *Natural Product Communications* 16, 1934578.
- Palma, A., Díaz, M.J., Ruiz-Montoya, M., Morales, E., Giráldez, I., 2021a. Ultrasound extraction optimization for bioactive molecules from *Eucalyptus globulus* leaves through antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 76: 105654.
- Palma, A., Díaz, M.J., Ruiz-Montoya, M., Morales, E., Giráldez, I., 2021b. Ultrasound extraction optimization for bioactive molecules from *Eucalyptus globulus* leaves through antioxidant activity. *Ultrason Sonochem*, 76: 105654.
- Sadatrassul, M.S., Fiezi, N., Ghasemian, N., Shenagari, M., Esmaeili, S., Jazaeri, E.O., Abdoli, A., Jamali, A., 2017. Oil-in-water emulsion formulated with *Eucalyptus* leaves extract inhibit influenza virus binding and replication in vitro. *AIMS microbiology*, 3: 899.
- Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Chételat, G., Teunissen, C.E., Cummings, J., van der Flier, W.M., 2021. Alzheimer's disease. *The Lancet*, 397: 1577-1590.
- Sebei, K., Sakouhi, F., Herchi, W., Khouja, M.L., Boukhchina, S., 2015. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological research* 48, 7.

- Song, X., Li, R., Zhang, Q., He, S., Wang, Y., 2022. Antibacterial effect and possible mechanism of salicylic acid microcapsules against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 19: 12761.
- Yılmaz, F., 2021. Investigating the usage of eucalyptus leaves in antibacterial finishing of textiles against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The Journal of The Textile Institute, 112: 341-345.
- Zein, R., Alghoraibi, I., Soukkaieh, C., Salman, A., Alahmad, A., 2020. In-vitro anticancer activity against Caco-2 cell line of colloidal nano silver synthesized using aqueous extract of *Eucalyptus camaldulensis* leaves. Heliyon 6, e04594.
- Zhou, L., Li, J., Kong, Q., Luo, S., Wang, J., Feng, S., Yuan, M., Chen, T., Yuan, S., Ding, C., 2021. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial, and phytotoxic potential of *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* leaves essential oils. Molecules, 26.



Evaluation of morpho-physiological responses of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf to the application of chemical and biological fertilizers under salinity stress in Fars and Tehran climates

Mostafa Salehi¹, Fatemeh Nakhaei^{2*} , SeyedGholamReza Mosavi³,
Reza Baradaran³

¹ Department of Horticultural science, Birjand branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

² Department of Horticultural science, Birjand branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran, Email:

³ Agricultural, Medicinal Plants and Animal Sciences Research Center, Birjand branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

Article type:	Abstract
Research article	Plant nutrition from different sources of fertilizers is one of the most critical factors for crop improvement under stress conditions. The purpose of this research was to study the morpho-physiological responses of the lemongrass (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf) medicinal plant to the application of different fertilizer sources (control, NPK, nitroxin, mycorrhizal fungi, and biosulfur) under irrigation water salinity stress (0, 100, and 200 mM) in two climates (Fars and Tehran), implemented as a factorial split-plot based on a randomized complete block design in three replications during 2020-2021. Growth and yield attributes and also physiological traits such as photosynthetic pigments, proline content, and qualitative characteristics (essential oil percentage and yield) were measured. Results showed that high salinity concentration (200 mM) negatively affected growth and yield parameters (root dry weight and volume, plant height, number of leaves, and plant yield). The highest plant yield was obtained at 0 and 100 mM salinity with an average of 4183.1 and 4191.9 kg.ha ⁻¹ , respectively in Fars. Among the fertilizer treatments, there was no difference in terms of plant yield, and all of them led to an increase in yield compared to the control treatment. Using nitroxin biofertilizer under non-stress conditions in Fars region led to the highest total chlorophyll and chlorophyll a, which showed an increase by 51.3% and 47.0%, respectively, compared to the control. Salinity stress (200 mM) and the use of biosulfur in Tehran climate led to an increase in proline content. The use of NPK fertilizer and mycorrhizal fungi under severe salinity stress in Fars led to increases by 2.3 and 2.4 times in essential oil percentage. The lowest average essential oil was also observed in the application of biological and chemical fertilizers in Tehran. The highest essential oil yield was obtained in the application of mycorrhizal fungi under moderate salinity stress in Fars, which was 2.7 times higher compared to the control. All fertilizer treatments at 200 mM level in Fars also had the highest essential oil yield. In general, the lemongrass plant had a good tolerance against the salinity stress of irrigation water and the use of NPK, nitroxin, and mycorrhiza fertilizers while increasing the quantitative and qualitative yield led to the adjustment of the adverse effects caused by the salinity stress.
Article history	
Received: 24-08-2022	
Revised: 03-11-2022	
Accepted: 04-11-2022	
Keywords	
Biosulfur	
Photosynthetic pigments	
Leaf yield	
Mycorrhizal fungus	
Essential oil content	
Nitroxin	

Cite this article as: Salehi, M., Nakhaei, F., Mosavi, S.Gh.R., Baradaran, R. (2023). Evaluation of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf morpho-physiological responses to the application of chemical and biological fertilizers under salinity stress in Fars and Tehran regions, Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 79-99.



©The author(s)
Doi: 10.30495/ejmp.2023.702345

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.6.7



انجمن گیاهان دارویی ایران
ثبت ۱۸۹۶۳

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی

شاپا چاپی: ۳۲۳۵-۲۳۲۲
شاپا الکترونیکی: ۴۶۹۷-۲۷۸۳



دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

بررسی پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه دارویی *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf به کاربرد

کودهای شیمیایی و زیستی تحت تنش شوری در اقلیم‌های فارس و تهران

مصطفی صالحی^۱، فاطمه نحعی^{۲*} ID، سیدغلامرضا موسوی^۳، رضا برادران^۳

۱ گروه علوم باغبانی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

۲ گروه علوم باغبانی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران، رایانامه:

۳ مرکز تحقیقات کشاورزی، گیاهان دارویی و علوم دامی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	تغذیه گیاه از منابع مختلف کودی یکی از عوامل مهم به‌زرعی در گیاهان تحت تنش محسوب می‌شود. پژوهش حاضر به‌منظور مطالعه پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف‌لیمو (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf) به کاربرد منابع مختلف کودی (شاهد، NPK، نیتروکسین، قارچ مایکوریزا و بیوسولفور) تحت تنش شوری آب آبیاری (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) در دو اقلیم (فارس و تهران) به‌صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ مورد اجرا قرار گرفت. صفات رشدی، عملکردی و همچنین صفات فیزیولوژیکی از جمله محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین و صفات کیفی (درصد و عملکرد اسانس) اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) اثرات منفی بر پارامترهای رشدی و عملکردی (وزن خشک و حجم ریشه، ارتفاع بوته، تعداد برگ و عملکرد گیاه) داشت. بیشترین عملکرد گیاه در شوری صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب با میانگین ۱/۱۸۳/۴۱ و ۱/۹۱۹/۹ کیلوگرم در هکتار در منطقه فارس بدست آمد. در بین تیمارهای کودی، از نظر عملکرد گیاه تفاوتی وجود نداشت و همگی منجر به افزایش عملکرد در مقایسه با تیمار شاهد شدند. استفاده از کود زیستی نیتروکسین تحت شرایط بدون تنش در منطقه فارس منجر به ایجاد بیشترین محتوای کلروفیل کل و a شد که در مقایسه با شاهد به‌ترتیب افزایش ۵۱/۳ و ۴۷/۰ درصدی داشتند. تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) و استفاده از بیوسولفور در منطقه تهران منجر به بالا رفتن محتوای پرولین شد. استفاده از کود NPK و قارچ مایکوریزا تحت تنش شدید شوری در فارس منجر به افزایش ۲/۳ و ۲/۴ برابری درصد اسانس شدند. کمترین میانگین اسانس نیز در کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی در تهران مشاهده شد. بیشترین عملکرد اسانس در کاربرد قارچ مایکوریزا در تنش شوری متوسط در فارس به‌دست آمد که در مقایسه با شاهد افزایش ۲/۷ برابری داشت. تمامی تیمارهای کودی در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار در فارس نیز دارای بالاترین عملکرد اسانس بودند. به‌طور کلی، گیاه علف‌لیمو از تحمل خوبی در برابر تنش شوری آب آبیاری برخوردار بود و استفاده از کودهای NPK، نیتروکسین و مایکوریزا ضمن افزایش عملکرد کمی و کیفی، منجر به تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش شوری نیز گردید.
واژه‌های کلیدی:	
اسانس	
بیوسولفور	
رنگیزه‌های فتوسنتزی	
عملکرد برگ	
قارچ مایکوریزا	
نیتروکسین	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۰۲	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۱۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۳	
استاد: صالحی، مصطفی؛ نحعی، فاطمه؛ موسوی، سیدغلامرضا؛ برادران، رضا. (۱۴۰۲). بررسی پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه دارویی <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf به کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی تحت تنش شوری در اقلیم‌های فارس و تهران. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۹۹-۷۹.	
Doi: 10.30495/ejmp.2023.702345	ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.6.7	© نویسندگان

مقدمه

تنش‌های غیرزنده باعث کاهش عملکرد محصولات کشاورزی در حدود ۷۱ درصد در کل کره زمین شده که از این میان تنش شوری کاهشی در حدود ۲۰ درصد را به خود اختصاص می‌دهد (Shahverdi et al., 2019). شوری حدود هفت درصد از زمین‌های دنیا (حدود ۹۳۰ میلیون هکتار) را تحت تأثیر قرار داده و براساس آمار موجود، ایران چهارمین رتبه را از نظر بیشترین درصد اراضی شور بعد چین، هند و پاکستان دارد (Shahverdi et al., 2020). تغذیه گیاهی یکی از راهکارهای مدیریتی در شرایط تنش محیطی از جمله خشکی و شوری است. در طی بروز تنش شوری به علت بالا رفتن غلظت املاح محلول در محیط ریشه و در نتیجه افزایش پتانسیل اسمزی خاک، از جذب عناصر غذایی تا حد زیادی کاسته می‌شود. بنابراین تغذیه مناسب تحت شرایط تنش می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند (Kumar et al., 2020).

در سال‌های اخیر، استفاده از کودهای شیمیایی تا حد معینی باعث افزایش کمیت و کیفیت محصولات زراعی و دارویی شده است. اما نتایج برخی بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده طولانی مدت از کودهای شیمیایی باعث تخریب ساختمان خاک، افزایش هزینه‌ها و کاهش پتانسیل تولید و مشکلات زیست محیطی می‌شود (Ghahfarokhi et al., 2015). کاربرد کودهای آلی در خاک‌های فقیر سبب بهبود وضعیت تغذیه‌ای خاک شده و شرایط کیفی خاک را با بهبود ماده آلی خاک افزایش می‌دهد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی محسوب شوند. رویکرد در تولید گیاهان دارویی به سمت استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار می‌باشد. به‌کارگیری کودهای زیستی به‌عنوان یک استراتژی در کشاورزی پایدار می‌تواند علاوه بر افزایش تولید گیاهان دارویی، سبب افزایش میزان ماده مؤثره آن‌ها شود (Asghari et

علف لیمو با نام علمی *Cymbopogon citratus* Stapf (DC.) گیاهی یک‌ساله و متعلق به خانواده پوآسه و بومی جنوب شرق آسیا (کشورهای سریلانکا و هند) می‌باشد که به‌طور گسترده‌ای در مناطق مختلف دنیا پراکنده است (Mirzaei et al., 2020). این گیاه به‌واسطه دارا بودن اسانس، در صنایع داروسازی، آرایشی، بهداشتی و غذایی و همچنین در آروماتراپی کاربرد فراوانی داشته و سالانه مقادیر متنابهی از آن تولید و در کشورهای مختلف مصرف می‌شود (Idrees et al., 2010). برگ و اسانس تولیدی از برگ، بخش‌های اقتصادی این گیاه بوده که در صنایع مختلف کاربرد دارد (Tsfaye et al., 2017). بزرگ‌ترین تولید کننده این گیاه در جهان کشور هندوستان است و میانگین تولید سالیانه اسانس آن در دنیا حدود ۱۳۰۰ تن می‌باشد (Prins et al., 2013). اسانس علف‌لیمو به‌صورت کاملاً مشخصی از رشد باکتری و قارچ‌ها به‌شدت جلوگیری می‌کند، همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه به اثبات رسیده است. علاوه بر این، در بسیاری از نقاط جهان روغن علف لیمو به‌عنوان ضد باکتری و خواص ضد قارچی برای درمان بیماری‌های مختلفی مثل سرفه، سرماخوردگی، فشارخون، روماتیسم، درد کمر، مشکلات گوارشی، مشکلات مثانه، جذام و به‌عنوان شستشوی دهان برای دندان درد و لثه‌های متورم استفاده می‌شود (Tsfaye et al., 2017). علیرغم سابقه طولانی کشت و کار این گیاه دارویی در دنیا (بیش از ۴۵ سال) ولی در ایران کشت و کار این گیاه رواج چندانی نداشته و اخیراً در چند نقطه از کشور کشت‌هایی با وسعت کم در حال اجراست. لذا، اجرای پژوهش در مورد این گیاه دارویی پراهمیت، به‌دلیل نبود پژوهش‌های کافی لازم و ضروری می‌باشد.

کمبود مواد آلی مواجه هستند و از طرف دیگر، آهکی بودن این خاک‌ها مانع از جذب عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم‌حرکی مانند فسفر می‌شوند. همچنین، تغذیه گیاهی در شرایط تنش شوری آب یا خاک، از اهمیت دو چندان برخوردار می‌شود. لذا جایگزین نمودن کودهای شیمیایی با آلی و زیستی و یا کاربرد ترکیبی آنها، ضمن آزادسازی تدریجی عناصر غذایی مطابق با نیاز گیاه و افزایش کارایی نهاده‌ها از طریق توسعه ریشه گیاه، جذب بیشتر آب و عناصر غذایی و بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (Mahanty et al., 2017) منجر به افزایش عملکردی منطقی و پایداری منابع تولید کشاورزی در دراز مدت می‌شود. با توجه به تحقیقات بسیار اندک به‌خصوص در داخل کشور در زمینه گیاه دارویی علف‌لیمو و از طرف دیگر اهمیت فوق‌العاده این گیاه دارویی، پژوهش حاضر با هدف مطالعه پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژیکی این گیاه به تنش شوری در شرایط مزرعه‌ای در دو اقلیم متفاوت تحت تیمارهای مختلف کودهای آلی، زیستی و شیمیایی مورد اجرا قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو منطقه با اقلیم متفاوت، شهرستان ورامین در جنوب استان تهران (طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۹۰ متر و میانگین بارندگی دراز مدت ۲۲۵ میلی‌متر) و شهرستان فیروزآباد در جنوب استان فارس (طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۵۷ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۲۸ درجه و ۸۴ دقیقه شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۳۸۶ متر و میانگین بارندگی دراز مدت ۲۰۵ میلی‌متر) در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ به‌صورت

(al., 2016). مواد آلی به علت سودمندی که بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، زیستی (بیولوژیکی) و حاصلخیزی خاک دارند، از ارکان مهم باروری خاک به‌شمار می‌آیند (Abu-Dieyeh et al., 2017).

قارچ‌های مایکوریزا می‌توانند از طریق توسعه یک سیستم ریشه‌ای وسیع، افزایش کارایی فتوسنتزی و ظرفیت هدایت آب، افزایش جذب عناصر غذایی، دفع پاتوژن‌های خاکی و در نهایت تخفیف تنش‌های محیطی موجب افزایش قدرت حیات گیاهان طی فرآیند سازگاری شوند (Mahanty et al., 2017). پژوهش‌ها نشان داده است که تلقیح گیاهان با قارچ‌های مایکوریزا در شرایط خشکی و شوری نقش مهمی را در افزایش تحمل گیاه به محدوده وسیعی از تنش‌های محیطی ایفا می‌نماید که این همزیستی می‌تواند از بهبود روابط آبی، کسب مواد غذایی بیشتر و همچنین اصلاح ساختار خاک و تولید هورمون‌های گیاهی، در مقاومت گیاه مؤثر باشد (Yang et al., 2022). باکتری‌های محرک رشد گیاه نیز به طور مستقیم با افزایش حلالیت ترکیبات نامحلول مثل پتاسیم از طریق تولید اسیدهای معدنی و آلی، افزایش سطح تماس ریشه و بهبود همزیستی‌های مفید با گیاه میزبان در مراحل مختلف رشد به رشد بهتر گیاه کمک می‌کند (Etessami and Alikhani, 2019). با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، نکته حائز اهمیت در تولید و پرورش این گونه‌های ارزشمند، افزایش تولید بدون کاربرد نهاده‌های مضر شیمیایی اعم از کود یا سموم دفع آفات و علف هرز می‌باشد. عقیده بر این است که قارچ‌های مایکوریزی می‌توانند جایگزین مناسبی برای بخشی از کودهای شیمیایی به خصوص کودهای فسفاته در اکوسیستم‌های مختلف باشند.

با توجه به اینکه ایران از اقلیم خشک و نیمه‌خشک برخوردار بوده و خاک‌های آن اغلب با

کاشت انجام شد. کشت (با روش تقسیم بوته) با استفاده از پاجوش‌های علف‌لیمو تهیه شده از شرکت تکنوکشت شیراز در هر منطقه ورامین در اواسط اسفند و در فیروزآباد در اواخر اسفند انجام شد. عملیات زراعی شامل وجین، آبیاری، مبارزه با آفات و بیماری‌ها به صورت دوره‌ای صورت گرفت. به منظور آبیاری با آب شور از روش پیشنهادی عقیقی‌شاهوردی و همکاران (۲۰۱۸) استفاده گردید. میزان آب مصرفی به صورت روزانه برای دوباره پر کردن پروفایل خاک مزرعه تا عمق ۰/۵ متری در حد ظرفیت زراعی، آبیاری گردید. آبیاری با سیستم قطره‌ای با خروجی ۲۰۰ لیتر در ساعت انجام شد.

برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی همانند محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروکلین و همچنین پارامترهای رشدی و عملکردی، نمونه‌گیری در اواسط و اواخر تیر ماه (بعد از گذشت تقریباً چهار ماه) به صورت تصادفی و با حذف اثر حاشیه‌ای صورت گرفت. به منظور اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار ۰/۲۵ گرم از برگ تازه را به همراه پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی مخلوط گردید. در ادامه نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر (Jenway-6305) مجهز به میکروسل کوارتز) در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری و سپس با استفاده از فرمول‌های زیر محتوای کلروفیل‌های a، b و کل و همچنین کارتنوئید محاسبه شدند (Lichtenthaler and Buschmann, 2001).

معادله ۱

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V/100 W$$

معادله ۲

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V/100 W$$

معادله ۳

$$\text{Chlorophyll T} = \text{Chl a} \pm \text{Chl b}$$

اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد.

اعمال تنش شوری آب آبیاری با استفاده از نمک کلرید سدیم (سه سطح) در کرت‌های اصلی شامل شاهد، 100 ± 5 و 200 ± 5 میلی‌مولار (به ترتیب معادل صفر، ۱۰ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر) صورت گرفت. کاربرد کودهای آلی، زیستی و شیمیایی در پنج سطح شامل عدم کاربرد کود به عنوان شاهد، کود شیمیایی (NPK با مقادیر ۱۰۰، ۱۵۰ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار)، مایکوریزا آربوسکولار (حاوی سویه‌های *Glomus intraradices mosseae* و *Glomus etunicatum* با شمارش 10^6 تا 10^7 CFU/gr، مایکوروت، شرکت زیست فناور سبز)، نیتروکسین (حاوی 10^6 تا 10^7 CFU/gr باکتری‌های *Azotobacter Azospirillum*، *Azotobacter agillis*، *chroococcum brazilens* و *lipophorum Azospirillum*: ساخت شرکت بیوتکنولوژی مهرآسیا، ایران) و بیوسولفور (حاوی باکتری‌های اکسید کننده گوگرد از جنس *Thionacillus sp.* با شمارش $5/1 \times 10^8$ CFU/gr با شمارش *neapolitanus Halothiobacillus* $10^8 \times 4/3$ از برند کود بیولوژیک بیوسولفور شرکت کشاورزباشی) در کرت‌های فرعی مورد ارزیابی قرار گرفتند. کودهای زیستی براساس توصیه شرکت مصرف شدند. قبل از کشت آماده‌سازی زمین از قبیل شخم پاییزه، شخم بهاره و کرت‌بندی براساس نقشه طرح صورت گرفت. نمونه‌گیری از خاک محل آزمایش قبل از اجرای طرح از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری انجام شد که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. تیمارهای کود آلی در ابتدای کاشت و تیمارهای کود شیمیایی نیز به صورت تقسیم در ابتدای کاشت و ۳۵ روز بعد از کاشت براساس توصیه شرکت تولید کننده اعمال شدند. کرت‌بندی با ابعاد ۵ در ۳ متر و کاشت با فواصل ۵۰ سانتی‌متری روی ردیف و بین ردیف با شش خط

نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه براساس معادله ۵ محاسبه گردید.

معادله ۵

$$= \frac{\left(\frac{\mu\text{g prolin}}{\text{ml}} \cdot \frac{\text{ml toloen}}{115.5 \left(\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}} \right)} \right) / \frac{\text{g sample}}{5}}{\text{میکرومول پرولین در گرم وزن تر}}$$

با انتخاب سه بوته از هر کرت به صورت تصادفی، حجم و وزن خشک ریشه (در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد)، ارتفاع بوته، تعداد شاخه و تعداد برگ بلافاصله بعد از برداشت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری عملکرد گیاه، یک مترمربع از هر کرت برداشت (از ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری از سطح زمین) و با ترازوی با دقت بالا وزن شد. به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری اسانس برگ، نمونه‌گیری در زمان برداشت گیاه انجام و از روش تقطیر با آب با استفاده از کلونجر استفاده شد. همچنین عملکرد اسانس براساس درصد اسانس و عملکرد گیاه محاسبه شد (Azizi et al., 2015).

$$\text{Carotenoids} = 20.2(A_{645}) \pm 8.02(A_{663}) \times V/1000 \text{ W}$$

که در آن $V =$ حجم محلول صاف شده، $A =$ جذب نور در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۵، $W =$ وزن تر نمونه برحسب گرم استخراج و سنجش پرولین با روش Bates et al., (1973). مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ‌گی تر در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد به وسیله هاون ساییده در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار دو میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. پس از بستن درب لوله‌ها، آنها به مدت یک ساعت در حمام بن ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هر یک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. غلظت پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۲۰

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی خاک (عمق صفر-۳۰ سانتی‌متر) و درجه حرارت (ماکزیمم و مینیمم) آزمایش در دو منطقه ورامین و فیروزآباد

شهرستان ورامین (استان تهران)	شهرستان فیروزآباد (استان فارس)	ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی خاک
۲۰	۲۹/۳	شن (%)
۳۸	۲۵/۶	رس (%)
۴۲	۴۴/۳	سیلت (%)
لوم رسی سیلتی	لوم	بافت
۷/۶۶	۷/۳۷	pH
۱/۹۴	۱/۶۳	قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع (دسی زیمنس بر متر)
۰/۴	۰/۷۵	ماده آلی (%)
۱/۸۳	۱/۹۱	نیتروژن نیتراتی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)
۷/۷۵	۹/۹۴	فسفر قابل استخراج با بی‌کربنات سدیم (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)
۳۴۸	۳۳۲	پتاسیم قابل استخراج با استات آمونیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)
۳۹	۳۷	دمای حداکثر (°C)
-۲/۵	-۸/۵	دمای حداقل (°C)

بعد از جمع‌آوری داده‌ها و تست نرمال بودن آن، تجزیه واریانس داده‌های دو منطقه به صورت جداگانه با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. مقایسه میانگین داده‌های معنی‌دار براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. همبستگی ساده بین صفات با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۹ صورت گرفت.

نتایج

تجزیه واریانس صفات: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر شوری و کودهای شیمیایی و زیستی بر وزن خشک ریشه، حجم ریشه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ، عملکرد گیاه، کلروفیل کل، a و b، کارتنوئید، پرولین و درصد اسانس در هر دو منطقه مورد اجرا معنی‌دار بودند. علاوه بر این اثر متقابل تنش شوری و تیمارهای کودی بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ، کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، درصد و عملکرد اسانس در منطقه فارس و ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ، کلروفیل b، کارتنوئید و پرولین در منطقه تهران معنی‌دار به‌دست آمد (جدول ۲ و ۳).

وزن خشک و حجم ریشه: نتایج مقایسه میانگین اثر تنش شوری آب آبیاری نشان داد که تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در فارس و تهران منجر به کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه (به ترتیب ۱۶/۲۷ و ۳۲/۵ درصد) و حجم ریشه (به ترتیب ۱۲/۳۷ و ۱۵/۰۶ درصد) در مقایسه با تیمار شاهد شد. ولی در بین سطوح صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری از نظر وزن خشک ریشه و حجم ریشه تفاوت معنی‌داری در هر دو منطقه وجود نداشت (جدول ۴ و ۵). در بین ترکیبات کودی استفاده از کود شیمیایی، مایکوریزا آربوسکولار و

همچنین نیتروکسین در منطقه فارس منجر به ایجاد بیشترین میانگین وزن خشک ریشه (به ترتیب ۲۹/۷۱، ۲۶/۳ و ۲۸/۵۵ گرم در بوته) و حجم ریشه (به ترتیب ۸۱/۱، ۷۴/۹ و ۸۰/۲۶ سانتی‌متر مکعب) شدند. در حالی که در منطقه تهران، استفاده از کود شیمیایی و نیتروکسین بیشترین وزن خشک ریشه (به ترتیب ۳۱/۸۵ و ۳۰/۳ گرم در بوته) و حجم ریشه (به ترتیب ۷۱/۱ و ۶۸/۵ سانتی‌متر مکعب) نشان داد کمترین میانگین این دو صفت در عدم کاربرد کود (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴ و ۵).

ارتفاع بوته: در مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و تیمارهای کودی، بلندترین ارتفاع بوته علف‌لیمو مربوط به استفاده از بیوسولفور تحت شرایط بدون تنش شوری در منطقه فارس (۷۶/۴ سانتی‌متر) که در مقایسه با شاهد افزایش ۷/۵ درصد افزایش داشت ولی در منطقه تهران مربوط به استفاده از قارچ مایکوریزا تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در منطقه تهران (۸۲/۰۸ سانتی‌متر) بود که در مقایسه با تیمار شاهد افزایش ۱۵/۶ درصدی داشت. البته کاربرد کود شیمیایی NPK در هر سه سطح شوری در منطقه فارس نیز دارای بیشترین میانگین ارتفاع بوته بود. کمترین ارتفاع بوته علف‌لیمو در بالاترین سطح تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) و عدم مصرف کود در منطقه فارس و تهران (به ترتیب با میانگین ۴۱/۶۳ و ۳۵/۸۸ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۶ و ۷).

تعداد شاخه در بوته: براساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و تیمارهای کودی، بیشترین تعداد شاخه در منطقه فارس و تهران (به ترتیب ۲۷ و ۲۰/۳ در بوته)، مربوط به استفاده از کود شیمیایی NPK در سطح بدون تنش شوری بود که در مقایسه با شاهد ۸۷/۶ و ۶۷/۱ درصد افزایش نشان دادند. در

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پایین‌ترین میانگین کلروفیل کل و a در استان تهران تحت تنش شدید شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) به ترتیب با میانگین ۲۵/۳ و ۱۳/۱ میکروگرم بر گرم وزن تر به دست آمد (جدول ۵). استفاده از کود شیمیایی، نیتروکسین و بیوسولفور منجر به افزایش محتوای کلروفیل کل و a در استان تهران در مقایسه با تیمار عدم کاربرد کود گردید (جدول ۵). مقدار بیشترین محتوای کلروفیل کل، a و b (به ترتیب با میانگین ۳۷/۱۵، ۲۴/۸۴ و ۱۲/۳۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) در استفاده از کود زیستی نیتروکسین و استفاده از مایکوزیما (به ترتیب با میانگین ۳۳/۸، ۲۱/۳ و ۱۲/۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) تحت شرایط بدون تنش شوری و در منطقه فارس مشاهده شد (جدول ۶). در منطقه تهران، کاربرد نیتروکسین، کود شیمیایی و عدم مصرف تحت شرایط بدون تنش شوری دارای بیشترین میانگین کلروفیل b بودند (جدول ۷). تحت شرایط تنش شدید شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) در منطقه فارس تحت همگی سطوح تیمارهای کودی منجر به ایجاد کمترین میانگین کلروفیل کل، a و b شد (جدول ۶). در حالی که در منطقه تهران، عدم کاربرد کود تحت شرایط تنش شدید شوری کمترین میانگین کلروفیل b (۹/۹۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) را نشان داد (جدول ۷). شوری منجر به کاهش معنی‌دار میانگین کارتنوئید شد. به طوری که کمترین میانگین کارتنوئید (۲/۱۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در منطقه فارس به دست آمد در حالی بین سطوح صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری از نظر کارتنوئید وجود نداشت (جدول ۴). عدم کاربرد کود کمترین و کاربرد شیمیایی، نیتروکسین و

حالی که در منطقه فارس و تهران کمترین تعداد شاخه (۴ و ۲/۶۷ در بوته) در تیمار عدم مصرف کود در بالاترین سطح تنش شوری بدست آمد (جدول ۶ و ۷).
تعداد برگ: در نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل، استفاده از کود شیمیایی NPK و قارچ مایکوزیما در سطح بدون تنش شوری، و استفاده از کود شیمیایی NPK در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار هر دو در منطقه فیروزآباد و استفاده از کود شیمیایی NPK در سطوح صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری، دارای بیشترین میانگین تعداد برگ در بوته بودند. کمترین تعداد برگ در بالاترین سطح تنش شوری و تیمار عدم کاربرد کود در منطقه فارس و تهران با میانگین (به ترتیب با ۱۷ و ۹/۰۹ عدد در بوته) مشاهده شد (جدول ۶ و ۷).
عملکرد گیاه: در گیاه علف‌لیمو کل اندام هوایی برداشت و مورد استفاده قرار می‌گیرد و به همین دلیل اندام هوایی به عنوان عملکرد گیاه محسوب می‌شود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین عملکرد گیاه در منطقه فارس مربوط به سطوح شوری صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب با میانگین ۴۱۸۳/۱ و ۴۱۹۱/۹ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ۴). در منطقه تهران، بیشترین عملکرد مربوط به سطح شوری صفر میلی‌مولار با میانگین ۴۳۳۱/۹ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ۵). کمترین میانگین عملکرد در بالاترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) با میانگین ۳۶۵۷/۰ و ۳۶۶۶/۳ کیلوگرم در هکتار به ترتیب در منطقه فارس و تهران مشاهده شد (جدول ۵). در بین تیمارهای کودی، از نظر عملکرد گیاه تفاوتی وجود نداشت و همگی ترکیبات مورد استفاده منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد در مقایسه با تیمار بدون کاربرد کود (شاهد) شدند (جدول ۴ و ۵).

بیوسولفور بیشترین محتوای کارتنوئید را در منطقه فارس نشان دادند (جدول ۴). در مقایسه میانگین اثر متقابل، بیشترین محتوای کارتنوئید در استفاده از کودهای بیوسولفور و مایکوریزا در منطقه تهران به ترتیب با میانگین (۲/۷۷ و ۲/۳۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. کمترین میانگین نیز در عدم استفاده از کود و استفاده از کود شیمیایی در منطقه تهران به ترتیب با میانگین ۰/۷۸ و ۱/۴۳ میکروگرم بر گرم وزن تر به دست آمد (جدول ۷).

پرولین: تنش شوری منجر به افزایش معنی دار محتوای پرولین شد به طوری که در منطقه فارس در سطح شوری ۲۰۰ میلی مولار بالاترین میانگین پرولین با میانگین ۴/۰۶ میکرومول بر گرم وزن تر به دست آمد (جدول ۴). در منطقه فارس نیز، کاربرد تمامی کودهای زیستی و شیمیایی، دارای بالاترین میانگین پرولین در برگ گیاه علفلیمو بودند. کمترین پرولین برگ در عدم مصرف کود با میانگین ۲/۵۴ میکرومول بر گرم وزن تر به دست آمد (جدول ۴). در مقایسه میانگین اثر متقابل، بیشترین محتوای پرولین مربوط به بالاترین سطح تنش شوری (۲۰۰ میلی مولار) و استفاده از بیوسولفور و نیتروکسین در منطقه تهران به ترتیب با میانگین ۴/۶۳ و ۴/۱۴ میکرومول بر گرم وزن تر بودند (جدول ۷).

درصد و عملکرد اسانس: در مقایسه میانگین اثر متقابل در منطقه فارس (جدول ۶)، بیشترین درصد اسانس مربوط به استفاده از کود شیمیایی NPK و قارچ مایکوریزا تحت تنش شدید شوری (۲۰۰ میلی مولار) به ترتیب با میانگین ۵/۶۸ و ۶ درصد بود.

علاوه بر این، در سطح شوری شدید (۲۰۰ میلی مولار) تمامی تیمارهای کودی منجر به ایجاد بالاترین عملکرد اسانس شدند (جدول ۶). علاوه بر این، بیشترین عملکرد اسانس در کاربرد قارچ مایکوریزا تحت شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار در منطقه فارس با میانگین ۲۳۳/۰۸ گرم در هکتار به دست آمد که در مقایسه با شاهد افزایش ۲/۷ برابری داشت. کمترین عملکرد اسانس مربوط به کاربرد کودهای زیستی مایکوریزا، نیتروکسین و بیوسولفور تحت شرایط بدون تنش و در منطقه تهران و عدم کاربرد کود و کاربرد کودهای شیمیایی، نیتروکسین و بیوسولفور در منطقه فارس تحت شرایط بدون تنش بود (جدول ۶).

همبستگی بین صفات: نتایج همبستگی ساده بین صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی علفلیمو تحت تأثیر تیمارهای کودی و تنش شوری در دو منطقه در جدول ۸ ارائه شده که نشان از وجود همبستگی معنی دار مابین صفات دارد. عملکرد گیاه علفلیمو با صفات وزن خشک ریشه، حجم ریشه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ، کلروفیل کل، کلروفیل a و کارتنوئید همبستگی مثبت و معنی دار و با صفت محتوای پرولین برگ و همچنین درصد اسانس به ترتیب همبستگی منفی معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد داشت. همچنین درصد اسانس برگ با صفات رشدی و مورفولوژیکی همبستگی منفی ولی با محتوای پرولین و عملکرد اسانس همبستگی مثبت نشان داد.

جدول ۲: اثر کودهای شیمیایی و زیستی بر پارامترهای رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف‌لیمو تحت تنش شوری در شرایط اقلیمی استان فارس

عملکرد اسانس	درصد اسانس	پروئین	کارتونید	کلروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل کل	عملکرد گیاه	تعداد برگ	تعداد شاخه	ارتفاع بونه	حجم ریشه	وزن خشک ریشه	درجه	منابع تغییرات
													آزادی (df)	
۳۳۳/۴ ns	۰/۱۶**	۰/۱۷ ns	۰/۹۹ ns	۰/۱۲ ns	۷/۸۷ ns	۸/۰۶ ns	۶۸۷۴۳/۷ ns	۱۶۱/۱ ns	۳۰/۴**	۳۸۰/۶ ns	۳۷۷ ns	۵۲/۹ ns	۲	بلوک
۵۵۷۶۸/۴**	۴۴/۴**	۵/۶۸*	۵/۹۹**	۱۱۸۷**	۴۱۷/۳**	۹۷۶/۱**	۱۴۰۷۲۷۷/۶**	۵۰۴/۶**	۵۲/۶**	۳۵۳/۱*	۵۳۱/۶**	۱۸۰/۳**	۲	شوری (S)
۱۹۲۹/۷	۰/۹۵	۰/۳۳	۱/۰۷	۳/۰۹	۰/۹۱	۷/۱۸	۷۹۳۶۳/۱	۱۲/۲	۷/۸۵	۴۱/۹	۶۴/۴	۳۱/۸	۴	خطای ۱
۴۱۲۲/۰**	۱/۲۹**	۲/۷۸**	۲/۷۹ ns	۲۰/۲۳**	۵۶/۷**	۱۳۳/۲**	۷۴۲۲۱۷/۲*	۱۸۳۹/۸**	۱۴۳/۵**	۱۵۳/۰**	۲۹۲/۶**	۷۸۸**	۴	کود (F)
۲۵۷۵/۹**	۰/۷۱**	۰/۲۲ ns	۱/۰۵ ns	۱۲/۵**	۱۹/۰۱*	۵۲/۲**	۳۸۷۹۷۹/۰ ns	۶۴۲/۸**	۹۴/۲**	۲۴۸/۵**	۴۱/۱ ns	۱۰/۰ ns	۸	S × F
۶۴۵/۲	۰/۲۰	۰/۲۸	۴/۱۴	۲/۶۵	۶/۱۳	۹/۲۲	۲۵۲۲۷۲/۰	۵۲/۱	۲/۲۶	۲۵/۳	۵۰/۸	۱۸/۳	۲۴	خطای کل
۱۶۷۰۵	۱۱/۳۶	۱۵/۵۹	۲۷/۳۰	۲۸/۷۲	۱۶/۵۳	۱۴/۷۱	۱۲/۵۲	۱۶/۵۲	۱۶/۹۱	۷/۵۶	۹/۴۴	۱۶/۲۷	-	ضریب تغییرات (%)

ns غیر معنی‌دار و * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۳: اثر کودهای شیمیایی و زیستی بر پارامترهای رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف‌لیمو تحت تنش شوری در شرایط اقلیمی استان تهران

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)													
		وزن خشک ریشه	حجم ریشه	ارتفاع بوته	تعداد شاخه	تعداد برگ	عملکرد گیاه	کروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتوتین	پروکلین	درصد اسانس	عملکرد اسانس	
بلوک	۲	۹۰۷۷ ns	۷۰۴۲ ns	۷۸۳۸ ns	۶۰۹۵**	۶۶۹۹ ns	۲۲۱۸۱۳/۳/۶ ns	۴/۴۷ ns	۰/۵۲ ns	۲/۰۲ ns	۰/۰۳ ns	۰/۰۷۰/۰/۰ ns	۰/۱۴ ns	۰/۳ ns	
شوری (S)	۲	۶۸۷۶*	۷۹۱۲*	۱۴۶۳۸*	۸۱۷۴/۱۷/۱۸*	۴۰۳۷**	۱۶۶۷۲۴/۲۳**	۴۳۱۵**	۷/۶۳*	۲۶۰۲**	۲۰۷/۲*	۴۰۷/۰**	۲۵/۵**	۴۰۷/۰**	۲۶۲۱۰/۹/۰**
خطای ۱	۴	۵۵/۰	۱۳۷	۷۲۲۱	۷۰/۱	۴۶۶۱	۴۲۵۶۴	۰/۶۱	۰/۶۰	۸۳/۰	۵۵/۰	۷۱/۰	۸۰/۰	۷۱/۰	۸۶۱۱
کود (F)	۴	۵۳۳/۶**	۴۶۹/۴**	۷۵/۵*	۳۸۷۸*	۰/۴۴۴	۱/۸۳۱۹۱۱۱	۰/۲	۳/۶۶**	۷/۱/۵*	۰/۶۳*	۰/۲۴/۱*	۰/۹/۰*	۰/۲۴/۱*	۳/۲۲۹۴
S × F	۷	۴۴/۳۸ ns	۳۱/۱/۴ ns	۳۱۵/۲**	۱۱۱/۴**	۱۳/۵/۵**	۲۷۰۴/۵/۵ ns	۹/۶ ns	۹/۷۰*	۹/۶۳*	۷۷/۰**	۷۷/۰**	۷۷/۰**	۷۷/۰**	۳۳۸۷
خطای کل	۲۴	۷۴/۴۸	۷۳/۳۸	۷۷/۷۸	۲/۲	۲۰/۲۰	۷/۵۱۶/۸۱	۳/۵	۵/۶۰	۲/۳	۲/۰	۷۰/۰	۷۲/۰	۷۰/۰	۱/۶۶۶
ضریب تغییرات (%)	-	۶/۶۱	۱۳/۵۹	۴/۱۴	۳/۶۱	۱۵/۶۱	۶/۳/۰	۳/۷	۶/۰	۲/۷/۱	۲/۶/۱	۳/۳/۳۱	۱/۹/۱	۳/۳/۳۱	۵/۱/۵

ns غیر معنی‌دار و * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر تنش شوری و ترکیبات کودی بر برخی صفات رشدی و فیزیولوژیک در گیاه دارویی علف‌لیمو در شرایط اقلیمی استان فارس

پروبین ($\mu\text{mol/g FW}$)	کارنتنئید ($\mu\text{g/g FW}$)	عملکرد گیاه (kg/ha)	حجم ریشه (cm^3)	وزن خشک ریشه (g/plant)	نام فاکتور / سطح فاکتور تنش شوری (میلی مولار) شاهد
۲/۵۴±۰/۷۸ c	۳/۳۷±۱/۳ a	۴۱۸۳/۱۴±۴۸۱/۵۵ a	۷۸۳۲±۵۰۸۷ a	۲۷/۳۴±۵/۰۵ ab	شاهد
۳/۴۷±۰/۷ b	۳/۰۷±۱/۴۱ a	۴۱۹۱/۹۷±۲۱/۲۲ a	۷۹/۴۸±۸/۶۳ a	۲۸/۷۵±۴/۹۳ a	۱۰۰±۵
۴/۰۶±۰/۶۷ a	۲/۱۵±۰/۳۶ b	۳۶۵۷/۰۹±۵۲۹/۲۱ b	۶۸/۶۳±۱۰/۴۴ b	۲۲/۸۹±۵/۱۶ b	۲۰۰±۵
۰/۵۸	۰/۳۰	۲۸۰/۱۷	۸/۱۳	۵/۷۲	LSD ($\alpha=0/05$)
ترکیبات کودی					
۲/۵۴±۰/۷۶ c	۲/۲±۰/۶۵ c	۳۵۱۵/۹۱±۴۰۸/۱ b	۶۶/۹۲±۱۱/۱۴ b	۲۲/۲۷±۶/۱۳ c	C شاهد (بدون مصرف کود)
۳/۵۲±۰/۸ ab	۳/۱۱±۱/۰۴ abc	۴۱۹۳/۰۵±۴۶۵/۶۷ a	۸۱/۱۱±۹/۳۳ a	۲۹/۸۱±۳/۲۸ a	CH کود شیمیایی
۳/۴۷±۱/۰۳ a	۲/۳۴±۰/۵۲ bc	۴۱۴۴/۰۲±۷۹۳/۴۸ a	۷۴/۹±۶/۰۴ a	۲۶/۳±۵/۴۸ abc	AMF میکوریزا آربوسکولار
۳/۹۹±۰/۵۲ a	۳/۲۷±۱/۳۴ ab	۴۱۹۵/۱±۵۸۴/۳۱ a	۸۰/۲۶±۶/۳۴ a	۲۸/۵۵±۶/۱۱ ab	NI نیتروکسین
۳/۷۶±۰/۴۳ ab	۳/۴۱±۱/۷۹ a	۴۰۰۵/۵۹±۴۴۴/۵ a	۷۴/۱۸±۹/۰۷ a	۲۴/۸۲±۳/۶۹ bc	BIO بیوسولفور
۰/۵۲	۱/۰۳	۴۸۸/۶	۶/۹۳	۴/۱۶	LSD ($\alpha=0/05$)

میانگین‌های (\pm SD) دارای حروف مشابه در هر ستون، از نظر آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

جدول ۵: مقایسه میانگین اثر تنش شوری و ترکیبات کودی بر برخی صفات رشدی و فیزیولوژیک در گیاه دارویی علف‌لیمو در شرایط اقلیمی استان تهران

عملکرد اسانس (گرم در هکتار)	درصد اسانس	کلروفیل a (µg/g FW)	کروفیل کل (µg/g FW)	عملکرد گیاه (kg/ha)	حجم ریشه (cm ³)	وزن خشک ریشه (g/plant)	تنش شوری (میلی مولار)	
							شاهد	۱۰۰±۵
۷۶/۲±۱۵/۷۵ c	۱/۸۷±۰/۳ c	۱۴/۳۲±۱/۴۶ a	۲۸/۶±۳/۵۸ a	۴۳۳/۹۳±۵۶۶/۰۹ a	۶۴/۷۴±۱۱/۳۵ a	۲۴/۳۱±۱۱/۴۹ ab		
۹۰/۳±۱۸/۶۴ b	۲/۲۵±۰/۴ b	۱۳/۰/۳±۰/۶۸ b	۲۷/۶±۱/۳۹ a	۴۰۳۳/۱±۴۹۷/۶۸ b	۶۹/۱۹±۱۰/۷۴ a	۲۹/۸۷±۱۱/۵۸ a		
۱۵۴/۶±۳۰/۳ a	۴/۲۴±۰/۷ a	۱۳/۱/۶±۰/۵۷ b	۲۵/۳±۲/۴۷ b	۳۶۶۶/۳۱±۵۰۳/۶۶ c	۵۴/۹۹±۷/۶۴ b	۱۶/۳۹±۸/۰۳ b		
۱۱/۴۱	۰/۲۸	۰/۷۸	۱/۲۸	۲۰۹/۰	۹/۲۴	۹/۳۷		LSD (α=۰/۰۵)
ترکیبات کودی								
۱۱۰/۹±۳۸/۶ a	۳/۳۱±۱/۳۸ a	۱۲/۴±۰/۵۳ b	۲۵/۳±۲/۹ b	۳۴۵۲/۸۱±۴۸۴/۱۲ b	۵۳/۱۶±۶/۶۵ d	۱۳/۳۲±۶/۰۳ d		C شاهد (بدون مصرف کود)
۱۰۸/۲±۳۹/۳ a	۲/۵۶±۱/۰۹ b	۱۳/۸±۱/۳ a	۲۸/۸۴±۲/۶ a	۴۳۴۷/۰۴±۶۰/۶۴ a	۷۱/۱۹±۱۰/۳۴ a	۳۱/۸۵±۱۱/۰۲ a		CH کود شیمیایی
۱۰۳/۰±۴۵/۱ a	۲/۵۶±۱/۰۲ b	۱۳/۶±۰/۸۷ a	۲۶/۳۳±۱/۵ b	۳۹۹۶/۴±۳۵۸/۳۳ a	۶۲/۶۶±۱۱/۰۵ bc	۲۲/۷۹±۱۰/۰۶ bc		AMF مایکوریزا آریوسکولار
۱۱۵/۳±۵۲/۱ a	۲/۸۳±۱/۳۳ b	۱۴/۱±۱/۲ a	۲۸/۵۷±۳/۸ a	۴۲۷۸/۵۱±۳۲۲/۵۱ a	۶۸/۵۷±۱۱/۳۵ ab	۳۰/۳±۱۱/۴۵ ab		NI نیتروکسین
۹۷/۸±۳۴/۵ a	۲/۶۱±۱/۲۴ b	۱۳/۵±۰/۹۳ a	۲۶/۹۸±۱/۹ ab	۳۹۷۷/۴۶±۶۷۴/۰۱ a	۵۹/۳۲±۹/۵۲ cd	۱۹/۳۷±۹/۷ cd		BIO بیوسولفور
۲۵/۱۶	۰/۵۱	۰/۷۸	۲/۱۸	۴۰۹/۵	۸/۳۳	۸/۳۷		LSD (α=۰/۰۵)

میانگین‌های (±SD) دارای حروف مشابه در هر ستون، از نظر آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

جدول ۶: مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه تنش شوری و ترکیبات کودی بر پارامترهای رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف‌لیمو در شرایط اقلیمی استان فارس

عملکرد اسانس (گرم در هکتار)	درصد اسانس	کلروفیل		کلروفیل کل		تعداد برگ	تعداد شاخه	تعداد بونه	ارتفاع بونه (cm)	تیمار کودی	شوری
		a (µg/g FW)	b (µg/g FW)	(µg/g FW)	(µg/g FW)						
۸۵/۰۵+۴۴/۶۷ cd	۲/۴۱+۱/۳۷ ef	۴/۹۳+۱/۲۴ cde	۱۳/۱۵+۰/۴۶ de	۱۸/۰۷+۰/۷۹ ef	۳/۳۳+۲/۵۲ g	۷۰/۶+۱۳/۱۶ a-d	شاهد				
۸۳/۴۳+۱۲/۸ d	۱/۹۵+۰/۴۳ f	۵/۶۸+۱/۵۵ cd	۲۰/۵۲+۰/۸۱ bc	۲۶/۲+۲/۲۵ cd	۷۱+۴/۵۸ a	۷۳/۸+۳/۹۵ abc	کودشیمیایی				
۱۲۷/۳+۲۳/۰۶ c	۲/۸۲+۰/۳۲ e	۱۲/۵۲+۱/۹۷ a	۲۱/۳۸+۰/۶۷ ab	۳۳/۸۹+۲/۳۹ ab	۶۵/۶۷+۶/۰۳ a	۶۶+۹/۷۹ cde	مایکوزینا				صفر
۷۰/۸۹+۱۶/۲۳ d	۱/۸۳+۰/۴۴ f	۱۲/۳۳+۳/۳۱ a	۲۴/۸۴+۱/۵۸ a	۳۷/۸۵+۴/۸۹ a	۱۲+۱ bc	۶۸/۳+۹/۳۶ a-d	نیتر وکسین				
۷۶/۳۳+۱۷/۴۷ d	۱/۸۱+۰/۴۵ f	۸/۴۸+۰/۶۴ b	۲۲/۶۱+۳/۰۷ ab	۳۱/۰۸+۳/۴۳ bc	۴۴/۳۳+۹/۰۲ cd	۷۶/۴۳+۵/۹ a	بیوسولفور				
۱۰۲/۱۷+۳/۷۲ cd	۳/۸+۰/۱۵ e	۳/۳۴+۰/۶۱ de	۱۱/۶۲+۲/۳۲ e	۱۴/۹۶+۲/۰۸ fgh	۳۶/۶۷+۶/۵۱ de	۵۷/۹۷+۷/۶ e	شاهد				
۲۱۴/۳۲+۱۸/۶۲ ab	۴/۸۹+۰/۰۶ cd	۴/۹۲+۰/۸۴ cde	۱۲/۸۱+۲/۲۱ de	۱۷/۷۲+۲/۹۶ ef	۴۳/۳۳+۵/۸۷ cd	۷۱/۵+۶/۸۵ a-d	کودشیمیایی				۱۰۰
۲۳۳/۰۸+۱۳/۰۷ a	۴/۹۸+۰/۱ bc	۴/۸۸+۱/۳۹ de	۱۱/۸۱+۲/۳۶ e	۱۵/۹۸+۳/۳۴ fgh	۳۶/۳۳+۵/۵۱ de	۶۵/۸۲+۷/۶۱ cde	مایکوزینا				میلی مولار
۱۹۲/۷+۱۰/۸۹ ab	۴/۲۲+۰/۵۸ d	۴/۹۱+۰/۶ cde	۱۶/۵۳+۴/۸۸ cd	۲۱/۴۳+۴/۶۷ de	۵/۶۷+۲/۰۸ fig	۶۷/۵۳+۵/۳۱ bcd	نیتر وکسین				
۱۷۸/۰۵+۱۳/۱۴ b	۴/۵۸+۰/۰۹ cd	۷/۲۲+۳/۶۲ bc	۱۹/۴+۳/۷۷ bc	۲۶/۶۲+۲/۰۲ c	۶۴/۳۳+۴/۵۱ ab	۷۴/۹۳+۶/۸۴ ab	بیوسولفور				
۱۹۹/۲۶+۲۲/۸۴ ab	۵/۶۸+۰/۸۲ ab	۲/۷+۰/۳۵ e	۹/۰۷+۰/۸۶ e	۱۱/۸۷+۱/۱۵ h	۱۷+۷/۵۵ f	۴۱/۶۳+۵/۴۳ f	شاهد				
۲۱۴/۶۸+۲۳/۶ ab	۵/۶۸+۰/۲۹ ab	۲/۹+۰/۶۴ e	۹/۸۵+۱/۸۹ e	۱۲/۷۵+۲/۴۲ fgh	۶۸+۷ a	۷۴/۹۷+۳/۰۱ ab	کودشیمیایی				۲۰۰
۱۹۶/۵۷+۵۳/۴۱ ab	۶+۰/۸۷ a	۳/۸۱+۰/۳۷ de	۱۰/۴۷+۰/۵۵ e	۱۴/۸۸+۰/۳۸ fgh	۲۳+۷ f	۶۷/۸۳+۷/۶۸ bcd	مایکوزینا				میلی مولار
۱۹۶/۸۷+۴۸/۸۸ ab	۵/۰۹+۰/۳۲ bc	۳/۸۳+۰/۸۴ de	۱۰/۸۸+۲/۶۱ e	۱۴/۵۱+۳/۴۳ fgh	۲۸/۶۷+۹/۰۲ ef	۶۴/۲+۲/۳۹ de	نیتر وکسین				
۲۰۲/۸۱+۳۹/۲۲ ab	۵/۲۱+۰/۰۸ bc	۳/۵۴+۱/۰۵ de	۹/۸۹+۲/۵ e	۱۳/۳۲+۳/۵۵ fgh	۵۳+۱۲ bc	۵۸+۴/۶۱ e	بیوسولفور				
۴۲/۸	۰/۸۶	۲/۴۷	۴/۸۷	۵/۸۱	۱۲/۱۶	۸/۴۹	LSD = ۰/۰۵				

میانگین‌های (±SD) دارای حروف مشابه در هر ستون، از نظر آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. د. شاهد (بدون مصرف کود)، CH: کود شیمیایی NPK، AMF: قارچ مایکوزینا آریوسکولار، NI: نیتر وکسین، BIO: بیوسولفور

جدول ۷: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و ترکیبات کودی بر پارامترهای رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف‌لیمو در شرایط اقلیمی استان تهران

پرویلین ($\mu\text{mol/g FW}$)	کارتوتنئید ($\mu\text{g/g FW}$)	کلروفیل b ($\mu\text{g/g FW}$)	تعداد برگ		تعداد شاخه		ارتفاع بوته (cm)	تیمار کودی	شوری
			تعداد بوته	در بوته	تعداد بوته	در بوته			
۰/۱۶+۰/۰۲ h	۰/۹۹+۰/۰۵ cde	۱۴/۱۰+۰/۸۲ a-e	۳۹/۲۲+۴/۹ b	۶/۶۷+۲/۰۸ fg	۶۹/۲۲+۱۸/۳ a-d	شاهد			
۰/۳۵+۰/۱۸ h	۱/۷۵+۰/۱۷ bc	۱۶/۲+۱/۵ ab	۵۴/۵۴+۲/۴۳ a	۲۰/۳۳+۲/۵۲ a	۶۴/۸۸+۴/۴۱ b-e	کودشیمیایی			
۰/۹۲+۰/۱۲ g	۲/۳۶+۰/۵۷ ab	۱۲/۷۲+۱/۷۹ c-f	۳۴/۱۱+۲/۹۱ b	۱۲/۳۳+۲/۵۲ bc	۵۷/۷۵+۱۱/۵۷ de	مایکوریزا		صفر	
۰/۴+۰/۱۱ h	۱/۶۶+۰/۴۸ bcd	۱۶/۸۷+۲/۹۱ a	۲۲/۵۴+۴/۶۶ c	۹+۲/۶۵ def	۵۱/۴۵+۴/۰۴ ef	نیتروکسین			
۰/۶+۰/۰۵ gh	۲/۷۷+۰/۵۲ a	۱۱/۸۷+۰/۶۷ def	۴۰/۲۲+۱/۸۸ b	۱۲/۳۳+۱/۵۳ bc	۷۴/۸۵+۹/۶۱ abc	بیوسولفور			
۱/۸۳+۰/۱۴ f	۱/۵+۰/۰۴ cde	۱۴/۶۲+۰/۳۲ a-e	۱۲/۳۶+۹/۱۵ f	۴/۳۳+۲/۰۸ gh	۶۰/۹۵+۹/۸۱ cde	شاهد			
۲/۴۹+۰/۲۵ e	۰/۹+۰/۰۸ de	۱۵/۱۲+۰/۹۷ abc	۵۴/۳۷+۵/۷۹ a	۱۸/۳۳+۲/۰۸ a	۷۸/۲۲+۵/۸۱ ab	کودشیمیایی		۱۰۰ میلی-	
۲/۷۵+۰/۰۹ e	۱/۷۵+۰/۴۸ bc	۱۳/۰۶+۰/۶۶ cde	۲۱/۹۴+۲/۲ cd	۱۸+۱ a	۸۲/۰۸+۴/۸۶ a	مایکوریزا		مولار	
۲/۶۵+۰/۲۱ e	۱/۸۹+۰/۰۲ cde	۱۴/۸+۰/۸۸ a-d	۱۴/۲۲+۲/۰۲ ef	۱۱/۳۳+۲/۰۸ cd	۶۵/۰۸+۹/۳۱ b-e	نیتروکسین			
۲/۵۹+۰/۲۶ e	۰/۸۹+۰/۱ de	۱۵/۳+۰/۶۵ abc	۱۴/۹۲+۴/۸۱ def	۷/۶۷+۲/۰۸ ef	۶۸/۴۵+۳/۵۵ a-d	بیوسولفور			
۲/۹۶+۰/۳۳ de	۱/۴۷+۰/۸۴ cde	۹/۹۱+۳/۷۸ f	۱۱/۶۹+۲/۴۷ f	۲/۶۷+۱/۱۵ h	۳۵/۸۸+۴/۹۳ g	شاهد			
۳/۲۵+۰/۳۳ cd	۰/۷۸+۰/۱۷ e	۱۳/۸+۰/۶۵ b-e	۹/۰۹+۴/۳ f	۱۴/۶۷+۳/۲۱ b	۵۹/۴۲+۱۰/۲۱ de	کودشیمیایی		۲۰۰ میلی-	
۳/۶۸+۰/۲۵ bc	۱/۴۳+۰/۲۷ cde	۱۲/۴۲+۰/۴۷ c-f	۲۱/۰۴+۵/۸۱ cde	۴/۶۷+۳/۰۶ gh	۶۰/۱۸+۸/۶ cde	مایکوریزا		مولار	
۴/۱۴+۰/۹۵ ab	۱/۶۳+۰/۹۳ bcd	۱۱/۷۳+۱/۹۷ ef	۳۶/۳۶+۲/۶۴ b	۱۰+۴/۳۶ cde	۵۸/۷۲+۵/۲۸ de	نیتروکسین			
۴/۶۳+۰/۲۳ a	۱/۰۵+۰/۴۹ cde	۱۳/۱۱+۱/۸۷ cde	۲۰/۹۱+۴/۹۸ cde	۸+۲ ef	۴۲/۸۲+۱۲/۵ fg	بیوسولفور			
۰/۵	۰/۷۹	۲/۹۶	۷/۵۸	۲/۴۵	۱۴/۸۷	LSD = ۰/۰۵			

میانگین‌های (\pm SD) دارای حروف مشابه در هر ستون، از نظر آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. C: شاهد (بدون مصرف کود)، CH: کود شیمیایی AMF: قارچ مایکوریزا آربوسکولار، NI: نیتروکسین، BIO: بیوسولفور

جدول ۸: همبستگی ساده بین صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف لیمو تحت تأثیر تیمارهای کودی و تنش شوری در دو اقلیم فارس و تهران

نام صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳
وزن ریشه	۱												
حجم ریشه	۰/۳۷/۰**	۱											
ارتفاع بوته	۰/۱۵/۰**	۰/۳۵/۰**	۱										
تعداد شاخه	۰/۲۲/۰**	۰/۶۸/۰*	su۹۶/۰	۱									
تعداد برگ	۰/۶۳/۰**	۰/۷۵/۰**	۰/۳۸/۰*	۰/۸۳/۰**	۱								
عملکرد گیاه	۰/۶۲/۰**	۰/۸۵/۰**	۰/۸۴/۰**	۰/۶۳/۰*	۰/۵۴/۰**	۱							
کلروفیل کل	۰/۰۶/۰ns	su۱۰/۰	su۴۱/۰	۰/۷۸/۰*	su۶۰/۰	۰/۶۸/۰*	۱						
aکلروفیل	۰/۲۹/۰*	۰/۳۲/۰*	۰/۳۰/۰*	su۴۸/۰*	۰/۵۳/۰**	۰/۴۱/۰**	۰/۳۷/۰**	۱					
bکلروفیل	۰/۰۵/۰ns	۰/۰۳/۰*	su۴/۰/۰-	su۰/۰/۰-	۰/۲۳/۰ns	۰/۲۲/۰*	۰/۳۷/۰**	۰/۳۷/۰**	۱				
کارتوتنوئید	۰/۰۶/۰ns	۰/۷۵/۰**	۰/۵۳/۰*	۰/۷۸/۰*	۰/۷۵/۰**	۰/۶۸/۰*	۰/۲۰/۰ns	۰/۳۶/۰**	۰/۵۲/۰**	۱			
پروترین	۰/۰۴/۰ns	۰/۰۵/۰ns	su۰/۰/۰-	۰/۹۶/۰/۰-	su۴/۰/۰-	۰/۸۱/۰*	۰/۳۳/۰**	su۷۰/۰/۰-	۰/۲۵/۰**	۰/۳۱/۰**	۱		
درصد اسانس	۰/۰۳/۰*	۰/۰۲/۰ns	۰/۳۸/۰*	۰/۳۵/۰*	۰/۰۷/۰ns	۰/۲۴/۰*	۰/۶۷/۰**	۰/۲۵/۰**	۰/۷۶/۰**	۰/۷۶/۰**	۰/۳۳/۰**	۱	
عملکرد اسانس	۰/۰۱/۰ns	۰/۰/۰ns	su۹۶/۰/۰-	۰/۳/۰*	۰/۰/۰ns	su۴۱/۰/۰-	۰/۱۸/۰*	۰/۳۴/۰**	۰/۶۶/۰**	۰/۳۰/۰ns	۰/۰۳/۰ns	۰/۱۷/۰*	۱



بحث

معنادار میانگین صفات عملکردی شود (Acharya et al., 2020).

کاهش زیست توده تولیدی، کم شدن کارایی فتوسنتز و تغییر در میزان آماس برگ از اثرات اولیه شوری در گیاهان است. همچنین در طی تنش، همه فرآیندهای اصلی گیاه از قبیل تولید انرژی، متابولیسم چربی ها و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت تأثیر قرار می گیرند (Shahverdi et al., 2019). تنش اسمزی از اثرات ثانویه حاصل از شوری است که باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و در نتیجه تولید گونه های فعال اکسیژن می شود. گیاهان برای کاهش اثرات مخرب و پاکسازی رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول های گیاهی از سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی (همچون پرولین، رنگیزه ها، قند محلول و غیره) برخوردارند (Shahverdi et al., 2019; Acharya et al., 2020). پرولین از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، و مهار رادیکال هیدروکسیل، تحمل گیاه را به تنش بهبود می بخشد. در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که تنش شوری آب آبیاری افزایش محتوای اسید آمینه پرولین را در برگ گیاه علف لیمو در پی داشت (جدول ۷).

آثار شوری بر گیاهان شامل ممانعت از رشد و تولید، کاهش فتوسنتز، تنفس و سنتز پروتئین ها و در نهایت، در سطوح بالاتر تنش شوری مرگ است (Pan et al., 2021). در پژوهش حاضر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شدید خشکی اتفاق افتاد. در این راستا پژوهشگران بیان داشتند که کاهش کلروفیل در شرایط تنش شوری ممکن است نتیجه توقف مسیر بیوسنتز، تحریک مکانیسم تخریبی آن و یا هر دو حالت باشد (Shahverdi et al., 2019). کاهش رنگیزه های فتوسنتزی تحت تنش شوری در گیاهان مختلف از جمله استویا (Shahverdi et al., 2019) و نعناع فلفلی (Alavi et al., 2020) مشاهده

پژوهش حاضر به منظور بررسی پاسخ های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف لیمو به کاربرد کودهای مختلف شیمیایی و زیستی تحت تنش شوری آب آبیاری در دو اقلیم متفاوت (استان فارس و تهران) مورد اجرا قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش شوری شدید (۲۰۰ میلی مولار) منجر به کاهش معنی دار میانگین صفات رشدی و عملکردی گیاه از جمله وزن خشک ریشه، حجم ریشه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، تعداد برگ و عملکرد کل گیاه شد ولی در اکثر صفات، شوری آب آبیاری متوسط (۱۰۰ میلی مولار) منجر به کاهش معنادار میانگین صفات ذکر شده نگردید (جدول ۵ و ۶). به بیان دیگر نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه علف لیمو از نظر تحمل به تنش شوری از قابلیت خوبی برخوردار بوده و در شرایط شوری آب آبیاری عملکرد قابل قبولی دارد. در این راستا، نتایج مشابهی مبنی بر اثر کاهندگی تنش شوری آب آبیاری بر صفات رشدی و عملکردی در گیاهان مختلف از جمله استویا (Shahverdi et al., 2019 and 2020)، نوروزک (Akhondi et al., 2021) و آویشن (Fabriki Ourang and Davoodnia, 2018) گزارش شده است. کاهش وزن خشک ریشه و حجم ریشه در شرایط تنش شوری اتفاق افتاد. ریشه یک اندام ضروری گیاهی است که بر جذب و تبدیل منابع خاک تأثیر می گذارد و بنابراین تا حد زیادی رشد گیاه را تعیین می کند. بنابراین، تغییرات در ساختار ریشه به دلیل تنش شوری می تواند بر فرآیند فیزیولوژیکی از جمله جذب آب و جذب مواد مغذی در ریشه تأثیر بگذارد (Shahverdi et al., 2020). کاهش صفات عملکردی ناشی از تنش شوری احتمالاً به دلیل سمیت یونی، اختلالات غذایی و تعادل آب (تغییر در محتوای رطوبت نسبی) است. بنابراین کاهش سطح فتوسنتزی (کاهش تعداد و سطح برگ) منجر به افت

شده است. کلروفیل یکی از اجزای کلروپلاست است که برای فتوسنتز مهم بوده و محتوی نسبی کلروفیل، رابطه‌ای مثبت با نرخ فتوسنتز دارد. غلظت‌های پایین رنگدانه‌های فتوسنتزی به طور مستقیم می‌تواند پتانسیل فتوسنتز و بنابراین تولید اولیه را محدود کند (Pan et al., 2021).

کارتونوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های بیولوژیکی نقش بسیار مهمی در حفاظت از بافت گیاهی ایفا می‌نمایند. عدم حضور کارتونوئیدها ممکن است باعث آسیب فتواکسیداتیو شدید در بافت گیاهی گردد. افزایش غلظت کارتونوئیدها تحت شرایط تنش متوسط شوری احتمالاً بخشی از سازوکارهای دفاعی گیاه در مقابله با تنش می‌باشد. این نکته که گیاهان مقاوم به شوری کارتونوئید بالاتری را دارا می‌باشند، توسط محققان مختلف گزارش شده است (Shahverdi et al., 2019).

مصرف بهینه کود در گیاهان ضمن افزایش عملکرد موجب افزایش تحمل در مقابل تنش‌های محیطی از قبیل خشکی و شوری می‌گردد. عناصر غذایی مختلفی جهت رشد و نمو گیاهان شناخته شده‌اند که در فرآیندهای متابولیک و فیزیولوژیک گیاه نقش‌های مختلفی دارند. پژوهشگران گزارش کرد که کود شیمیایی به علت در اختیار قرار دادن نیتروژن بیشتر در افزایش عملکرد اسانس در بابونه تأثیر زیادی دارد. تأثیر نیتروژن بر عملکرد اسانس مربوط به نقش فعالی است که نیتروژن در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس دارد. همچنین احتمالاً به دلیل اینکه نیتروژن باعث افزایش نسبت کربوهیدرات‌ها به جیبرلین و اکسین می‌شود، عملکرد اسانس بهبود می‌یابد (Hariadi et al., 2016).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از قارچ میکوریزا منجر به افزایش پارامترهای رشدی و

عملکرد و تغییر صفات فیزیولوژیکی شد. در این راستا، اثر قارچ میکوریزا آریوسکولار بر مقاومت تنش شوری بررسی و گزارش شد که همزیستی میکوریزا به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث توسعه سیستم ریشه‌ای، افزایش ارتفاع گیاه، محتوای کلروفیل برگ‌ها، شدت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در گیاهان برنج آپلند (Tisarum et al., 2020) و سنبل‌الطیب (Amanifar and Toghranegar, 2020) گردید. هیف‌های توسعه یافته قارچ‌های میکوریزا قادر به رشد در منافذ خاک بوده که ریشه‌های موئین و تارهای کشنده قادر به نفوذ در آنها نیستند، در نتیجه دسترسی گیاه به عناصر غیر متحرک مانند فسفر افزایش می‌یابد. بنابراین شبکه هیف قارچ‌های میکوریزی قادرند راحت‌تر از ریشه گیاهان در خاک‌های متراکم نفوذ و باعث افزایش سیستم ریشه گیاهان گردند (Ghaderi et al., 2020).

یافته‌های پژوهش‌های پیشین نشان داد که اثر افزایش دهنده‌گی کودهای شیمیایی در گیاهان دارویی در مقایسه با کاربرد کودهای آلی و زیستی کمی بالاتر است. از طرف دیگر در تولید متابولیت‌های دارویی از گیاهان، عدم استفاده از ترکیبات شیمیایی بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Javan Gholiloo et al., 2020)، در پژوهش حاضر کاربرد قارچ میکوریزا در قیاس با کود شیمیایی NPK در محتوای اسانس از کارایی بالایی برخوردار بود (جدول ۶).

در پژوهش حاضر کود زیستی نیتروکسین نیز از اثرات مثبتی در هر دو منطقه مورد آزمایش از نظر افزایش صفات رشدی و عملکردی برخوردار بود (جدول ۶ و ۷). در همین راستا، در پژوهش‌های مختلف گزارش شد که کاربرد کود نیتروکسین (حاوی 10^8 CFU/ml از توپاکتر و آزوسپیلیوم) منجر به افزایش پارامترهای رشدی، عملکردی و محتوای اسانس در گیاهان دارویی شد (Mahdavi Khorami

می‌رسد که ریزوباکتری‌های موجود در کود نیتروکسین علاوه بر تثبیت نیتروژن مولکولی، منجر به تولید هورمون اکسین می‌شود و از این طریق افزایش پارامترهای مرتبط به ریشه شده و جذب عناصر و آب را از خاک افزایش می‌دهد (Heydari-Rahni et al., 2022). این پژوهشگران همچنین بیان داشتند که کود زیستی نیتروکسین از توانایی سنتز هورمون‌های گیاهی و تنظیم کننده‌های رشدی از جمله جیبرلین، اکسین، ویتامین‌های و همچنین اسیدهای آمینه برخوردار هستند که در افزایش پارامترهای مورفولوژیک و عملکردی و همچنین تنظیم صفات فیزیولوژیک بسیار مؤثر می‌باشند.

در پژوهش حاضر تنش شوری منجر به افزایش معنی‌دار درصد اسانس شد و عملکرد اسانس نیز در سطح شوری متوسط (۱۰۰ میلی‌مولار) از میانگین بالاتری برخوردار بود (جدول ۶). حیدری-رهنی و همکاران (۲۰۲۲) بیان داشتند که اسانس‌های گیاهی ترکیبات ترپنوئیدی بوده و NADPH و ATP برای سنتز این ترکیبات ضروری می‌باشد که برای سنتز این دو ترکیب وجود عناصر فسفر و نیتروژن ضروری است، به همین دلیل افزایش درصد اسانس در اثر استفاده از کودهای زیستی و همچنین NPK اتفاق می‌افتد که نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نیز این موضوع را اثبات می‌کند.

در مجموع صفات مورد مطالعه، کشت گیاه علف-لیمو در منطقه فارس (فیروزآباد) در مقایسه با تهران (ورامین) از کارایی بالایی برخوردار بود. یکی از دلایل برتری شهرستان فیروزآباد به نظر می‌رسد مساعد بودن دما و میزان تغییرات آن در طول فصل رشد و همچنین میزان رطوبت محیط باشد. در راستای یافته‌های این پژوهش، سایر پژوهشگران نیز نتایج

مشابهی را گزارش کردند. به‌طور مثال برای گیاه دارویی استویا بیان داشتند که کشت در منطقه فیروزآباد استان فارس در مقایسه با کشت در منطقه انزلی استان گیلان از مطلوبیت بالایی در تولید عملکرد برگ و تولید متابولیت ثانویه برخوردار است. پژوهشگران دلیل برتری این منطقه را مطلوب بودن میزان دما و رطوبت محیط بیان داشتند (Shahverdi et al., 2019).

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی یافته‌های پژوهش نشان داد که کشت گیاه دارویی علف‌لیمو در دو منطقه فیروزآباد (استان فارس) و ورامین (استان تهران) تحت شرایط تنش شوری امکان‌پذیر بوده و عملکرد کمی و کیفی مطلوبی نیز تولید می‌نماید. علاوه بر این تحت شرایط کشت مزرعه‌ای از آستانه تحمل خوبی در برابر تنش شوری آب آبیاری برخوردار است. نتایج نشان داد که تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با شرایط بدون تنش کاهش معنی‌دار میانگین صفات رشدی و عملکردی را در پی نداشت. از طرف دیگر، کاربرد کودهای مختلف آلی، شیمیایی و زیستی نیز با افزایش پارامترهای رشدی و عملکردی منجر به تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش شوری شد. در بین ترکیبات کودی، استفاده از کود شیمیایی NPK، نیتروکسین و قارچ مایکوریزا تحت شرایط تنش شوری در کشت گیاه دارویی علف‌لیمو با توجه به هزینه کم این کودهای زیستی و همچنین پایین خسارات زیست-محیطی آنها، قابل توصیه می‌باشد. پیشنهاد می‌گردد بنابه نبود تحقیقات کافی در مورد اثر تنش شوری بر گیاه دارویی علف‌لیمو، آستانه تحمل به تنش شوری در این گیاه در پژوهش‌های پیش‌رو ارزیابی و گزارش گردد.

References

- Abu-Dieyeh, M.H., Diab, M., and Al-Ghouti, M.A. 2017. Ecological and agriculture impacts of bakery yeast wastewater use on weed communities and crops in an arid environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 14957-14969.
- Acharya, P., Jayaprakasha, G.K., Crosby, K.M., Jifon, J.L. and Patil, B.S. 2020. Nanoparticle-mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in texas. *Scientific Reports*, 10: 1-16.
- Aghighi Shahverdi, M., Omidi, H. and Tabatabaei, S.J. 2018. Plant growth and steviol glycosides as affected by foliar application of selenium, boron, and iron under NaCl stress in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Industrial Crops and Products*, 125: 408-415.
- Akhondi, M., Dashti, M., Niakan, M. and Mahmodzadeh Akharat, H. 2021. Nano-ZnO effect on yield, quantity and quality of *Salvia leriifolia* benth. essential oils under salinity stress conditions. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 9: 91-105.
- Alavi, S.A., Ghehsareh, A.M., Soleymani, A., Panahpour, E. and Mozafari, M. 2020. Peppermint (*Mentha piperita* L.) growth and biochemical properties affected by magnetized saline water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201: 110775.
- Amanifar, S. and Toghranegar, Z. 2020. The efficiency of arbuscular *Mycorrhiza* for improving tolerance of *Valeriana officinalis* L. and enhancing valerianic acid accumulation under salinity stress. *Industrial Crops and Products*, 147: 112234.
- Asghari, M., Yousefirad, M., and Masumi, A. 2016. Effects of organic fertilizers of compost and vermicompost on qualitative and quantitative triats of *Lemon verbena*. *Journal of Medicinal Plants*, 15: 63-71.
- Azizi, M., Mirmostafae, S., Bahreini, M., Arouee, H. and Oroojalian, F. 2015. Evaluation of the effect of organic manure and compost application on growth, development, essential oil content, and microbial load in valerian (*Valeriana officinalis* L.). *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)*, 38: 1-14.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Etesami, H. and Alikhani, H.A. 2019. 'Halotolerant plant growth-promoting fungi and bacteria as an alternative strategy for improving nutrient availability to salinity-stressed crop plants. in, *Saline Soil-Based Agriculture By Halotolerant Microorganisms* (Springer).
- Fabriki Ourang, S. and Davoodnia, B. 2018. Changes in growth characteristics and secondary metabolites in *Thymus vulgaris* L. under moderate salinity and drought shocks. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 6: 27-39.
- Ghaderi, A., Noee, A., Ahmadi, K. and Saborifard, H. 2020. Evaluation the effects of *Thiobacillus* biological and chemical fertilizers on morphological and phytochemical characteristics of *Satureja hortensis* L. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 8: 13-29.
- Ghahfarokhi, Y., Abdali Mashhadi, A., Bakhshandeh, A. and Lotfi Jalal Abadi, A. 2015. Evaluation of effect attract moisture substances and organic fertilizers on quality and quantity yield of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in Ahwaz region. *Journal of Plant Process and Function*, 4: 87-96.
- Hariadi, YC., Nurhayati, AY. and Hariyani, P. 2016. Biophysical monitoring on the effect on different composition of goat and cow manure on the growth response of maize to support sustainability. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9: 118-127.
- Heydari-Rahni, M., Nasri, M., filizadeh, Y., Kasraei, P. and Azadi, P. 2022. Evaluation of growth, yield, and physiological responses of *Valeriana officinalis* L. to the application of urea, nitroxin, and phosphate Barvar-2 fertilizers. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 9: 73-92.
- Idrees, M., Khan, MMA., Aftab, T., Naeem, M. and Hashmi, N. 2010. Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. *Journal of Plant Interactions*, 5: 293-303.

- Javadi, H., Rezvani Moghaddam, P., Rashed Mohasel, M.H. and Seghatoleslami, M.J. 2020. Evaluation of biomass yield and nitrogen and phosphorus efficiency indicators of portulaca (*Portulaca oleracea* L.) affected by organic, chemical and biological fertilizers. Iranian Journal of Field Crops Research, 18: 309-322.
- Javan Gholiloo, M., Yarnia, M., Hassanzadeh Ghorttapeh, A., Farahvash, F. and Daneshian, A. 2020. The reaction of valerian to the application of bio-fertilizers under drought stress. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 30: 59-72.
- Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K. and Khalighi, A. 2010. The effect of salinity stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (*Mentha piperita* L.). World Applied Sciences Journal, 11: 1403-1407.
- Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A.K., Srivastava, S. and Verma, J.P. 2020. Plant growth-promoting bacteria: biological tools for the mitigation of salinity stress in plants. Frontiers in Microbiology, 11: 1216.
- Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV- VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 1: F4. 3.1-F4. 3.8.
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A. and Tribedi, P. 2017. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. Environmental Science and Pollution Research, 24: 3315-3335.
- Mahdavi Khorami, A., Masoud Sinaki, J., Amini Dehaghi, M., Rezvan, S. and Damavandi, A. 2020. Sesame (*Sesame indicum* L.) biochemical and physiological responses as affected by applying chemical, biological, and nano-fertilizers in field water stress conditions. Journal of Plant Nutrition, 43: 456-475.
- Mirzaei, M., Ladan Moghadam, A., Hakimi, L. and Danaee, E. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) improve plant growth, antioxidant capacity, and essential oil properties of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) under water stress. Iranian Journal of Plant Physiology, 10: 3155-3166.
- Pan, T., Liu, M., Kreslavski, V.D., Zharmukhamedov, SK., Nie, C., Yu, M., Kuznetsov, V.V., Allakhverdiev, SI. and Shabala, S. 2021. Non-stomatal limitation of photosynthesis by soil salinity. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 51: 791-825.
- Prins, C.L., Freitas, S.d.P., Gomes, M.d.M.d.A., Vieira, I.J.C. and Gravina, G.d.A. 2013. Citral accumulation in *Cymbopogon citratus* plant as influenced by N6-benzylaminopurine and light intensity. Theoretical and Experimental Plant Physiology, 25: 159-165.
- Shahverdi, M.A., Omid, H. and Damalas, C.A. 2020. Foliar fertilization with micronutrients improves *Stevia rebaudiana* tolerance to salinity stress by improving root characteristics. Brazilian Journal of Botany, 43: 55-65.
- Shahverdi, M.A., Omid, H. and Tabatabaei, S.J. 2019. *Stevia (Stevia rebaudiana* Bertoni) responses to NaCl stress: Growth, photosynthetic pigments, diterpene glycosides and ion content in root and shoot. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 18: 355-360.
- Tesfaye, H., Meskelu, E. and Mohammed, M. 2017. Determination of optimal soil moisture depletion level for Lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.). Irrigat Drainage Sys Eng, 6: 2-8.
- Tisarum, R., Theerawitaya, C., Samphumphuang, T., Polispitak, K., Thongpoem, P., Singh, H.P. and Cha-Um, S. 2020. Alleviation of salt stress in upland rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica cv. Leum Pua) using arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. Frontiers in Plant Science, 11: 348.
- Yang, R., Qin, Z., Wang, J., Zhang, X., Xu, S., Zhao, W. and Huang, Z. 2022. The interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and trichoderma longibrachiatum enhance maize growth and modulate root metabolome under increasing soil salinity. Microorganisms, 10: 1042.



A review on phylogeny of Damask Rose (*Rosa × damascena*)

Mehnoush Panahi¹ *

¹ Botany research division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, Email: panahi.mehnush@gmail.com

Article type:	Abstract
Review article	Damask rose (<i>Rosa × damascena</i>) is one of the most significant species of Rosaceae family scattered in mountain regions of Iran from west lands to central and eastern hills of the country. <i>R. × damascena</i> has considerable applications in pharmaceuticals and perfumeries and has been the subject of vast research. Extensive studies on genotypes of <i>R. × damascena</i> in Iran have shown considerable diversity in this species, and this could represent Iran as a potential hub for genetic diversification and improvement of its cultivars. The species seems to be the most important direct ancestor of North West cultivars in Europe in sect. <i>Rosa</i> , genus <i>Rosa</i> which is thought to be a hybrid with three parents of wild <i>Rosa</i> species, and <i>R. moschata</i> species is its Asian female parent. Based on the evidence from fossils of the genus <i>Rosa</i> , it has been suggested that Asia is the ancestral area for <i>Rosa</i> genus, and the <i>Synstylae</i> lineage in Europe is probably the oldest group that has expanded from Asia about 30 million years ago. The phylogeny of this difficult genus shows presentation of an evolutionary framework requires more in-depth studies.
Article history Received:16-03-2023 Revised: 29-04-2023 Accepted:30-04-2023	
Keywords Damask rose Hybrid Iran Phylogeny <i>Rosa</i>	

Cite this article as: Mehnoush P. (2023). A review on phylogeny of Damask Rose (*Rosa × damascena*). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 100-108.



©The author(s)
Doi: 10.30495/ejmp.2023.1982473.1724
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.7.8

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch



اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی

شاپا چاپی: ۲۳۲۳-۲۳۲۲
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷



نگاهی به تاریخچه و فیلوژنی گونه گل محمدی (*Rosa × damascena*)

مهرنوش پناهی^۱ *ID

۱ بخش تحقیقات گیاهشناسی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران،

رایانامه: panahi.mehnush@gmail.com

نوع مقاله:	چکیده
مقاله مروری	گونه گل محمدی (<i>Rosa × damascena</i>) از مهمترین گونه‌های تیره گل سرخیان (<i>Rosaceae</i>) در ایران است که در گستره کوهستانی ایران از پهنه‌های غربی کشور تا کوهپایه‌های مرکزی و شرقی تکثیر می‌یابد. این گونه به لحاظ کاربرد در صنایع دارویی و عطرسازی حائز اهمیت است. براساس مطالعات گسترده‌ای که بر روی ژنوتیپ‌های این گونه در ایران صورت گرفته تنوع قابل ملاحظه‌ای مشاهده شده است و ایران به عنوان مرکزی دارای پتانسیل در ایجاد تنوع ژنتیکی و اصلاح ارقام این گونه می‌تواند در نظر گرفته شود. به نظر می‌رسد این گونه می‌تواند مهمترین جد مستقیم وارپته های شمال غرب اروپایی بخشه <i>Rosa</i> در جنس <i>Rosa</i> بوده باشد که به صورت دورگی از سه گونه رز وحشی بوجود آمده و گونه <i>R. moschata</i> گونه والد مادری آسیایی آن است. طبق شواهد فسیل بدست آمده آسیا به عنوان ناحیه اجدادی برای جنس <i>Rosa</i> پیشنهاد می‌شود و بخش <i>Synstylae</i> از این جنس به عنوان قدیمی‌ترین گروه در حدود ۳۰ میلیون سال پیش به سمت اروپا گسترش یافته است. فیلوژنی این جنس مشکل، نشان می‌دهد که ارایه تحلیلی در چارچوب تکاملی نیازمند مطالعات بیشتر است.
واژه‌های کلیدی:	
ایران دورگ رز فیلوژنی گل محمدی	

استناد: پناهی، مهرنوش. (۱۴۰۲). نگاهی به تاریخچه و فیلوژنی گونه گل محمدی (*Rosa × damascena*). فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۱۰۸-۱۰۰.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.1982473.1724
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.7.8

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسنده‌گان.



مقدمه

ویسمن (Wissemann, 2003) جنس رز (*Rosa*) را از نظر تاکسونومیکی، به چهار زیرجنس (*Hulthemia*, *Rosa*, *Hesperhodos*, *Platyrhodon*) تقسیم نمود و زیرجنس اصلی *Rosa* با بیشترین تعداد گونه را به ۱۰ بخشه تقسیم نمود (Takeuchi et al., 2000). جنس رز یا نسترن (*Rosa*) در ایران ۱۴ گونه دارد که بعضی در کوهپایه‌های بلند و بخشی دیگر ویژه دشتهای و ناهمواری‌های استپی است (Khatamsaz, 1992). برخی به صورت زیتی کاشته می‌شوند و عده‌ای نیز به عنوان پایه پیوندهای گوناگون گل‌سرخ توسط انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند. طبق فلور ایران گونه‌های جنس *Rosa* در دو زیرجنس *Hulthemia* (Dumort.) Focke و *Pimpinellifoliae*, *Cinnamoneae*, (Khatamsaz, 1992). گونه گل محمدی (*Rosa × damascena*) (Mill. از مهمترین گونه‌های تیره گل سرخیان در ایران است که در گستره کوهستانی ایران به ویژه پهنه‌های غربی کشور، دامنه‌های جنوبی البرز، دامنه‌های زاگرس، کوهپایه‌های مرکزی و بخش بزرگی از استان‌های خراسان، فارس، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، سمنان، گلستان، یزد، کرمان و همچنین پهنه‌های میانی ایران از شرایط خوبی برای کاشت و تکثیر برخوردار است (Sabeti, 2002). این گونه به لحاظ کاربرد در صنایع دارویی و عطرسازی حائز اهمیت است (Nikbakht and Kafi, 2010). محصولات گل محمدی به صورت گلاب (آب گل)، اسانس خالص و روغن می‌باشد که مصارف متعدد خوراکی، آرایشی (عطرسازی) و درمانی در طب سنتی داشته و همواره ترکیبات جدید (شناسایی حدود ۴۰۰ ترکیب در اسانس گونه گل محمدی بر حسب اکوتیپ‌ها و واریته‌های آن) با خواص جدید در آن شناسایی می‌شود (Ritz et al., 2005, Toluei et al.,

جنس رز (*Rosa* L.) با بیش از ۲۰۰ گونه به استثنای یک گونه گرمسیری آفریقایی، عمدتاً در زیستگاه‌های معتدل و نیمه گرمسیری نیمکره شمالی پراکنده شده است که اکثر آنها از نظر اقتصادی مورد توجه می‌باشند. شناسایی گونه‌های آن به خاطر شباهت‌های ریخت شناسی زیاد و فرایند گسترده تشکیل دورگ و واریته‌هایی که در طی بیش از ۲۰۰۰ سال تشکیل شده‌اند، غالباً با مشکل مواجه می‌شود. همچنین آرایه بندی این جنس با دادن نام‌های جدید به واریته‌ها و ارقام مختلف، پیچیده‌تر هم شده است. طبق گزارشها، بالغ بر ۲۰ گونه از جنس رز برای پرورش واریته‌های جدید رز مورد استفاده قرار گرفته است (Guoliang, 2003, Martin et al., 2001). این دورگ‌گیری درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای و انتخاب‌های مصنوعی نه تنها ارقام فراوانی تولید کرده بلکه منجر به ترکیب ژنتیکی پیچیده در رزها شده است، لذا این افزایش تعداد واریته‌ها و کاهش اختلافات ریخت شناسی و ژنتیکی، مدیریت و تمایز واریته‌های رز بر پایه اختلافات فنوتیپی را مشکل می‌نماید. ویسمن (Wissemann, 2003) معتقد است سیستم زادآوری باز و پیچیده این جنس، به همراه ناباروری بسیاری از گونه‌ها، شبکه تکاملی آنرا پیچیده‌تر نموده است، به خصوص که تنوع انفجاری طبق فسیل‌های بدست آمده در هولوسن از دوره کواترنری مشاهده می‌شود و به لحاظ شباهت نزدیک حالات صفتی و به دلیل نبود زمان کافی برای تکوین مسیرهای تکاملی، این تنوع و ناباروری در گونه‌ها ظهور پیدا کرده است. همچنین تمایز و جدایی جغرافیایی و اکولوژیکی در این جنس با فرایند تشکیل هیبرید منجر به جدایی ژنتیکی چندانی نشده است (Koopman et al., 2008, Zhu et al., 2015).

برگهای متناوب شانه‌ای فرد، و گلهای صورتی‌رنگ نیمه پرپر و معطر با خارهای ریز زیاد فشرده، پهن و قلابی شکل می‌باشد. برگهای سبز براق آن دارای ۵-۷ برگچه تخم‌مرغی نیزه‌ای و با دندان‌کند و کمانی است. گل‌آذین آن دیهیم و دارای گلهای مجتمع یا منفرد، کاسبرگ و گلبرگ ۵ تایی ولی تعداد پرچم و برچه‌ها زیاد که معمولا کمتر بارور می‌شوند. دارای میوه واژ تخم‌مرغی کشیده با انتهای قطور است که پس از رسیدن به رنگ سرخ در می‌آید (Khatamsaz, 1992). این گونه به صورت تتراپلوئید (n=7) گزارش شده است (Wu et al., 2000). به لحاظ تعداد زیاد صفات مورفولوژیک و عدم تمایز در بسیاری از صفات، تخمین تنوع ژنتیکی در گونه گل محمدی بر پایه این صفات ریختی بسیار مشکل و وقت‌گیر است. از این رو روشهای سریعتر همچون استفاده از مارکرهای ژنتیکی با کمک تکنیک‌های RAPD و AFLP برای تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های این گونه تاکنون مورد استفاده قرار گرفته است (Pal, 2013, Agaoglu et al., 2000, Baydar et al., 2004). این مطالعات نشان می‌دهد که وجود ژنوتیپ‌های چندگانه درون گونه *R. × damascena* در جمعیت‌های ایران می‌تواند نشان‌دهنده مرکز احتمالی تنوع برای این گونه در ایران باشد. پژوهش‌های صورت گرفته بر روی تنوع و بررسی تنوع ژرم پلاسم گل محمدی در ایران نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی میان توده‌های درون هر استان بیش از تنوع بین استانهای مختلف کشور می‌باشد لذا ایران می‌تواند مرکز تنوع ژنتیکی گل محمدی، و دارای توان بالقوه برای اصلاح ارقام آن باشد (Davazdah-Emami, et al., 2020, Babaei et al., 2008, Kiani et al., 2008, Pirseyedi et al., 2005, Tabaei-Aghdaei et al., 2007, Toluei et al., 2019).

در مطالعه ژنتیکی توسط نشانگرهای مولکولی (ریزمه‌واره‌ها) بر روی جمعیت‌های مناطق مختلف

(2019, Yousefi and Jaimand, 2018) درصد ترکیبات اصلی از فاکتورهای مهم در تعیین کیفیت اسانس رز (گل محمدی) است که گزارش‌های زیادی در این زمینه وجود دارد (Ritz et al., 2005, Nikbakht and Kafi, 2010, Shahbazi et al., 2022). کشت صنعتی و مدرن واریته‌های گل محمدی نشان از یک استخر ژنی محدود و انحصاری دارد که تنوع اسانس در واریته‌های این گونه و از نظر ژنتیکی مشخص را به نمایش می‌گذارد (Rusanov et al., 2005, Yousefi and Jaimand, 2018).

جایگاه و منشأ گل محمدی: بنا بر نظر ماندنوا (Mandenova, 1970) پیدایش گونه گل محمدی (*R. × damascena*) در دوران نوسنگی از جنوب آناتولی صورت گرفته است و گونه‌های *R. gallica* L. و *R. phoenicia* Boiss. که هر دو به طور وحشی در آناتولی رشد می‌کرده‌اند، به عنوان مولد در تشکیل این هیبرید دخالت داشته‌اند. گرچه ایران هم به عنوان مرکزی برای حضور اولیه گونه مطرح می‌شود (Chevallier, 1996) ولی این گونه به طور وحشی در قفقاز، سوریه و مراکش و اندلس نیز رویش داشته است (Staikov and Kalajiev, 1980). این گونه کاشته شده، سپس توسط یک تاجر بلغاری به اروپا معرفی شد و در طول تاریخ در اثر جدایی جغرافیایی از افراد با منشأ اولیه، واریته‌های اروپایی را پدید آورد. اکنون در جنوب فرانسه، جنوب ایتالیا، مراکش، لیبی، ترکیه، اوکراین، کریمه، قفقاز، سوریه، هند، چین، و کره‌شمالی پراکنش دارد (Buttner, 2001). این گونه تنها در برخی مناطق همچون ترکیه، بلغارستان، ایران و هند به منظور تهیه روغن و گلاب کاشته می‌شود (Rusanov et al., 2005).

گل محمدی از رزهای قدیمی محسوب می‌شود. این گیاه به صورت درختچه‌ای خزان‌کننده یا نیمه سبز با ساقه‌ای افراشته دارای خار یا بدون آن با

گل محمدی هیبرید سه والد *R. gallica*، *R. moschata* و *R. fedtschenkoana* Regel. می باشد و منشا احتمالی آن آسیای مرکزی شناخته شده است (Iwata et al., 2000). طبق بررسی های صورت گرفته گونه *R. fedtschenkoana* متعلق به بخش *Cinnamomeae* می باشد و گونه های *R. gallica* و *R. moschata* (از غرب آسیا) در بخش *Synstylae* قرار می گیرند (Wissemann and Ritz, 2005). طبق داده های مولکولی ویسمن (Wissemann, 2003)، موقعیت گونه *R. gallica* نامشخص است و رابطه نزدیک آن به شاخه *Caninae* بر پایه داده های کلروپلاستی و صفات ریخت شناسی (کاسبرگ های لوبدار و حضور غده های غیرمعطر) تایید می شود، همچنین وجود یک خویشاوند نزدیک منقرض شده یا نامشخص با این شاخه مطرح شده است. با این حال موقعیت تاکسونومیک گونه گل محمدی *R. × damascena* در بخشه *Gallicanae* (DC.) Ser از زیرجنس *Rosa* مشخص گردیده است (Liu et al., 2015).

نتایج آنالیز فنتیکی کوپ من و همکاران (Koopman et al., 2008)، بر روی گونه های جنس *Rosa* نشان داد که گونه های هیبرید از گونه های وحشی *Rosa* مجزا شده اند و در حقیقت نشان از تمایز خزانه ژنی گونه های هیبرید از گونه های وحشی طی زمان تکامل آنها دارد. از جمله گونه های *R. damascena* (نمونه ای از اصفهان) و *R. gallica* با هیبریدهای دیگر این جنس از بخشه *Rosa* هم گروه شده اند که عمدتاً منشا ژنتیکی اروپایی دارند. بنابراین او پیشنهاد داد که *R. × damascena* مهم ترین جد مستقیم واریته های شمال غرب اروپایی گروه *Rosa* است در صورتیکه گونه *R. gallica* یک گونه اجدادی کمی دورتر محسوب می شود. در مطالعات فیلوژنتیک صورت گرفته توسط لیو و همکاران (Liu et al.,

جهان از بلغارستان، هند، ایران و واریته های قدیمی اروپایی، پروفایل ژنتیکی مشخصی مشاهده شد که حاکی از یک مرکز پیدایش اولیه مشترک بوده و این گونه از آنجا به سایر نقاط دنیا برده شده است (Rusanov et al., 2005). بابایی و همکاران (Babaei et al., 2008) منشاء اولیه گل محمدی را ایران و کوهپایه های مناطق مرکزی کشور عنوان نمودند ولی مستندات علمی برای آن مطرح نشده است. طبق نتایج کوپ من (Koopman, 2008) گونه *R. persica* Michx. ex J. F. Gmel. (ورک از زیرجنس *Hulthemia*) از گونه های انشقاقی اولیه در جنس *Rosa* است که در قاعده درخت تباری این جنس قرار می گیرد و این امر می تواند تاییدی بر خواستگاه اولیه این جنس در کوهپایه های ایران باشد که البته نیازمند مطالعه دقیق تر است. هرچند آنالیزهای فیلوژنتیک احمد (Ahmed, 2019) بر روی واریته های کاشته شده گونه گل محمدی و سایر هیبریدهای جنس *Rosa* در عربستان سعودی، مشخص نمود که منشا واریته های جنس *Rosa* در منطقه طائف ناهمگون است.

در بعضی از منابع، گونه گل محمدی دورگ حاصل از دو گونه *R. gallica × R. moschata* و تلاقی آن با رز ایرانی (*R. phoenicia*) عنوان شده است (Ryoichi, 2006). در فلور فارسی ایران گونه *R. moschata* J. Hermann تحت نام نسترن شیراز معرفی شده که در نقاط مختلف ایران به خصوص فارس کاشته می شود و جهت تهیه عرق گل سرخ از آن استفاده می شود. در این کتاب، گل محمدی به صورت هیبرید گل سرخ *R. × damascena* مشخص شده ولی ذکری از منشا آن نشده است (Khatamsaz, 1992). در پژوهشی که با کمک نشانگرهای ملکولی ناحیه بین ژنی رونویسی شده داخلی هسته (Internal Transcribed Spacer rDNA) بر روی جنس *Rosa* صورت گرفته، پیشنهاد شده است که

گونه *R. gallica* و سایر گونه‌ها منشأ گرفته‌اند (Takeuchi et al., 2000). به‌طور کلی در جنس رز، دوره‌ها با پلوپلوئیدی همراه می‌شوند و این امر به تثبیت هیبریدها بین گونه‌های دور خویشاوند این جنس کمک کرده و هیبریدهای طبیعی را شکل داده است (Raymond and Gouzy, 2018). اخیراً تلاش برای ایجاد گونه رز با ژنوتیپ هموزیگوت از گونه والدی هتروزیگوت دیپلوئید، صورت گرفته است تا بتوان مکانیسم‌های حاکم بر صفات رزها و به ارث رسیدن آنها را مشخص نمود و وارثه‌های جدید رز با خواص معطری و تزئینی بیشتر دارای ارزش اقتصادی تولید نمود (Raisi Nafchi et al., 2012).

طبق آخرین تحقیقات انجام شده بر روی ژنوم کلروپلاست گونه‌ای از جنس رز، توالی‌های غیرکدکننده در نواحی IR (Inverted Repeat) کلروپلاست این گروه، نسبت به سایر نواحی در ژنوم کلروپلاستی تیره‌های Asteraceae و Lamiaceae بیشتر حفاظت شده‌اند. بنابراین تنوع ژنتیکی در جنس رز، بیشتر از نواحی LSC (Large single copy) و SSC (Small single copy) کلروپلاست نسبت به نواحی IR کلروپلاست منشأ گرفته است (Li et al., 2020, Yokoya et al., 2000, Bruneu et al., 2007). این نتایج نشان می‌دهد که کاهش و یا افزایش در اندازه طول ناحیه IR کلروپلاست در میان گونه‌های تیره گل‌سرخ بیشتر مشاهده می‌شود که منجر به ایجاد ژنهای کاذب (pseudogene) در گونه‌های این تیره می‌شود (به‌طور مثال جای‌گیری ژن‌های *rps19* و *ycf1* در ناحیه IR و یا بین نواحی IR و LSC کلروپلاست صورت می‌گیرد). لذا این نواحی با تنوع بالا در ژنوم کلروپلاست رزها، می‌تواند به عنوان مارکرهای قوی (همانند cpSSR مارکرها) در شناسایی وارثه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. آنالیز اخیر ژنوم کلروپلاستی و تنوع ژنی در جنس *Rosa* نشان

گونه گل محمدی را درون شاخه *Synstylae-Chinenses* همراه با اعضای این دو بخش قرار دادند و نزدیکترین گونه به آن گونه‌ی چینی *R. weisiensis* T. T. Yu & T. C. Ku از بخش *Synstylae* عنوان شد که همراه با گونه‌های *R. odorata* (Andrews) Sweet و *R. helenae* در یک زیرشاخه قرار می‌گرفتند. این نتایج نشان داد که بخش *Gallicanae* بیشتر نزدیک به اعضای بخش *Synstylae* است همانگونه که قبلاً این بخش با نیایی متعلق به شرق معرفی شده بود (Koopman et al., 2008). نتایج زو و همکاران (Zhu et al., 2015) نیز تایید نمود که اعضای *Synstylae* به اعضای بخش *Caninae* و *Gallicanae* نزدیک‌ترند و پدیده هیبریدسازی و درونگرایی ژنتیکی، افزایش هیبریدهای درون گونه‌ای و بین گونه‌ای را در جنس رز منجر شده است.

چنین به نظر می‌رسد که گونه *R. × damascena* هیبریدی از سه گونه والدی معرفی شده توسط ایواتا (Iwata et al., 2000) می‌باشد و گونه *R. moschata* از بخش *Synstylae*، والد مادری آن محسوب می‌شود (Iwata et al., 2000, Liu et al., 2015, Millan et al., 1996) و در حقیقت یک هیبرید با منشأ آسیایی می‌باشد. این نتایج با مطالعات تاکوچی (Takeuchi et al., 2000) تایید گردید بطوری که گونه‌های *R. odorata* var. *gigantea* و *R. moschata* در یک گروه قرار گرفتند و رابطه خویشاوندی نزدیکی نشان دادند. گونه‌های این بخش (*Gallicanae*) برای چندین قرن، دارای موقعیت برجسته‌ای از نظر باغبانی در اروپا بوده‌اند و با اعضای بخش *Indicae* الحاق و هیبرید تشکیل داده‌اند که امروزه گونه‌های بخش *Indicae* در بخش *Synstylae* ادغام شده‌اند (Wissemann and Ritz, 2005). اکثر گونه‌هایی که در بخش *Gallicanae* قرار دارند احتمالاً به صورت موتاسیون و هیبریدهای طبیعی از

پلیوسن بین آسیا و غرب آمریکای شمالی ادامه داشته و احتمالاً در طول ائوسن (Eocene) در این نواحی تکامل یافته است. این پدیده با پیدایش قدیمی‌ترین فسیل این جنس از آیداهو و چین و همچنین وجود فسیل آن در آلاسکا از پالئو-ائوسن حمایت می‌شود (Fougère-Danezan et al., 2015). در آن زمان اقلیم آن مناطق به صورت معتدله تا معتدله گرم بوده که با اقلیم امروزی رویش گونه‌های رز هماهنگی دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

رده بندی‌های مقطعی ارایه شده برای این جنس تاکنون، نشان می‌دهد که هنوز وضعیت فیلوژنتیکی تعدادی از گونه‌ها نامشخص و چندنیایی است که نیازمند مطالعات و تحلیلی در چارچوب تکاملی در آینده می‌باشد. همچنین مطالعات دقیق بر روی نیای گونه‌های این جنس در ایران ضروری به نظر می‌رسد. طبق آنچه که توسط ایواتا و همکاران (Iwata et al., 2000) پیشنهاد شده است گونه گل محمدی حاصل هیبرید سه والد *R. moschata*, *R. gallica* و *R. fedtschenkoana* بوده که منشأ احتمالی آن آسیای مرکزی شناخته شده است. به لحاظ فرایند خود تکاملی و تکامل مشبک و پیچیده در جنس رز، تعیین قرابت گونه‌های هیبرید بسیار مشکل به نظر می‌رسد، به خصوص که بسیاری از هیبریدهای این جنس در طول زمان به صورت گونه‌های مستقل متمایز شده‌اند. امید است با بکارگیری تکنیک‌های مولکولی پیشرفته امروزی بر پایه ژنوم کلروپلاستی (Zhang et al., 2022) بتوان قرابت گونه‌ها و به خصوص منشأ گونه‌های هیبرید را در آینده مشخص نمود.

داد که برخلاف برخی گونه‌های آن که تنوع نوکلئوتیدی و فاصله ژنتیکی بالایی نشان می‌دهند، گونه‌هایی همچون *R. canina* و *R. gallica* کمترین فاصله ژنتیکی و پایین‌ترین تنوع نوکلئوتیدی در بین آنها وجود دارد و در حقیقت می‌توان گفت که زیرجنس‌ها و یا بخش‌های جنس *Rosa* یک دودمان خود تکامل یافته دارند (Zhang et al., 2022).

پیدایش جنس رز (*Rosa*): به منظور تعیین نواحی گونه‌های اجدادی جنس *Rosa*، فسیل‌های اجدادی آن از چین و آمریکا بررسی گردید و آسیا به عنوان ناحیه اجدادی پیشنهاد شد و کلاد *Synstylae* و خویشاوندانش به عنوان قدیمی‌ترین گروه مشخص گردید (Fougère-Danezan et al., 2015). اعضای کلاد *Synstylae* و خویشاوندانش عمدتاً در اروپا و آسیا حضور دارند و منبع اجدادی برای اروپا تک نیایی است در حالی که برای گونه‌های آسیایی چندنیایی می‌باشد. اطلاعات بر پایه فسیل‌های بدست آمده نشان داد که علی‌رغم حضور اولیه گونه‌های جنس *Rosa* در آمریکا، اکثر گونه‌های کنونی در آمریکا در نتیجه مهاجرت مجدد گونه‌های آسیایی از طریق پل برینگ بوجود آمده‌اند و این مهاجرت به آمریکا حداقل دو بار در این جنس دنیای قدیم، به وقوع پیوسته است (Bruneau et al., 2007). پراکندگی گونه‌های رز از دودمان *Synstylae* در اروپا، احتمالاً نتیجه مهاجرت از آسیا به اروپا در حدود ۳۰ میلیون سال قبل (Mya) بوده است، سپس بخشی از اجدادشان به شرق آمریکای شمالی در حدود ۱۷,۴ میلیون سال پیش رسیدند که والد گونه‌های آن ناحیه می‌باشند. تبادل گونه‌ای در این جنس بین آسیا و اروپا از ۱۳ میلیون سال قبل وجود داشته و حتی تا اوایل

References

- Agaoglu, Y., Ergul, A. and Baydar, N. (2000). Molecular analysis of genetic diversity of oil rose (*Rosa damascena* Mill.) grown in Isparta (Turkey) region. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 14(2): 16-18.

- Ahmed, S.M. (2019). Phylogenetic analysis of *Rosa damascena* L. from Taif using DNA barcoding approach. *Pakistan Journal of Botany*, 51(1): 157-164.
- Babaei, A., Tabaei-Aghdaei, S.R., Naghavi, M.R., Khoshkholi, M., Omidbeigi, R. and Asareh, M.H. (2008). Features of Damasc rose and its inheritance in Iran. *Kerman Medicine*, 1(14): 75-80.
- Baydar, N., Baydar, H. and Debener, T. (2004). Analysis of genetic relationships among *Rosa damascena* plants grown in Turkey by using AFLP and microsatellite markers. *Journal of Biotechnology*, 111: 263-267.
- Bruneau, A., Starr, J.R. and Joly, S. (2007). Phylogenetic relationships in the genus *Rosa*: New evidence from chloroplast DNA sequences and an appraisal of current knowledge. *Systematic Botany*, 32(2): 366-378.
- Buttner, R. (2001). *Rosa*. In: Mansfield's encyclopedia of agricultural and horticultural crops, pp. 439-445. ed. Hanelt, P., Institute of Plant Genetics and Crop Plant Researches.
- Chevallier, A. (1996). The encyclopedia of medicinal plants. Dorling Kindersely. London. UK.
- Davazdah-Emami, S., Akhavan-Rofigar, A. and Ehtemam, M.H. (2020). Assessment of morphological and micro-morphological features using SEM in several native communities of Damasc rose of Iran. *Journal of Plant Research*. (In press)
- Fougère-Danezan, M., Joly, S., Bruneau, A., Gao, X.F. and Zhang, L.B. (2015). Phylogeny and biogeography of wild roses with specific attention to polyploids. *Annals of Botany*, 115: 275-291.
- Guoliang, W. (2003). History of roses in cultivation. Ancient Chinese Roses. *Encyclopedia of Rose Science*, 387-395. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227620-5/00045-8>.
- Khatamsaz, M. (1992). Rosaceae, In: Flora of Iran, V. 6. Pp. 35-70. Research institute of forests and rangelands. Tehran.
- Kiani, M., Zamani, Z., Khalighi, A., Fatahi, R. and Byrne, D.H. (2008). Wide genetic diversity of *Rosa damascena* Mill. germplasm in Iran as revealed by RAPD analysis. *Scientia Horticulturae*, 115: 386-392.
- Koopman, W.J.M., Wissemann, V., De Cuck, K., et al. (2008). AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: A case study in *Rosa* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, 95(3): 353-366.
- Iwata, H., Kato, T. and Ohno, S. (2000). Triparental origin of Damask roses. *Gene*, 259 (1-2): 53-59.
- Li, C., Zheng, Y. and Huang, P. (2020). Molecular markers from the chloroplast genome of rose provide a complementary tool for variety discrimination and profiling. *Scientific Reports*, 10, 12188. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68092-1>
- Liu, C., Wang, G., Wang, H., Xia, T., Zhang, S., Wang, Q. and Fang, Y. (2015). Phylogenetic relationships in the genus *Rosa* revisited based on *rpl16*, *trnL-F*, and *atpB-rbcL* sequences. *HortScience*, 50(11): 1618-1624.
- Mandenova, I.A. (1970). A revision of *Rosa* in Turkey. *Notes R. P. G. Edinburgh*. 30: 327-340.
- Martin, M., Piola, F., Chessel, D., Jay, M. and Heizmann, P. (2001). The domestication process of the modern rose: genetic structure and allelic composition of the rose complex. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 398-404.
- Millan, T., Osuna, F., Cobos, S., Torres, A.M. and Cubero, J.I. (1996). Using RAPDs to study phylogenetic relationships in *Rosa*. *Theoretical and Applied Genetics*, 92: 273 - 277.
- Nikbakht, A. and Kafi, M. (2010). Damask rose in Iran. *Jahad university unit of Isfahan, Isfahan*, Pp: 161.
- Pal, P.K. (2013). Evaluation, Genetic Diversity, recent development of distillation method, challenges and opportunities of *Rosa damascena*: A review. *Journal of Essential oil Bearing Plants*, 16 (1): 1-10.
- Pirseyedi, S.M., Mardi, M., Davazdahemami, S., Kermani, M.J. and Mohammadi, S.A. (2005). Analysis of the genetic diversity 12 Iranian Damasc rose (*Rosa damascena* Mill.) genotypes using amplified fragment length polymorphism markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 3(4): 225-230.

- Raisi Nafchi, M.R., Talebi, M. and Zeinali, H. (2012). Molecular analysis in *Rosa damascena* based on geographic origin. The 3th National Symposium of Agricultural Biotechnology of Iran. Mashhad. Iran. <https://civilica.com/doc/204444>
- Raymond O., Gouzy, J., et al. (2018). The *Rose* genome provides new insights into the domestication of modern roses. *Nature Genetics*, 50(6): 772-777. doi:10.1038/s41588-018-0110-3
- Ritz, C.M., Schmuths, H. and Wissemann, V. (2005). Evolution by reticulation: European dogroses originated by multiple hybridization across the genus *Rosa*. *Journal of Heredity*, 96(1): 4-14.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Vosman, B., Zhang, L., Rajapakse, S., Atanassov, A. and Atanassov, I. (2005). Microsatellite analysis of *Rosa damascena* Mill. accessions reveal genetic similarity between genotypes used for rose oil production and old Damask rose varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 804-809.
- Ryoichi, K. (2006). New component of *Rose* oil and its property. *Koryo*, 229: 103-111.
- Sabeti, H. (2002). *Forests, trees, and Shrubs of Iran*. Yazd University, Yazd. Pp: 640-641.
- Shahbazi, Kh., Shahbazi, K., Yousefi, B. and Safari, H. (2022). Evaluation of chemical compounds of essential oil in Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) accessions. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 1: 45-55.
- Staikov, V. and Kalajiev, I. (1980). Study of oil roses (*Rosa damascena* Mill.) originated from India, Morocco, Iran and Bulgaria (in Bulgarian). *Plant Science*, XVII (4): 58-68.
- Tabaei-Aghdaei, S.R., Babaei, A., Khosh-Khui, M., Jaimand, K., Rezaee, M.B., Assareh, M.H. and Naghavi, M.R. (2007). Morphological and oil content variations amongst Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) landraces from different regions of Iran. *Scientia Horticulturae*, 113: 44-48.
- Takeuchi, S., Nomura, K., Uchiyama, H. and Yoneda, K. (2000). Phylogenetic relationship in the genus *Rosa* based on the restriction enzyme analysis of the chloroplast DNA. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 69(5): 598-604.
- Toluei, Z., Hosseini Tafreshi, S.A. and Arefi Torkabadi, M. (2019). Comparative chemical composition analysis of essential oils in different populations of Damask rose from Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(2): 423-437.
- Wissemann, V. (2003). Conventional taxonomy of wild roses. In: *Encyclopedia of rose science* Roberts, pp. 111-117. eds. A., Debener, T. and Gudin, S. Elsevier, London, UK.
- Wissemann, V. and Ritz, C.M. (2005). The genus *Rosa* (Rosoideae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and *atpB-rbcL* intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147: 275-290.
- Wu, S., Ueda, Y., He, H., Nishihara, S. and Matsumoto, S. (2000). Phylogenetic analysis of Japanese *Rosa* species using *matK* sequences. *Breeding Science*, 50: 275-281.
- Yokoya, K., Roberts, A.V., Mottley, J., Lewis, R. and Brandham, P.E. (2000). Nuclear DNA amounts in roses. *Annals of Botany*, 85: 557- 561.
- Yousefi, B. and Jaimand, K. (2018). Chemical variation in the essential oil of Iranian *Rosa damascena* landraces under semi-arid and cool conditions. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 5(1): 81-92.
- Zhang, C., Li, S.Q., Xie, H.H., Liu, J.Q. and Gao, X.F. (2022). Comparative plastid genome analyses of *Rosa*: insights into the phylogeny and gene divergence. *Tree Genetics & Genomes*, 18, 20.
- Zhu, Z.M., Gao, X.F. and Fougère-Danezan, M. (2015). Phylogeny of *Rosa* sections *Chinenses* and *Synstylae* (Rosaceae) based on chloroplast and nuclear markers. *Molecular phylogenetics and Evolution*, 87: 50-64.

Investigating the effect of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles on physiological and phytochemical variations of *Rosa damascena*. Mill. essential oil

Zahra Allahverdi¹, Mehrab Yadegari^{2*} , Mohammad Moghaddam^{1,3}

¹ Department of Agronomy and Medicinal Plants, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Medicinal, Spicy and Aromatic Plants Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran,
Email: mehrabyadegari@gmail.com

³ Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Article type:

Research article

Abstract

Rosa damascena Mill. belongs to Rosaceae family and is considered as one of the most important medicinal and industrial plant. In the present study, the effects of foliar application of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles were investigated on physiological and phytochemical traits of *Rosa damascena* Mill. in two separate experiments based on a randomized complete block design with 3 replications in Farsan during two growing seasons (2019 and 2020). Foliar application of methyl jasmonate (0, 0.5, 1, and 2 mM) and titanium dioxide nanoparticles (0, 100, 200, and 300 mg L⁻¹) was performed three times with 4-day intervals before the flowering stage. Essential oil extraction was done by steam distillation (a clevenger apparatus), phytochemical evaluation was performed using spectrophotometric method, and antioxidant performance was evaluated through DPPH test. Results showed that foliar application of elicitors increased dry weight of leaves and photosynthetic pigments. The phenolic compounds of leaves and petals of *R. damascena* Mill. also increased in response to applied elicitors and the highest increment was observed in plants treated with 1 mM methyl jasmonate and 100 mg L⁻¹ titanium dioxide nanoparticles. Also the results showed the positive effect of applied treatments on increasing macro (N, P, K and Mg) and micro elements (Fe, Mn, and Zn) in leaves of damask rose. Methyl jasmonate (0.5-1 mM) increased the essential oil content of the treated plants by 34.32%. According to the obtained results, methyl jasmonate applied at concentration of 1 mM is suggested to improve the physiological and phytochemical characteristics of the *R. damascena* plants.

Article history

Received: 15-09-2022

Revised: 07-12-2022

Accepted: 08-12-2022

Keywords

Essential oil

Nanoparticles

Mineral nutrient

Methyl jasmonate

Phenolic components

Rosa damascena Mill.

Titanium dioxide

Cite this article as: Allahverdi, Z., Yadegari, M., Moghaddam, M. (2023). A review on phylogeny Investigating the Effect of Methyl Jasmonate and Titanium Dioxide Nanoparticles on Physiological and Phytochemical Variations of *Rosa damascena*. Mill. Essential oil. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 109-129.



©The author(s)


Doi: 10.30495/ejmp.2023.702419

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.8.9



بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Rosa damascena* Mill.

زهرا الهوردی مارکده^۱، مهرباب یادگاری^{۲*} , محمد مقدم^۳

۱ گروه زراعت و گیاهان دارویی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی ادویه‌ای و عطری، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: mehrabyadegari@gmail.com
۳ گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	گل محمدی (<i>Rosa damascena</i> Mill.) گیاهی درختچه‌ای، متعلق به تیره گل‌سرخیان است که مصارف متعددی در صنایع غذایی و دارویی دارد. پژوهش حاضر جهت بررسی اثر محلول‌پاشی محرک‌های متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی گل محمدی در دو سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در قالب دو آزمایش مستقل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شهرستان فارس انجام شد. محلول‌پاشی با سطوح متیل جاسمونات (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) هر چهار روز یک بار قبل از باز شدن غنچه‌ها در سه نوبت صورت گرفت. اسانس گیری به روش تقطیر با بخار آب (طرح کلونجر) و ارزیابی فیتوشیمیایی گیاه با استفاده از روشهای اسپکتروفوتومتری و عملکرد آنتی‌اکسیدانی از طریق آزمون DPPH ارزیابی گردید. براساس نتایج حاصل محلول‌پاشی با محرک‌های رشد، موجب افزایش معنی‌دار عملکرد گلبرگ خشک در واحد سطح و رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید. مقادیر ترکیبات فنلی در برگ و گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در واکنش به تیمار محرک‌های رشد، افزایش معنی‌داری داشتند و بیشترین افزایش این ترکیبات در گیاهان محلول‌پاشی شده با متیل جاسمونات (۱ میلی‌مولار) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بوجود آمد. بررسی غلظت عناصر پرمصرف (نیتروژن، پتاسیم، فسفر، منیزیم) و کم‌مصرف (آهن، منگنز، روی) در برگ گیاه گل محمدی اثر معنی‌دار محرک‌ها بر بهبود مقدار عناصر غذایی را نشان داد. متیل جاسمونات (۱ میلی‌مولار) با افزایش ۳۴/۳۲ درصدی، مقدار اسانس را از ۰/۰۳۷ به ۰/۰۵ درصد افزایش داد. با توجه به نتایج دو ساله تحقیق حاضر، محلول‌پاشی متیل جاسمونات با غلظت ۱ میلی‌مولار جهت بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه گل محمدی در مناطق مشابه پیشنهاد می‌گردد.
واژه‌های کلیدی:	
اسانس	
ترکیبات فنلی	
عناصر غذایی	
متیل جاسمونات	
گل محمدی	
نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم	

استناد: الهوردی مارکده، زهرا؛ یادگاری، مهرباب؛ مقدم، محمد. (۱۴۰۲). بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Rosa damascena* Mill. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۱)، ۱۰۹-۱۲۹.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.702419
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.8.9

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسنده‌گان.



and Yadegari, 2018). یکی از مؤثرترین روش‌ها برای بهبود تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده از محرک‌های رشد است. در طی دهه‌های اخیر، از برخی محرک‌های رشد به صورت گسترده برای بهبود و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی استفاده شده است (Ho et al., 2020). این ترکیبات با تغییر در رشد، نمو و رفتار فیزیولوژیکی گیاه، نقش مهمی در بهینه‌سازی بازدهی گیاه دارند. محرک‌های رشد در گیاه به مقدار کمی وجود دارند، اما برای رشد و نمو گیاه ضروری هستند. هنگامی که گیاهان در معرض محرک‌های طبیعی یا مصنوعی رشد مانند جاسمونات‌ها قرار می‌گیرند، رفتار رشد و نمو گیاه تغییر می‌کند (Mohamed and Latif, 2017). ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاهان دارویی و معطر از جمله مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی، متأثر از عوامل ژنتیکی، تغییرات محیطی و مدیریتی و اثرات متقابل آن‌هاست. این تغییرات منجر به فعال‌سازی محرک‌های رشدی در گیاه گردیده و در اثر آن، پیام‌های شیمیایی ارسال می‌شوند که سبب پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین‌ها می‌شود (Thakur and Kumar, 2020). یکی از رهیافت‌های نوین در بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی استفاده از محرک‌های رشد است. کاربرد محرک‌های رشدی به میزان محدود و در غلظت‌های پایین، ساخت ترکیبات خاصی را در سلول زنده، تحریک یا بهبود بخشیده و زمان دستیابی به مقادیر بالای متابولیت‌های ثانویه را کاهش می‌دهد (Zlotek et al., 2016). محرک‌های رشدی، ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیرزیستی، هستند که از طریق القای سیستم دفاعی، باعث بیوستنز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و همچنین تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی، در گیاهان می‌شوند چنانچه اثر متقابل

گیاهان متعلق به خانواده گل‌سرخیان به عنوان ماده خام به طور گسترده در سراسر دنیا در صنایع عطرسازی و محصولات آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این خانواده، جنس *Rosa* شامل بیش از ۲۰۰ گونه اقتصادی دارویی و زینتی با ارزش است و از بین آن‌ها، گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) مهم‌ترین گیاه حاوی اسانس است که خاستگاه و رویشگاه اولیه آن ایران و مناطق خاورمیانه می‌باشد. میوه گل محمدی شامل فندقه‌های متعددی است که توسط تخمدان گوشتی احاطه شده است (Khaleghi, Rusanov et al., 2020; and Khadivi, 2020). استفاده از اسانس گلبرگ‌های گل محمدی نه تنها به عنوان عطر، بلکه برای درمان و پیشگیری از بیماری‌های متعدد در طب سنتی سال‌های طولانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Dossi et al., 2017., González-Mañán et al., 2017., Mohebitabar et al., 2017). اسانس گل محمدی به علت داشتن ترکیبات متعدد فنلی، دارای خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بوده و به اشکال مختلف خوراکی، استنشاقی و موضعی در آروماتراپی، درمان بیماری‌های پوستی، جهش‌های کروموزومی و سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Labban and Thallaj, 2020; Jiang et al., 2017). به دلیل مقدار کم اسانس در گلبرگ‌های گل محمدی و فقدان جایگزین‌های طبیعی، اسانس این گیاه یکی از گران‌ترین اسانس‌ها در بازارهای جهانی است (González-Mañán et al., 2017).

در بیشتر گیاهان چند ساله مانند گل محمدی، با افزایش سن، رشد و نمو گیاه کاهش می‌یابد؛ بنابراین تولید کم گل و کاهش عملکرد اسانس با گذشت زمان، مشکل اصلی کشاورزان و تولیدکنندگان این گیاهان است (Thakur and Kumar, 2020; Seify

محللول پاشی مؤثرتر از اضافه کردن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در خاک است. تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با افزایش فتوسنتز، تولید ترکیبات پرورده گیاه را افزایش داده و با تقویت رشد ریشه، جذب آب و عناصر غذایی توسط ریشه‌ها را افزایش می‌دهد و از این طریق بیوماس گیاه بهبود می‌یابد (Alharby et al., 2021). علاوه بر این نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با تأثیر بر متابولیسم اولیه گیاه، تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ahmad et al., 2018).

با توجه به بررسی منابع، تاکنون تحقیق جامعی راجع به اثرگذاری محللول پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر خواص کمی و کیفی گیاه دارویی گل محمدی، انجام نشده است و از آنجایی که استخراج متابولیت‌های ثانویه گیاه گل محمدی در جهان مورد توجه و رقابت قرار دارد و همواره کیفیت آن مدنظر بوده است، پژوهش حاضر در راستای مطالعه اثر محللول پاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت‌های متفاوت در گلستان گل محمدی در شرایط آب و هوایی شهرستان فارسان به منظور دستیابی به بیشترین مقادیر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی و در نهایت اسانس با کیفیت بالاتر، انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلستان گل محمدی واقع در شهر چلیچه از توابع شهرستان فارسان در ۳۵ کیلومتری شهرکرد مرکز استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. خصوصیات جغرافیایی، اقلیمی و خاکشناسی محل تحقیق در جداول ۱ و ۲ آمده است.

اتانول و سیکلوهاگزامید، بر روی برگ گیاه سوسن (*Alstroemeria hybrida*) موجب افزایش طول عمر برگ شده است (Yaghoubi Kiaseh and Yadegari, 2015). افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های رشدی است (Kheiri et al., 2020). متیل جاسمونات یک محرک رشد کلیدی برای فرآیندهای مختلف رشد گیاه است که امروزه در شرایط آزمایشگاهی برای تولید متابولیت‌های ثانویه کاربرد گسترده‌ای دارد (Mohamed and Latif, 2017). از سوی دیگر، تیتانیوم نهمین عنصر فراوان در پوسته زمین می‌باشد که در غلظت‌های پایین برای گیاه مفید است و فرآیندهای متعدد گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. برای استفاده از تأثیرات مفید آن، این عنصر به ترکیبات عناصر ریزمغذی افزوده می‌شود. گسترده‌ترین ترکیبات مصرف شده از تیتانیوم در دنیا شامل تیتانیوم فلزی، اکسید تیتانیوم و تیتانیوم کلرید هستند. نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم به دلیل پایداری بالا، اثرات ضدباکتریایی و خواص فتوکاتالیستی، کاربردهای وسیع‌تری دارند (Shi et al., 2013). Ullah و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کرده‌اند که غلظت بهینه نانوذرات دی اکسید تیتانیوم برای افزایش رشد در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است و با افزایش غلظت عملکرد گیاه بهبود نمی‌یابد. اگرچه تیمار نانوذرات تیتانیوم با توجه به نوع گیاه اثرات متفاوتی دارد ولی با بهینه‌سازی غلظت دی اکسید تیتانیوم برای گیاهان دارویی و معطر مختلف می‌توان کیفیت و تولید مواد مؤثره به‌ویژه اسانس را افزایش داد (Ahmad et al., 2018). حرکت تیتانیوم در خاک بسیار کند است و استفاده از این ترکیب به‌صورت

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی و اقلیمی منطقه مورد تحقیق

عرض جغرافیایی	۳۲/۲۶ شمالی
طول جغرافیایی	۵۰/۵۶ شرقی
ارتفاع از سطح دریا	۲۰۵۹ متر
پوشش گیاهی	استپی
حداقل مطلق دما	۳۰ - درجه سانتی گراد
حداکثر مطلق دما	۳۵ درجه سانتی گراد
میانگین دمای روزانه	۱۱/۸ درجه سانتی گراد
متوسط بارندگی سالانه	۴۳۵/۷ میلی متر
متوسط رطوبت نسبی	۴۶ درصد
تعداد روزهای یخبندان	۱۱۲ روز
میانگین ساعات آفتابی سالانه	۲۸۷۹ ساعت

جدول ۲: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل تحقیق

سال	بافت خاک	هدایت الکتریکی	مواد خشتی	کربن آلی	نیترژن	پتاسیم	فسفر	روی	منگنز	آهن	مس	اسیدیته	
												دسی زیمنس بر متر	درصد
۱۳۹۷	لوم	۰/۶۰۶	۳۱/۵	۰/۶۶۳	۰/۰۵۸	۲۸۷	۱۶/۵	۰/۶۸	۳/۱۶	۳/۹۸	۰/۹۸	میلی گرم در کیلوگرم	۷/۹۲
۱۳۹۸	لوم	۰/۶۱	۲۹/۸	۰/۷۱	۰/۰۵۵	۲۹۳	۱۶/۸	۰/۷۲	۳/۲۳	۳/۶۴	۰/۸۶	میلی گرم در کیلوگرم	۷/۸۸

تیمارهای آزمایش: این تحقیق به صورت دو آزمایش مستقل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار جهت بررسی اثر محلول پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در دو سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹ انجام گرفت. بر اساس نتایج بررسی اولیه واکنش گیاه گل محمدی، متیل جاسمونات در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار در محلول ۱ درصد اتانول و برای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفت. در این پژوهش نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

به شکل آناتاز (Anatase)^۱ از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه گردید. جهت تهیه غلظت‌های مورد نیاز از نانو اکسید دی‌اکسید تیتانیوم، ابتدا نانو ذرات با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حالت سوسپانسون درآمدند. سپس برای تشکیل محلولی یکنواخت و همگن، به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک (قدرت ۴۰ وات، قرار داده شده و سپس به حجم رسیدند. در گلستان گل محمدی، بوته‌های سه ساله و زمینی به ابعاد ۵۰×۶۰ متر و حدود ۲۴۰ بوته، در نظر گرفته شد که شش کرت با فاصله پنج متر از همدیگر در آن

۱. اندازه ۲۵-۱۰ نانومتر، سطح ویژه ۲۴۰-۲۰۰ مترمربع بر گرم و خلوص ۹۹ درصد

کلروفیل و کاروتنوئیدها محاسبه گردید (Arnon, 1949).

فنل کل: برای تهیه عصاره متانولی، ۰/۲ گرم (۲۰۰ میلی گرم) برگ تازه از برگ های جوان کاملاً توسعه یافته جدا شد و در هاون چینی با ۲۰ میلی لیتر متانول ۹۹ درصد عصاره گیری گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، عصاره شفاف قسمت فوقانی آن برای اندازه گیری صفات بیوشیمیایی جدا گردید. میزان فنل کل با استفاده از ۰/۵ میلی لیتر عصاره متانولی تهیه شد و با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو اندازه گیری گردید. مقدار جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار ترکیبات فنلی کل بر اساس معادل میلی گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک برآورد گردید (Singleton and Rossi, 1965).

فلاونوئید کل: سنجش فلاونوئید کل در برگ و گل های گیاهان تیمار شده به روش آلومینیوم کلرید انجام شد. ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی تهیه شد و با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱) گرم در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. در نمونه شاهد بجای عصاره متانولی، از متانول خالص استفاده گردید. مخلوط نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد و بلافاصله جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت های مختلف کوئرستین (صفر الی ۱۶ میلی گرم در لیتر) به عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار فلاونوئیدها بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک محاسبه شد (Chang et al., 2002).

طراحی شد. هر تیمار بر روی ۱۰ بوته به ارتفاع ۹۰ تا ۱۱۰ سانتی متر، میانگین تعداد غنچه 8 ± 70 و فاصله هر بوته ۱۰۰-۹۰ سانتی متر انجام شد. با کمک دستگاه مه پاش در مرحله رویشی گیاه روی برگ ها، هر چهار روز یک بار قبل از باز شدن غنچه ها در سه نوبت محلول پاشی انجام شد. محلول پاشی با آب روی نمونه های شاهد نیز با سه تکرار در هر کرت انجام شد. پس از باز شدن گل ها، برداشت گلبرگ ها در چهار مرحله با فاصله زمانی ۳ روز و قبل از طلوع آفتاب صورت گرفت. پس از محاسبه عملکرد گلبرگ های برداشت شده از هر بوته، گلبرگ های جمع آوری شده به منظور محافظت نوری نمونه ها و حداقل آسیب به کیفیت اسانس، در پاکت های کاغذی نگه داری شدند. همچنین از برگ گیاهان تیمار شده جهت اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، نمونه برداری انجام گرفت. جهت ارزیابی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، نمونه های برداشت شده در مزرعه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از برچسب زدن نام تیمار در تانک حاوی نیتروژن مایع قرار داده و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

صفات مورد ارزیابی

رنگیزه های فتوسنتزی: برای اندازه گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده، ابتدا ۰/۲۵ گرم برگ تازه خرد شد و در یک هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به صورت یک توده یکنواخت درآید. سپس مخلوط حاصل به لوله های فالکون ۲۰ میلی لیتری ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ بر دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب نور محلول رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۵۲، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت شد و در نهایت غلظت

گرم پودر سلنیوم بود با ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ مخلوط گردید و ۱/۵ تا ۲ ساعت در هیتز با دمای ۵۰۰ درجه قرار داده شد تا عمل هضم صورت گیرد. پس از سرد شدن ماده هضم شده با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد و سپس ۲۰ میلی لیتر از آن توسط دستگاه کج‌دال مورد سنجش قرار گرفت (Lindsay and Norvell, 1978).

فسفر: اندازه گیری میزان فسفر گیاه، بر اساس روش کالریمتری (اسید آسکوربیک) مورد ارزیابی قرار گرفت و نمونه ها در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند (Emami, 1996).

پتاسیم: جهت اندازه گیری میزان پتاسیم از روش هضم سوزاندن نمونه خشک گیاهی در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت و واکنش با اسیدکلریدریک ۲ مولار استفاده شد. سپس به کمک روش فلیم فتومتری میزان پتاسیم محاسبه گردید (Emami, 1996).

منیزیم: اندازه گیری میزان منیزیم به روش جذب اتمی صورت گرفت. ابتدا جهت تهیه محلول استاندارد ۰/۴ گرم سولفات منیزیم در ۲۰۰ میلی لیتر آب حل و ۱۰ میلی لیتر اسید هیدروکلریک به آن اضافه و به حجم ۱ لیتر رسانده شد. سپس ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی لیتر از محلول استاندارد در بالن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و با اسید هیدروکلریک ۰/۱۲ مول به حجم رسانده شد و سری محلول‌های استاندارد تهیه شد. برای تهیه محلول لانتوم، ۳/۱۲ گرم نمک نترات لانتوم در کمی آب حل شده و به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسید. ۰/۲۵ میلی لیتر از محلول عصاره، شاهد و سری محلول‌های استاندارد به لوله آزمایش منتقل شدند و ۴/۷۵ میلی لیتر از محلول لانتوم اضافه و هم زده شد و میزان جذب در طول موج ۲۸۵/۲ نانومتر

آنتوسیانین کل: برای تعیین مقدار آنتوسیانین کل در برگ و گل‌های گیاهان تیمار شده گل محمدی، ۰/۱ گرم نمونه گیاهی با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی سائیده شد و عصاره به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. پس از آن عصاره با ۴۰۰۰ دور در ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی ۳۳۰۰ میلی مول بر سانتی متر محاسبه گردید (Wanger, 1979).

فعالیت آنتی اکسیدانی: تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق آزمون DPPH توسط معرف ۲ و ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازین انجام گردید (Moon and Terao, 1998). بدین منظور به غلظت‌های مختلف اسانس، ۱/۵ میلی لیتر DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی مولار در متانول) اضافه گردید. به‌طور موازی همراه با هر نمونه، یک نمونه شاهد نیز که در آن به جای اسانس، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر بود، به همراه نمونه‌های اصلی به مدت ۵۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب هر محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. جذب سه غلظت از نمونه و یک نمونه کنترل اندازه‌گیری شد و مطابق فرمول زیر درصد ممانعت هر غلظت محاسبه شد:

$$\text{ممانعت} \times 100 = \left(\frac{\text{جذب کنترل} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \right) \times 100$$

پس از کشیدن نمودار برای هر نمونه (محور افقی بر اساس غلظت و محور عمودی بر اساس درصد ممانعت)، غلظتی از نمونه که درصد ممانعت آن ۵۰ درصد بود (IC₅₀)، از روی معادله نمودار مربوطه به دست آمد.

نیترोजن: جهت اندازه‌گیری میزان نیترोजن، ۰/۳ گرم از ساختار برگ گیاه را با ۱/۱ گرم از کاتالیزور که شامل ۱۰ گرم سولفات مس، ۱۰۰ گرم سولفات پتاسیم و ۱

محاسبات آماری

پس از انجام آزمون بارتلت جهت بررسی اطمینان از همگن بودن واریانس خطاهای آزمایشی، تجزیه مرکب میزان اسانس و صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی توسط نرم‌افزار آماری SAS^{ver.9} انجام شد. مقایسات میانگین صفات با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سطح یک درصد انجام گردید و برای اطمینان از مقادیر خطای استاندارد (S.E)، بطور جداگانه نیز با نرم‌افزار Excel ver. 2013، برآورد مجدد انجام شد.

نتایج

رنگیزه‌های فتوستتزی: نتایج مربوط به مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاهان محلول‌پاشی شده نشان داد که محلول پاشی با متیل جاسمونات (جدول ۳) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۴) به‌طور معنی‌داری مقادیر این ترکیبات را تحت تأثیر قرار داد. بیشترین مقدار این رنگیزه‌ها در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات بود. بین غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات تفاوتی از نظر مقدار کلروفیل b و کاروتنوئیدها مشاهده نگردید (جدول ۵). در همه سطوح محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی بیشتر از گیاهان شاهد بود. بیشترین مقدار کلروفیل a و کاروتنوئیدها در گیاهان محلول‌پاشی شده با کمترین غلظت تیتانیوم دی‌اکسید (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) حاصل شد. مقدار کلروفیل b در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود (جدول ۵). بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل سال × تیمار محلول‌پاشی تنها در تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار کلروفیل a معنی‌دار بود (جدول ۴). مقدار کلروفیل a در سال اول در گیاهان تیمار شده با

با شعله آبی استیلن - هوا اندازه‌گیری گردید (Emami, 1996).

روی: اندازه‌گیری میزان روی به روش جذب اتمی صورت گرفت که برآن اساس، ۱/۷۵۹ گرم سولفات روی در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب حل شد و به آن ۱۲ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک غلیظ اضافه و بعد از خنک شدن به حجم ۱ لیتر رسانده شد و سپس محلول استاندارد غلیظ ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر از آن تهیه گردید. جهت تهیه اسید هیدروکلریک ۰/۱۲ مول، ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد به ۴۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه و به حجم ۱ لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد غلیظ به بالن ۵۰۰ میلی‌لیتر منتقل و با اسید هیدروکلریک ۰/۱۲ مول به حجم رسانده شد. میزان جذب روی در نمونه‌های استاندارد، شاهد و عصاره در طول موج ۲۱۳/۹ نانومتر با شعله آبی استیلن - هوا اندازه‌گیری گردید (Lindsay and Norvell, 1978).

آهن و منگنز: جهت اندازه‌گیری میزان این عناصر، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۳ به ۱ اسید کلریدریک به اسید نیتریک غلیظ، به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت باقی ماند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رسانده شد و در پایان میزان آهن و منگنز نمونه‌ها، با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید (Emami, 1996).

استخراج اسانس: در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و معطر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛ اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر (بروسیلیکات آلمانی ساخت شیشه آلات ایران) و بر اساس درصد وزنی، صورت گرفت که برای هر نمونه مدت دو ساعت به طول انجامید (Adams, 2007).

۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات بیشتر از سایر تیمارها a در تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید بود با این وجود در سال دوم بیشترین مقدار کلروفیل تیتانیوم حاصل شد (شکل ۱).

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی متیل جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فنل کل	فلاونوئیدهای برگ
سال	۱	۰/۰۱۵ **	۰/۰۰۴ ns	۳۲/۶۱۸ ns	۰/۰۳۸ **	۰/۰۰۰۱ ns
تکرار (سال)	۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۷	۸۷/۱۴۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵
متیل جاسمونات	۳	۰/۳۶۹ **	۱/۳۲۲ **	۵۰۳۲/۶۹۳ **	۰/۱۲۲ **	۰/۰۰۹ **
سال×متیل جاسمونات	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۲ ns	۱۷/۵۲۹ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۱۴/۶۶۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (%)	-	۷/۵۴	۴/۹۸	۱۲/۶۵	۷/۷۸	۸/۹۹

ادامه جدول ۳: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی متیل جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئیدهای گل	آنتوسیانین برگ	عملکرد گلبرگ	آنتوسیانین گل	فعالیت آنتی اکسیدانی
سال	۱	۰/۰۱۵ *	۰/۰۴۹ **	۲۹۸/۷۷۹ **	۰/۰۰۶ **	۰/۰۴۹ ns
تکرار (سال)	۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۳/۹۲	۰/۰۰۲	۳۱/۲۵۲
متیل جاسمونات	۳	۰/۹۳۵ **	۰/۱۵۹ **	۲۹۵۱/۸ **	۰/۳۰۶ **	۷۷۵۷/۹۱۷ **
سال×متیل جاسمونات	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۲۲/۸۸ ns	۰/۰۰۵ **	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۸/۰۹	۰/۰۰۱	۵۹/۴۲۲
ضریب تغییرات (%)	-	۸/۳۲	۷/۳۵	۹/۱۲	۶/۶۵	۹/۰۶

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۴: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فنل کل	فلاونوئیدهای برگ
سال	۱	۰/۲۷۸ **	۰/۰۰۰۱ ns	۴۸/۱۴۲ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns
تکرار (سال)	۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۴۲/۱۶۸	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷
دی اکسید تیتانیوم	۳	۰/۲۶۶ **	۰/۷۱۰ **	۳۰۵۸/۷۴۸ **	۰/۳۰۴ **	۰/۳۳۱ **
سال×دی اکسید تیتانیوم	۳	۰/۱۱۱ **	۰/۰۰۰۱ ns	۱۰۰/۳۹۹ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۱۰	۰/۰۰۳	۴۰/۸۱۹	۰/۰۰۵	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۳۳	۸/۰۹	۱۱/۵۴	۵/۳۰	۶/۷۳

ادامه جدول ۴: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئیدهای گل	آنتوسیانین برگ	عملکرد گلبرگ	آنتوسیانین گل	فعالیت آنتی اکسیدانی
سال	۱	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۳ ns	۱۱/۴۵ *	۰/۰۰۰۱ ns	۴/۴۱۰ ns
تکرار (سال)	۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۶	۲/۷۵	۰/۰۰۳	۵۱/۸۲۴
دی اکسید تیتانیوم	۳	۰/۳۰۳ **	۰/۶۸۸ **	۲۱۶۹/۴ **	۰/۳۸۲ **	۵۷۲۹/۰۳۴ **
سال×دی اکسید تیتانیوم	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۷۹ *	۳/۳۴ ns	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۴۷۷ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۷	۰/۰۲۰	۲/۳۵	۰/۰۰۲	۳۷/۹۳۶
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۰۴	۳/۵۵	۱۱/۰۶	۳/۱۱	۵/۵۴

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ترکیباتی فنلی: بررسی اثر محلول پاشی متیل جاسمونات بر مقدار ترکیبات فنلی، بیانگر اثر معنی دار متیل جاسمونات بر مقدار این ترکیبات بود. بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل متیل جاسمونات در سال تنها بر مقدار آنتوسیانین گلبرگ معنی دار بود (جدول ۳). محلول پاشی با متیل جاسمونات به ویژه غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار به طور معنی داری مقدار فنل کل را در گیاه گل محمدی افزایش داد (جدول ۵). مقدار فلاونوئیدهای برگ و گلبرگ نیز در همه سطوح به کار رفته از متیل جاسمونات بیشتر از گیاهان شاهد بود و این افزایش در غلظت ۱ میلی مولار بارزتر بود که به ترتیب ۲۸/۹۶ و ۶۲/۰۴ درصد فلاونوئیدهای برگ و گل را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (جدول ۵). مقدار آنتوسیانین برگ در گیاهان تیمار شده با غلظت ۲ میلی مولار متیل جاسمونات، تفاوت معنی داری با شاهد نداشت و بیشترین مقدار (۱/۹۱ میلی گرم در گرم وزن خشک) در گیاهان محلول پاشی شده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار متیل جاسمونات حاصل گردید. بیشترین آنتوسیانین گلبرگ (۲/۰۱ میلی گرم در گرم وزن خشک) نیز در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱ میلی مولار متیل جاسمونات مشاهده گردید (جدول ۵). مقایسه میانگین سال \times متیل جاسمونات نیز نشان داد که بیشترین آنتوسیانین گلبرگ در سال دوم و در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱ میلی مولار متیل جاسمونات حاصل شد (شکل ۲-A). در گیاهان تیمار شده با دی اکسید تیتانیوم در دو سال مورد مطالعه، محلول پاشی با غلظت‌های مختلف این نانوذرات نیز

به طور معنی داری مقدار فنل کل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین برگ و گلبرگ را در گیاهان گل محمدی تحت تأثیر قرار داد و تنها اثر متقابل دی اکسید تیتانیوم در سال بر مقدار آنتوسیانین برگ معنی دار بود (جدول ۴). استفاده از غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم مقدار فنل کل را به میزان ۲۷/۴۰ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد با این وجود مقدار فنل کل در غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید تیتانیوم کمتر از گیاهان شاهد بود (جدول ۵). بیشترین مقدار فلاونوئید برگ (۲/۶۹ میلی گرم در گرم وزن خشک) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید تیتانیوم حاصل شد و گیاهان محلول پاشی شده با غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر دارای بیشترین مقدار فلاونوئید گل به ترتیب ۱/۹۱ و ۱/۸۲ میلی گرم در گرم وزن خشک بودند (جدول ۵). استفاده از غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در افزایش مقدار آنتوسیانین مؤثر بودند. افزایش مقدار آنتوسیانین برگ در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر بیشتر از سایر غلظت‌ها بود و غلظت بهینه نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در افزایش مقدار آنتوسیانین گلبرگ، محلول پاشی با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر بود (جدول ۵). مقایسه میانگین اثر سال \times نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نشان داد که بیشترین مقدار آنتوسیانین برگ در هر دو سال مورد مطالعه در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات حاصل شد و افزایش مقدار آنتوسیانین برگ در سال دوم بیشتر از سال اول بود (شکل ۲-B).

جدول ۵: مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلولپاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

تیما ر محلولپاشی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فنل کل	فلاونوئیدهای برگ
میلی گرم در گرم وزن خشک					
۰	۲/۹۹±۰/۰۵ ^d	۱/۳۸±۰/۰۴ ^c	۲/۸۱±۰/۰۸ ^c	۱/۴۸±۰/۰۹ ^c	۲/۲۱±۰/۰۱ ^d
۰/۵	۳/۵۶±۰/۰۵ ^a	۲/۳۷±۰/۰۷ ^a	۳/۴۴±۰/۰۵ ^a	۱/۷۷±۰/۰۶ ^a	۲/۷۳±۰/۰۳ ^b
۱	۳/۴۵±۰/۰۳ ^b	۲/۳۶±۰/۰۶ ^a	۳/۳۶±۰/۰۴ ^b	۱/۷۵±۰/۰۶ ^a	۲/۸۵±۰/۰۲ ^a
۲	۳/۳۷±۰/۰۵ ^c	۱/۹۲±۰/۰۴ ^b	۳/۳۴±۰/۰۵ ^b	۱/۵۵±۰/۰۳ ^b	۲/۴۴±۰/۱۲ ^c
LSD	۱/۰۰	۰/۷۱۴	۱/۰۰	۰/۵۵۶	۱/۰۰
میلی گرم در گرم وزن خشک					
۰	۲/۹۹±۰/۰۹ ^d	۱/۳۶±۰/۰۳ ^c	۲/۸۱±۰/۰۷ ^d	۱/۴۶±۰/۰۷ ^c	۲/۱۸±۰/۰۶ ^c
۱۰۰	۳/۴۶±۰/۳۴ ^a	۲/۰۵±۰/۰۴ ^a	۳/۳۰±۰/۱۰ ^a	۱/۸۶±۰/۰۸ ^a	۲/۶۹±۰/۱۶ ^a
۲۰۰	۳/۳۱±۰/۱۴ ^b	۲/۱۱±۰/۰۷ ^a	۳/۱۶±۰/۰۵ ^b	۱/۶۴±۰/۰۸ ^b	۲/۳۷±۰/۰۵ ^b
۳۰۰	۳/۱۳±۰/۰۵ ^c	۱/۷۵±۰/۰۱ ^b	۲/۹۲±۰/۰۵ ^c	۱/۳۵±۰/۰۲ ^c	۲/۲۱±۰/۰۷ ^c
LSD	۱/۰۰	۰/۸۹۲	۱/۰۰	۰/۹۴۲	۱/۰۰

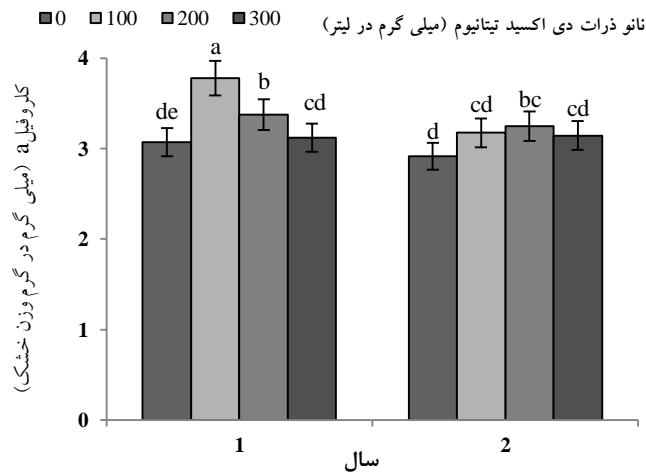
ادامه جدول ۵: مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلولپاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

تیما ر محلولپاشی	فلاونوئیدهای گل	آنتوسیانین برگ	آنتوسیانین گل	عملکرد گلبرگ	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
(میلی گرم در گرم وزن خشک)					
۰	۱/۳۷±۰/۰۷ ^d	۱/۶±۰/۰۶ ^b	۱/۵۲±۰/۰۳ ^d	۱۷۰/۰۶±۰/۹۶ ^d	۱۹۲/۶۰±۴/۶۶ ^a
۰/۵	۲/۰۲±۰/۰۴ ^b	۱/۸۷±۰/۰۵ ^a	۱/۹۸±۰/۰۳ ^b	۲۰۴/۲۰±۱/۸۳ ^b	۱۵۸/۳۲±۴/۵۶ ^b
۱	۲/۲۲±۰/۰۵ ^a	۱/۹۱±۰/۰۹ ^a	۲/۰۱±۰/۰۷ ^a	۲۲۲/۷۱±۱/۲۴ ^a	۱۱۶/۴۲±۱۰/۶۵ ^c
۲	۱/۵۶±۰/۰۶ ^c	۱/۶۳±۰/۰۵ ^b	۱/۸۶±۰/۰۴ ^c	۱۹۰/۸۹±۱/۵۱ ^c	۱۹۱/۷۰±۷/۶۱ ^a
LSD	۱/۰۰	۰/۴۲۳	۰/۸۴۵	۱/۰۰	۰/۸۱۳
(میلی گرم در لیتر)					
۰	۱/۳۹±۰/۰۶ ^c	۱/۴۴±۰/۱۷ ^c	۱/۵۳±۰/۰۴ ^c	۱۶۸/۳۹±۰/۶۵ ^d	۱۶۲/۸۰±۸/۹۶ ^a
۱۰۰	۱/۷۰±۰/۰۴ ^b	۲/۰۸±۰/۱۸ ^a	۱/۸۴±۰/۰۳ ^b	۱۷۳/۹۸±۱/۸۶ ^c	۹۴/۵۱±۴/۰۶ ^c
۲۰۰	۱/۹۱±۰/۰۷ ^a	۱/۶۶±۰/۱۸ ^b	۲/۱۵±۰/۰۵ ^a	۲۰۸/۳۹±۱/۳۵ ^a	۱۰۰/۵۰±۷/۵۶ ^c
۳۰۰	۱/۸۲±۰/۱۱ ^a	۱/۳±۰/۱۰ ^d	۱/۸۸±۰/۰۴ ^b	۱۹۷/۵۶±۲/۴۰ ^b	۱۲۱/۴۲±۴/۴۳ ^b
LSD	۰/۵۶۷	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰

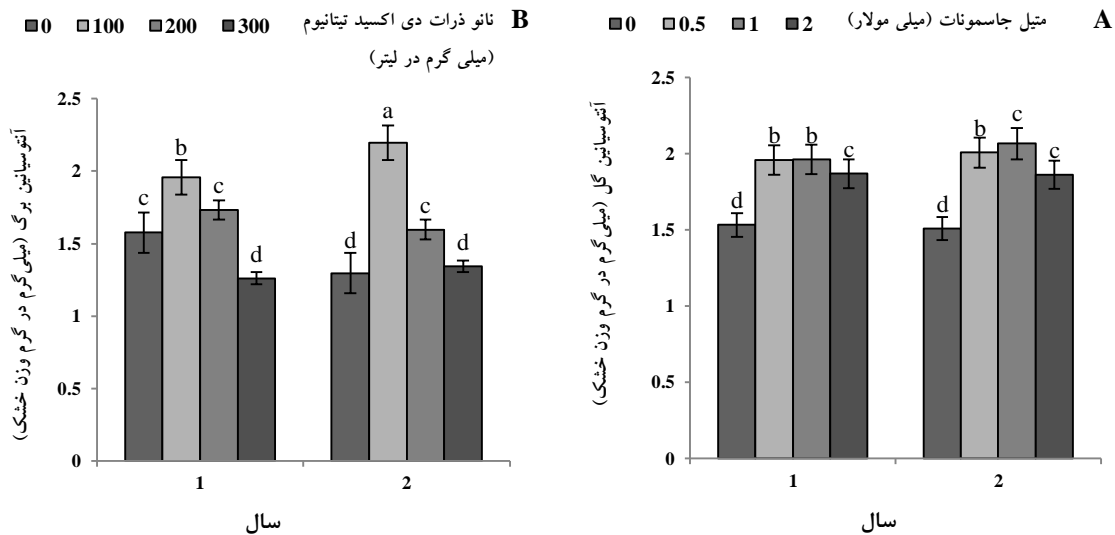
در هر صفت و ردیف مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری ندارند.

محلولپاشی شده با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین عملکرد گلبرگ (۲۰۸/۳۹) گرم در بوته را داشتند. در همه تیمارهای محلولپاشی عملکرد گلبرگ در سال دوم بیشتر از سال اول بود اگر چه این مقدار افزایش بسیار اندک بود (جدول ۵).

عملکرد گلبرگ: بر اساس نتایج تجزیه واریانس عوامل سال و محلولپاشی متیل جاسمونات (جدول ۳) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۴) بر مقدار عملکرد گلبرگ گل محمدی اثرات معنی‌داری داشتند. بیشترین عملکرد گلبرگ (۲۲۲/۷۱) گرم در بوته در تیمار ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۵) و در تیمار نانوذرات، گیاهان



شکل ۱: اثر محلول پاشی غلظت‌های مختلف ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار کلروفیل a گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه



شکل ۲: اثر محلول پاشی غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر مقدار آنتوسیانین گل (A) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (B) بر مقدار آنتوسیانین برگ گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه.

مقدار عصاره لازم برای مهار DPPH کمتر باشد خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره را نشان می‌دهد. در گیاهان محلول پاشی شده با متیل جاسمونات کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان شاهد حاصل شد و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات ثبت گردید (جدول ۵). در تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۴/۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر محلول پاشی متیل جاسمونات (جدول ۳) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۴) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های گل محمدی معنی‌دار بود. در پژوهش حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی بر اساس IC_{50} محاسبه شد. مقدار IC_{50} نشان می‌دهد که چه غلظتی از عصاره گیاهی می‌تواند نقش مهارکننده DPPH را ایفا کند، بنابراین هرچه قدر

در گیاهان محلول‌پاشی شده با کمترین غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت. با افزایش غلظت نانو ذرات به ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر از مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاسته شد (جدول ۵).

غلظت عناصر: تجزیه واریانس اطلاعات دو ساله این تحقیق نشان‌دهنده اثر معنی‌دار محلول‌پاشی متیل جاسمونات (جدول ۶) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۷) بر مقدار عناصر پر مصرف (N, P, K, Mg) و کم مصرف (Fe, Mg, Zn) موجود در برگ‌های گل محمدی بود. بیشترین مقدار نیتروژن در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۸). با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل سال و محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، نتایج نشان دهنده بیشتر شدن مقدار این عنصر در سال دوم مورد مطالعه است. در هر دو سال مورد مطالعه بیشترین مقدار نیتروژن در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد (جدول ۸). متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر مثبتی بر مقدار فسفر برگ گیاه گل محمدی داشتند. بیشترین مقدار فسفر (۰/۴۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) و مقدار پتاسیم (۱/۸۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۸). نتایج نیز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار پتاسیم می‌باشد. بیشترین مقدار پتاسیم در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که ۲۹/۵۲ درصد بیشتر از مقدار این عنصر در گیاهان شاهد است (جدول ۸). اندازه‌گیری مقدار منیزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده

نیز نشان‌دهنده افزایش مقدار منیزیم در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد می‌باشد که بیشترین افزایش (۲۰/۵۷ درصدی) در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات ثبت گردید. مقدار عنصر منیزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشتند. با این وجود مقدار منیزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۸). در بین غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات استفاده شده تنها غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در افزایش مقدار عنصر آهن در برگ‌های گیاه گل محمدی مؤثر بود و بین غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار با گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار عنصر آهن دیده نشد. همچنین محلول‌پاشی با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به میزان قابل توجهی مقدار عنصر منگنز را افزایش داد. مقدار این عنصر در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشت. محلول‌پاشی با غلظت‌های بالای متیل جاسمونات (۱ و ۲ میلی‌مولار) موجب افزایش معنی‌دار مقدار عنصر روی در برگ‌های گیاه گل محمدی شد (جدول ۸). در گیاهان تیمار شده با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، استفاده از غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش مقدار عنصر آهن از ۲۱۶/۰۹ در گیاهان شاهد به ۳۲۴/۹۳ میلی‌گرم در کیلوگرم گردید. با این وجود مقدار عنصر آهن در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم کمتر از گیاهان شاهد بود. بیشترین مقدار عنصر منگنز (۱۶۷/۴۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) در گیاهان تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد و بین سایر غلظت‌های این ترکیب و

گیاهان شاهد تفاوت معنی داری از نظر مقدار عنصر منگنز مشاهده نگردید. در بین غلظت‌های مختلف استفاده شده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تنها اثر

جدول ۶: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی متیل جاسمونات بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	نیترژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم
سال	۱	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰ ns	۰/۰۴۱ **
تکرار (سال)	۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱
متیل جاسمونات	۳	۰/۵۱۱ **	۰/۰۲۷ **	۰/۰۴۳ **	۰/۰۲۴ **
سال × متیل جاسمونات	۳	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۶ ns	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۴۰	۶/۱۱	۳/۳۰	۱/۸۵

ادامه جدول ۶: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی متیل جاسمونات بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	آهن	منگنز	روی	درصد اسانس گلبرگ
سال	۱	۰/۰۳۸ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۰۳ ns
تکرار (سال)	۴	۱۴/۶۱۸	۱۹۷/۱۱۱	۴۰/۰۶۰	۰/۰۰۰۰۷
متیل جاسمونات	۳	۱۸۹۰۷/۳۷۱ **	۵۶۱۱/۷۳۰ **	۶۴۷/۸۹۷ **	۰/۰۰۰۱ **
سال × متیل جاسمونات	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۲ ns
خطا	۱۲	۴۹۹/۶۲۸	۱۴۱/۶۳۰	۱۶/۰۰۶	۰/۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	-	۷/۸۴	۴/۵۴	۴/۰۹	۴/۲۷

ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۷: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	نیترژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم
سال	۱	۰/۱۴۹ **	۰/۰۰۳ **	۰/۰۰۴ ns	۰/۱۲۶ **
تکرار (سال)	۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱
دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۲۰۱ **	۰/۰۰۳ **	۰/۴۰۴ **	۰/۰۲۳ **
سال × دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۰۱۸ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۵ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۸۸	۴/۱۹	۲/۵۴	۲/۲۲

ادامه جدول ۷: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	آهن	منگنز	روی	درصد اسانس گلبرگ
سال	۱	۲۶/۲۰۹ ^{ns}	۱۳/۸۶۲ ^{ns}	۲/۷۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{**}
تکرار (سال)	۴	۶۱۷/۰۵۷	۱۰۱/۷۰۳	۲۸/۲۵۸	۰/۰۰۰۰۰۱
دی اکسید تیتانیوم	۳	۲۰۵۷۷/۰۶۲ ^{**}	۴۷۷۱/۰۸۲ ^{**}	۷۸۱/۹۷۸ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۵ ^{**}
سال × دی اکسید تیتانیوم	۳	۰/۵۵۵ ^{ns}	۰/۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۳ ^{ns}
خطا	۱۲	۱۶۹/۴۹۵	۷۸/۱۲۰	۱۹/۴۲۱	۰/۰۰۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۵۴	۳/۰۷	۲/۲۷	۴/۱۰

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۸: مقایسات میانگین غلظت عناصر غذایی برگ‌های گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلول پاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم

تیماز محلول پاشی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم
میلی گرم در گرم وزن خشک				
۰	۱/۸۳±۰/۰۵ ^c	۰/۲۹±۰/۰۱ ^c	۱/۶۴±۰/۰۴ ^b	۰/۷۱±۰/۰۵ ^d
۰/۵	۲/۴۱±۰/۰۶ ^a	۰/۴۳±۰/۰۳ ^a	۱/۸±۰/۰۴ ^a	۰/۸۵±۰/۰۵ ^a
۱	۲/۴۵±۰/۰۴ ^a	۰/۴۲±۰/۰۱ ^a	۱/۸۳±۰/۰۶ ^a	۰/۷۷±۰/۰۴ ^b
۲	۲/۰۸±۰/۰۲ ^b	۰/۳۵±۰/۰۴ ^b	۱/۷۱±۰/۰۱ ^b	۰/۷۳±۰/۰۵ ^c
LSD	۰/۵۴۲	۰/۸۲۶	۰/۵۳۴	۱/۰۰
نانوذرات دی اکسید	۱/۶۶±۰/۲۷ ^c	۰/۲۷±۰/۰۲ ^c	۱/۶۶±۰/۰۴ ^c	۰/۸۲±۰/۰۸ ^b
تیتانیوم	۱/۹۳±۰/۰۸ ^b	۰/۳۰±۰/۰۲ ^b	۱/۸۸±۰/۰۵ ^b	۰/۸۳±۰/۰۹ ^b
(میلی گرم در لیتر)	۲/۰۲±۰/۰۹ ^a	۰/۳۲±۰/۰۲ ^a	۲/۱۵±۰/۰۶ ^a	۰/۹۵±۰/۰۹ ^a
LSD	۱/۶۶±۰/۰۴ ^c	۰/۳±۰/۰۱ ^b	۱/۵۶±۰/۰۶ ^d	۰/۸۴±۰/۰۸ ^b
LSD	۰/۶۴۱	۰/۵۰۹	۱/۰۰	۰/۴۱۷

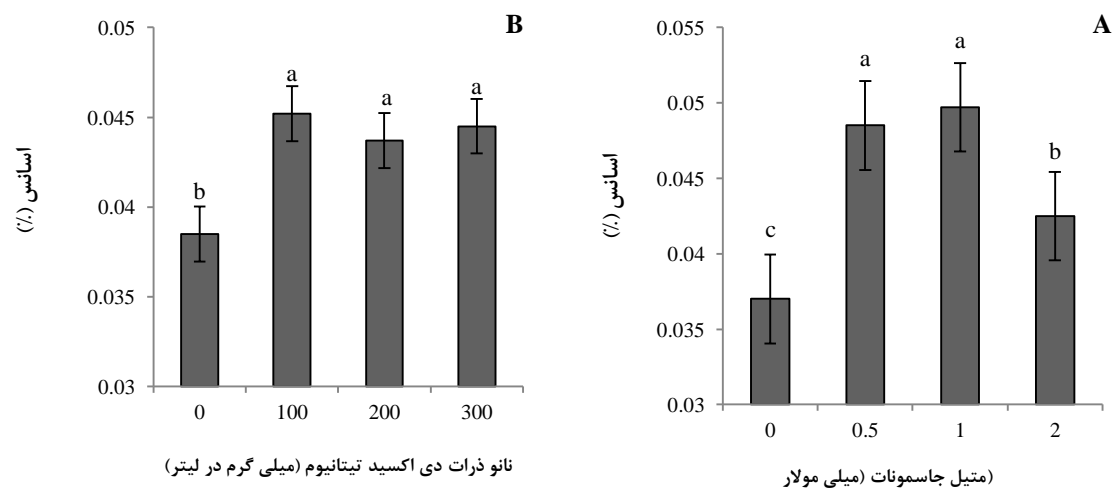
ادامه جدول ۸: مقایسات میانگین غلظت عناصر غذایی برگ‌های گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلول پاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم

تیماز محلول پاشی	آهن	منگنز	روی
میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک			
۰	۲۱۷/۵۴±۱۵/۷ ^b	۱۰۹/۵۳±۸/۰۳ ^b	۶۳/۰۹±۶/۴۵ ^c
۰/۵	۳۲۷/۹۸±۲۵/۸ ^a	۱۷۴/۵۷±۱۸/۸ ^a	۸۰/۸۸±۵/۰۲ ^b
۱	۲۲۹/۰۲±۱۳/۶ ^b	۱۶۰/۴۹±۸/۰۳ ^a	۸۶/۵۳±۱/۳۲ ^a
۲	۲۰۵/۵۲±۱۰/۳ ^b	۱۲۳/۳۱±۳/۵۲ ^b	۸۲/۵۶±۱/۳۶ ^{ab}
LSD	۰/۴۵۸	۰/۵۱۴	۰/۵۸۷
نانوذرات دی اکسید	۲۱۶/۰۹±۱۵/۸ ^b	۱۰۸/۷۸±۸/۰۸ ^b	۶۶/۷۲±۱/۹۶ ^b
تیتانیوم	۲۲۸/۶۱±۱۴/۹ ^b	۱۱۸/۱۸±۹/۶۵ ^b	۶۶/۹۱±۰/۸۳ ^b
(میلی گرم در لیتر)	۳۲۴/۹۳±۲/۰۵ ^a	۱۶۷/۴۷±۵/۶۶ ^a	۸۹/۵۲±۸/۰۶ ^a
LSD	۱۹۱/۲۷±۳/۲ ^c	۱۰۸/۴۳±۹/۰۲ ^b	۶۶/۴۳±۰/۵۴ ^b
LSD	۰/۶۱۸	۰/۴۵۹	۰/۵۶۷

در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی داری ندارند.

برداشت شده از گیاهان محلول پاشی شده با غلظت- های مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بیشتر از گیاهان شاهد بود. با این وجود، بین غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم تفاوت معنی داری از نظر میزان اسانس مشاهده نگردید (شکل ۳-B). در پژوهش حاضر محلول پاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مقدار اسانس استخراج شده از گلبرگ‌های گیاه گل محمدی را به ترتیب ۳۴/۳۲ و ۱۷/۴۰ درصد در مقایسه با گیاهان تیمار نشده (شاهد) افزایش داد که بیانگر کارایی بالاتر متیل جاسمونات در افزایش سنتز و تجمع اسانس گیاه گل محمدی می‌باشد (شکل ۳).

مقدار اسانس: مقدار اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی به‌طور معنی داری تحت تأثیر متیل جاسمونات قرار گرفت (جدول ۶). تمام غلظت‌های متیل جاسمونات موجب افزایش معنی دار اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی گردید. در گیاهان محلول پاشی شده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار مقدار اسانس به‌طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. تیمار متیل جاسمونات در غلظت‌های ۰/۵-۱ میلی مولار مقدار اسانس را از ۰/۳۷ به ۰/۰۵ درصد افزایش داد (شکل ۳-A). اثر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر میزان اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی معنی دار بود (جدول ۷). مقدار اسانس گلبرگ‌های



شکل ۳: اثر محلول پاشی غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (A) و نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم (B) بر درصد

کاروتنوئیدها مهم‌ترین اجزای سیستم فتوسنتزی گیاه را تشکیل می‌دهند. کاروتنوئیدها به عنوان رنگیزه کمکی، نقش مهم آنتی‌اکسیدانی نیز دارند. این رنگیزه‌ها مسئول دفع اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو می‌باشند (Ahmad et al., 2018). بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، محلول پاشی گیاهان گل محمدی با محرک‌های متیل جاسمونات و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید

بحث

استفاده از ترکیبات محرک رشد به گیاه کمک می‌کند تا بر عوامل بازدارنده رشدی غلبه کنند. این ترکیبات با تحت تأثیر قرار دادن خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ali et al., 2019). فتوسنتز از مهم‌ترین واکنش‌های حیاتی در گیاه می‌باشد که نقش تعیین کننده در عملکرد و همچنین خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارد. در کلروپلاست برگ‌ها، کلروفیل‌ها و

متابولیت ثانویه گیاهان، دارای نقش بسیار مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به شرایط نامطلوب محیطی می‌باشند. این ترکیبات یکی از شناخته شده‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان در گیاهان هستند که در گونه‌های مختلف گیاهی دارای فعالیت‌های متفاوت شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشند. بسیاری از ترکیبات فنلی، از پالاینده‌های بسیار کارآمد رادیکال‌های هیدروژن می‌باشند و به همین دلیل باعث کاهش تولید پراکسید هیدروژن، ثبات غشاءها و توقف پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (Ho et al., 2020). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از مهم‌ترین ترکیبات فنلی در سیئوپلاسم و شبکه آندوپلاسمی، سنتز می‌شوند و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، نقش حفاظتی دارند (Jiang et al., 2017; Wanger et al., 1979). براساس نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر کارایی محلول‌پاشی متیل جاسمونات در افزایش مقدار ترکیبات مختلف فنلی بیشتر از تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود (جدول ۵). تیمار متیل جاسمونات (یک و دو میلی مولار) به‌طور معنی‌داری میزان فنل کل را در گیاه گل محمدی افزایش می‌دهد (Taheri et al., 2020) که در راستای نتایج حاصل از پژوهش حاضر مبنی بر اثر تیمار متیل جاسمونات بر افزایش ترکیبات فنلی می‌باشد. متیل جاسمونات با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها، مواد اولیه را برای سنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها فراهم می‌آورد (Mohamed and Latif, 2017). محققین علت افزایش ترکیبات فنلی در تیمار با جاسمونات‌ها را، اثر این ماده بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و افزایش فعالیت این آنزیم ذکر نموده‌اند (Ali et al., 2019; Ho et al., 2020). از آنجا که آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیبات فنلی است، به‌نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی باشد. هر

که همراه با افزایش عملکرد گلبرگ بود. مقایسه نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان محلول‌پاشی شده با متیل جاسمونات، بیشتر از تیمارهای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اکسید بود (جدول ۵). نتایج این بخش از تحقیق با گزارشات قبلی مطابقت دارد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۹؛ کمالی و همکاران، ۱۳۹۷). افزایش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها تحت تأثیر متیل جاسمونات در گیاهان ریحان (*Ocimum basilicum*) (Malekpoor et al., 2015)، ذرت (*Zea mays* L.) (Tayyab et al., 2020)، شوید (*Coriandrum sativum* L.) (Ali et al., 2019) و توسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در گیاهان گندم (*Triticum aestivum* L.) (Alharby et al., 2021) و آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (Kolenčik et al., 2020) نیز گزارش شده است. متیل جاسمونات از طریق تشکیل اسید آمینولولینیک، فعالیت آنزیم‌های کلیدی در بیوسنتز کلروفیل را تحت تأثیر قرار می‌دهد، البته این اثر در غلظت‌های پایین متیل جاسمونات صورت می‌گیرد. همچنین متیل جاسمونات به‌عنوان یک محرک رشد، موجب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود که می‌تواند از تخریب رنگیزه‌های گیاهی جلوگیری کند (Tayyab et al., 2020). از سوی دیگر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، ساختار کلروفیل را بهبود بخشیده و با افزایش جذب نور، تشکیل کلروفیل را آسان‌تر می‌کند. این ترکیب با انتقال انرژی نور به الکترون‌های فعال، بر فعالیت‌های شیمیایی و در نهایت بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Kolenčik et al., 2020). تیتانیوم از دو طریق سبب افزایش فتوسنتز می‌شود. اول با افزایش میزان کلروفیل و دوم با ایجاد تغییر در فعالیت پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز از جمله فروکتوز ۱،۶ بی‌فسفاتاز که در چرخه کالوین مؤثر است. همچنین در چرخه پنتوز فسفات اکسیداز که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مهم است، نقش دارد (Gao et al., 2008). ترکیبات فنلی به‌عنوان یکی از

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همبستگی وجود دارد (Kabtni et al., 2020). متیل جاسمونات یک مولکول پیام‌رسان مهم در سلول‌های گیاهی است و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را با توجه به شرایط فیزیولوژیکی سلول، مستقیم یا غیرمستقیم کنترل می‌کند (Jiang et al., 2017). نکته قابل توجه این است که بررسی مطالعه حاضر و سایر پژوهش‌ها، بیانگر تفاوت در تأثیر غلظت‌های مختلف محرک‌های استفاده شده است. باید در نظر داشت تعیین غلظت بهینه برای محلول‌پاشی بسته به گونه گیاهی، شرایط محیطی و روش استفاده، متفاوت است (Sheikhalipour et al., 2021). افزایش مقدار عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف در برگ گیاهان گل محمدی تیمار شده با متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۸)، به دلیل اثر این ترکیبات روی مکانیسم‌های یونی از طریق تأثیر بر نفوذپذیری غشای پلاسمایی است که جذب عناصر از طریق ریشه را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش جذب یون‌ها به داخل گیاه می‌شود (Markiewicz and Kleiber, 2014). نانوکودهای حاوی عناصر ریزمغذی به علت دسترسی سریع به سطوح گیاهی، توانایی حمل عناصر غذایی و رساندن هدفمند عناصر ریزمغذی به بافت‌های مشخص از گیاه، سبب افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌شوند (Shi et al., 2013). در گیاهان تیمار شده با نانو ذرات به دلیل وضعیت تغذیه‌ای متعادل و بهبود فرآیند فتوسنتزی گیاه، تولید انرژی بیشتر می‌باشد و از این طریق غلظت عناصر غذایی مانند پتاسیم که به صورت فعال و با صرف انرژی جذب گیاه می‌شوند، افزایش می‌یابد (Alharby et al., 2021). ذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز می‌شوند و توانایی جذب و استفاده از آب و کود را در گیاهان تیمار شده تشدید می‌نمایند (Lyu et al., 2017). افزایش در مقدار عناصر پرمصرف گیاه تحت تأثیر نانو ذرات دی‌اکسید

چند در این مطالعه فعالیت فنیل آلانین آمونیاک‌لیاز اندازه‌گیری نشد، اما افزایش احتمالی فعالیت این آنزیم و دیگر آنزیم‌های درگیر در مسیر شیکیمات می‌تواند از دلایل احتمالی افزایش ترکیبات فنلی در این مطالعه در واکنش به تیمار متیل جاسمونات باشد. افزایش ترکیبات فنلی در واکنش به نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در سایر گیاهان از جمله مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) (Mazarie et al., 2019) بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) (Gohari et al., 2020) و استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) (Sheikhalipour et al., 2021) نیز گزارش شده است. پیش‌ساز اصلی برای سنتز ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی کربوهیدرات‌ها هستند. به نظر می‌رسد که افزایش جذب عناصر غذایی در تیمارهای محلول‌پاشی به‌طور غیرمستقیم با تحت تأثیر قرار دادن متابولیسم کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به سمت سنتز ترکیبات فنلی هدایت می‌کند که نتیجه آن، افزایش مقدار این ترکیبات است (Sheikhalipour et al., 2021).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مجموع ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد. در پژوهش حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های گیاه گل محمدی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی با ترکیبات مورد مطالعه قرار گرفته بود. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نتیجه تیمارهای محلول‌پاشی، می‌تواند به دلیل افزایش در سرعت سنتز DNA و پروتئین باشد که باعث القای سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های آنتی‌اکسیدان گردیده و قدرت سیستم دفاعی گیاه را افزایش می‌دهد (Wang et al., 2016). از طرف دیگر افزایش غلظت ترکیبات فنلی که در پژوهش حاضر در واکنش به تیمارهای مورد مطالعه گزارش گردید به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد (Ho et al., 2020). بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با ترکیبات فنلی و

ترکیبات می‌شود. یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را می‌توان به دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر افزایش جذب عناصر غذایی در ساختمان و کارکرد کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح کننده اسانس در برگ منجر می‌شود. از آنجایی که غده‌های ترشح کننده اسانس گل محمدی در گلبرگ‌ها قرار دارند، هر عاملی که سبب افزایش سطح و وزن گلبرگ‌ها شود، مقدار اسانس را نیز افزایش خواهد داد. از این رو به نظر می‌رسد افزایش تولید کلروفیل، سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی، افزایش رشد گلبرگ‌ها و در نتیجه افزایش تعداد کربک‌های ترشحی اسانس می‌گردد و در نهایت منجر به افزایش عملکرد اسانس خواهد شد (Ali et al., 2019; Gohari et al., 2020; Zlotek et al., 2016).

نتیجه‌گیری نهایی

در پژوهش حاضر محلول‌پاشی گیاه گل محمدی با محرک‌های رشدی متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدهای کل و آنتوسیانین‌ها گردید. همچنین این ترکیبات با بهبود صفات فیزیولوژیکی گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی سبب افزایش درصد اسانس استخراج شده از گلبرگ‌های گل محمدی شد. بر اساس نتایج حاصل تیمار متیل جاسمونات (در غلظت ۱ میلی‌مولار) در مقایسه با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نقش مؤثرتری در بهبود رشد و عملکرد اسانس در گیاه گل محمدی داشت.

تیتانیوم در گزارشات قبلی محققین بیان گردیده است (Alharby et al., 2021; Markiewicz and Kleiber, 2014). با کاربرد نانوکودها، زمان و سرعت رهاسازی عناصر با نیاز غذایی گیاه منطبق و هماهنگ می‌شود و از این رو ضمن کاهش آبشویی عناصر، گیاه قادر به جذب بیشترین عناصر غذایی می‌شود (Markiewicz and Kleiber, 2014). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش جذب نیتروژن و منیزیم، میزان کلروفیل و فتوسنتز را افزایش داده که منجر به بهبود رشد ریشه و جذب بیشتر عناصر معدنی می‌گردد (Kolenčik et al., 2020). گزارشات مختلف با نتایج متفاوت در مورد اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار عناصر ریز مغذی وجود دارد که برخی افزایش و برخی دیگر کاهش این عناصر را در واکنش به تیمار محلول‌پاشی گزارش کرده‌اند. اثرات متفاوت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به تفاوت در گونه گیاهی، مرحله رشد، اندام مورد مطالعه، غلظت‌های استفاده شده و نحوه اعمال محلول‌پاشی نسبت داده شده است (Markiewicz and Kleiber, 2014).

میزان و کیفیت اسانس گل محمدی در این تحقیق تحت تأثیر تیمارهای مورد استفاده قرار گرفت. تأثیر مثبت متیل جاسمونات بر افزایش مقدار اسانس در گیاهان دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) (Malekpoor et al., 2015; Zlotek et al., 2016)، مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) (Farsi et al., 2020) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) (Mazarie et al., 2019) نیز گزارش شده است. به‌طور کلی هر افزایشی در کل کربوهیدرات‌های گیاه موجب افزایش سنتز اسانس در بافت مسئول سنتز این

References

- Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadruple mass spectroscopy. Illinois: Allured publishing corporation, Carol Stream.
- Ahmad, B., Shabbir, A., Jaleel, H., Khan, M.M.A. and Sadiq, Y. 2018. Efficacy of titanium dioxide nanoparticles in modulating photosynthesis, peltate glandular trichomes and essential oil production and quality in *Mentha piperita* L. *Current Plant Biology*, 13: 6–15.
- Alharby, H.F., Rizwan, M., Iftikhar, A., Hussaini, K.M., Rehman, M.Z. and Bamagoos, A.A. 2021. Effect of gibberellic acid and titanium dioxide nanoparticles on growth, antioxidant defense

- system and mineral nutrient uptake in wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 221: 112436.
- Ali, M., Mujib, A., Gulzar, B. and Zafar, N. 2019. Essential oil yield estimation by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) after Methyl jasmonate (MeJA) elicitation in *in vitro* cultivated tissues of *Coriandrum sativum* L. *Biotechnology*, 11: 414-422.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- 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: 178-182.
- Dossi, C.G., Cadagan, C., Martín, M.S., Espinosa, A. and González-Mañán, D. 2017. Effects of *Rosa mosqueta* oil supplementation in lipogenic markers associated with prevention of liver steatosis. *Food Function*, 8: 832–841.
- Emami, A. 1996. Plant decomposition methods. Technical leaflet, Vol 1, No. 982. Soil and Water. Research Institute, Tehran, Iran.
- Farsi, M., Abdollahi, F., Salehi, A. and Ghasemi, Sh. 2020. Effect of methyl jasmonate on growth and essential oil content of marjoram (*Origanum majorana* L.) under drought stress conditions. *Journal of Plant Research*, 33: 674-688.
- Gao, F., Liu, C., Qu, C., Zheng, L., Yang, F., Su, M. and Hong, F. 2008. Was improvement of spinach growth by nano-TiO₂ treatment related to the changes of Rubisco activase? *Biometals*, 21: 211-217.
- Gehrcke, M., Giuliani, L.M., Ferreira, L.M. and Barbieri, A.V. 2017. Enhanced photostability, radical scavenging and antitumor activity of indole-3-carbinol-loaded rose hip oil nanocapsules. *Materials Science and Engineering*, 74: 279–286.
- Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M.R. and Fotopoulos, V. 2020. Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific Reports*, 10: 1-14.
- González-Mañán, D., D'Espessailles, A., Dossi, C.G., Martín, M.S. and Mancilla, R.A. 2017. *Rosa mosqueta* oil prevents oxidative stress and inflammation through the upregulation of PPAR- and NRF2 in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Journal of Nutrition*, 147: 579–588.
- Ho, T.T., Murthy, H.N. and Park, S.Y. 2020. Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 716-729.
- Jiang, Y., Ye, J., Li, S. and Niinemets, Ü. 2017. Methyl jasmonate-induced emission of biogenic volatiles is biphasic in cucumber: a high-resolution analysis of dose dependence. *Journal of Experimental Botany*, 68: 4679-4694.
- Kabtni, S., Sdouga, D., Bettaib Rebey, I. and Save, M. 2020. Influence of climate variation on phenolic composition and antioxidant capacity of *Medicago minima* populations. *Scientific Reports*, 10: 82-93.
- Kamali, M., Shor, M. and Feizi, H. 2018. Impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on flowering and morphophysiological traits of *Petunia hybrida* under salinity stress. *Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology)*, 32: 199-212.
- Khaleghi, A. and Khadivi, A. 2020. Morphological characterization of Damask rose (*Rosa damascena* Herrm.) germplasm to select superior accessions. *Genetic Research Crop Evolution*, 67:1981-1997.
- Kheiri, A., Mohajjel shoja, H. and Sarajoughi, M. 2020. Study on the effect of drought stress and methanol spraying on dehydrin1 gene expression in *Carthamus tinctorius*. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 9:67-75
- Kolenčík, M., Ernst, D., Urik, M., Ďurišová, L. and Bujdoš, M. 2020. Foliar application of low concentrations of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles to the common sunflower under field conditions. *Nanomaterials*, 10: 1619-1632.
- Labban, L. and Thallaj, N. 2020. The medicinal and pharmacological properties of Damask Rose (*Rosa damascene* L.): A review. *International Journal of Herbal Medicine*, 8: 33–37.
- Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 421-428.

- Lyu, S., Wei, X., Chen, J., Wang, C., Wang, X. and Pan, D. 2017. Titanium as a beneficial element for crop production. *Frontiers in Plant Science*, 8: 597-611.
- Malekpoor, F., Salimi, A. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2015. Effects of Jasmonic acid on essential oil yield and chemical compositions of two Iranian landraces of basil (*Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Journal of Herbal Drug*, 6: 13-22.
- Markiewicz, B. and Kleiber, T. 2014. The effect of Tytanit application on the content of selected microelements and the biological value of tomato fruits. *Journal of Elementology*, 19: 1065-1072.
- Mazarie, A., Mousavi Nik, S., Ghanbari, A. and Fahmideh, L. 2019. Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, 39: 1-22.
- Mohamed, H.I. and Latif, H.H. 2017. Improvement of drought tolerance of soybean plants by using methyl jasmonate. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23: 545-556.
- Mohebitabar, S., Shirazi, M., Bioos, S., Rahimi, R. and Malekshahi, F. 2017. Therapeutic efficacy of rose oil: A comprehensive review of clinical evidence. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 7:206-220.
- Moon, J.H. and Terao, J. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 5062-5065.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Dobрева, A. and Atanasov, I. 2020. *Rosa x damascena* Mill. (Rose). *Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants*, 12: 467-500.
- Seify, Z. and Yadegari, M. 2018. Essential oil composition of *Rosa damascena* produced with different storage temperatures and durations. *Horticultural Science and Technology*, 36:552-559.
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Gohari, G., Haghighi, M. and Jafari, H. 2021. Salt stress mitigation via the foliar application of chitosan-functionalized selenium and anatase titanium dioxide nanoparticles in Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.). *Molecules*, 26: 4090-4105.
- Shi, H., Magaye, R., Castranova, V. and Zhao, J. 2013. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and Fibre Toxicology*, 10: 1-33.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Taheri, M., Rastegar, S. and Karami, A. 2020. The effect of methyl jasmonate, salicylic acid, zinc and boron foliar application on the quantitative and qualitative characteristics of *Rosa damascena* Mill. *Journal of Plant Process and Function*, 39: 179-196.
- Tayyab, N., Naz, R., Yasmin, H. and Nosheen, A. 2020. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize. *PLoS One*, 15: e0232269.
- Thakur, M. and Kumar, R. 2020. Foliar application of plant growth regulators modulates the productivity and chemical profile of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) under mid hill conditions of the western Himalaya. *Industrial Crops and Products*, 158: 113024.
- Yaghoubi Kiaseh, D. and Yadegari, M. 2015. The Effect of ethanol and cycloheximide on the vase life of cut flowers *Alstroemeria* (*Alstroemeria hybrida*). *Journal of Ornamental Plants*, 6:73-82.
- Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W. and Hou, C. 2016. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 6: 1243-1252.
- Wanger, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, 64: 88-93.
- Salimi, F., Shekari, F., Azimi, M.R. and Zangani, E. 2014. Effect of methyl jasmonate application on improving salt resistance of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) through change on some morphological characters. *Journal of Crop Production and Processing*, 11: 123-131.
- Zlotek, U., Michalak-Majewska, M. and Szymanowska, U. 2016. Effect of jasmonic acid elicitation on the yield, chemical composition, and antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oil of lettuce leaf basil (*Ocimum basilicum* L.). *Food Chemistry*, 213: 1-7.

راهنمای نگارش و ارسال مقاله، نشریه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی

نشریه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی به منظور انتشار نتایج پژوهش‌ها و مقالات در زمینه‌های علوم مرتبط با تحقیقات اکولوژی و فیتوشیمی گیاهان دارویی که قبلاً در مجلات علمی به چاپ نرسیده باشد، برای بررسی و داوری پذیرفته و در صورت تأیید، به ترتیب اولویت زمان پذیرش، چاپ می‌کند. از دانش‌پژوهان دعوت می‌شود مقاله‌های خود را در زمینه‌های تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جهت چاپ در اختیار نشریه قرار دهند. پژوهش‌هایی که در سمینارها و کنفرانس‌های علمی ارائه گردیده و یا در چارچوب گزارش‌ها و مانند آنها منتشر شده باشد نیز در این مجله قابل بررسی و چاپ است. مسئولیت محتوی مقاله و ترتیب نام نویسندگان، بر عهده نویسنده مسئول می‌باشد.

ارسال مقاله به نشریه:

ارسال مقاله از طریق وب سایت نشریه به آدرس <http://ecophytochemical.gorganiau.ac.ir> انجام می‌شود.

شرایط بررسی مقالات:

- ۱- در جهت هدف‌ها و در قالب موضوعات تعیین شده و حاصل مطالعات، تجربه‌ها و پژوهش‌های نویسنده(ها) باشد
- ۲- مقاله قبلاً در نشریه دیگری چاپ نشده باشد و یا در دست بررسی نباشد.
- ۳- مقاله باید مشتمل بر چکیده فارسی و انگلیسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج، بحث و فهرست منابع باشد.
- ۴- مقالات باید به صورت تک ستونی در نرم‌افزار Word 2010/2013 و با حفظ ۲/۵ سانتی‌متر حاشیه از هر طرف، و با درج شماره صفحه و فاصله سطرها ۱/۵ سانتی‌متر و حداکثر در ۱۵ صفحه تهیه و ارسال گردد.
- ۵- کل مقاله با دو فونت تنظیم شود، B Lotus با اندازه ۱۲ برای بخش‌های فارسی و Times New Roman با اندازه ۱۱ برای بخش‌های انگلیسی. در سراسر مقاله از گذاشتن فضا (Spacing) در قبل و بعد از تیتراها و پاراگراف‌ها خودداری کنید. لازم به ذکر است کلیه تیتراها (مقدمه، چکیده...) Bold باشد، برای گذاشتن علامت ممیز فارسی از " / " استفاده کنید و از " " استفاده نشود.

ترتیب و شرح قسمت‌های مختلف مقاله:

- ۱- **عنوان:** در یک صفحه جداگانه با قلم ضخیم و بصورت فارسی و لاتین تایپ شده و سپس نام نویسنده یا نویسندگان با رتبه علمی و آدرس دقیق (شامل دانشگاه، دانشکده، موسسه و واحد تحقیقاتی مرتبط و ...) قید گردد و نویسنده مسئول با علامت * مشخص گردد. در پایان نیز آدرس دقیق مسئول مکاتبه و ایمیل و کدپستی درج گردد.
- ۲- **چکیده:** حداکثر در ۲۵۰ کلمه نوشته شده و تمام آن در یک پاراگراف تنظیم شود. چکیده در عین اختصار باید بیانگر مسئله، هدف، مواد و روش و نتایج اصلی تحقیق باشد.
- ۳- **واژه‌های کلیدی:** بین چهار تا شش کلمه و مشخص کننده محتوی مقاله بوده و متفاوت از کلمات استفاده شده در عنوان مقاله باشد.
- **چکیده به زبان انگلیسی:** این چکیده، برگردان کامل چکیده فارسی به زبان انگلیسی باشد.

- واژه‌های کلیدی به زبان انگلیسی: این واژه‌ها نیز برگردان کامل «واژه‌های کلیدی فارسی» به زبان انگلیسی باشد.

۴- مقدمه: این بخش باید ضمن بیان مختصری از سابقه پژوهشی مرتبط با تحقیق، دلایل ضرورت انجام پژوهش به همراه اهداف مورد نظر از انجام تحقیق آورده شود.

۵- مواد و روش‌ها: در این بخش باید اطلاعات کافی در مورد مکان و زمان، نحوه اجرای پژوهش همراه با روش‌های مورد استفاده، اندازه‌گیری‌ها، جمع‌آوری، پردازش و تحلیل داده‌ها با ذکر منابع ارائه گردد.

۶- نتایج: شامل یافته‌های حاصل از پژوهش که به صورت شکل و جدول به همراه توضیحات ارائه می‌شود. جدول‌ها دارای شماره و بالا متن و شکل‌ها نیز دارای شماره و زیرنویس می‌باشد و شماره جدول‌ها (ها) و شکل‌ها (ها) به ترتیب ارایه نتایج آنها در مقاله تعیین و محل قرارگیری آنها پس از ارایه نتایج زیربند در متن مقاله باشد. کلیه شکل‌ها و جداول بدون خطوط عمودی بوده و از راست به چپ تنظیم شوند. اعداد به زبان فارسی و حداکثر تا سه رقم اعشار در متن، جدول‌ها و شکل‌ها آورده شود. حروف آماری در جدول‌ها با حروف کوچک و در کنار اعداد جدول قرار گیرند. از کاربرد کلماتی مانند نمودار، نقشه، تصویر و نظایر آنها خودداری شده و تنها از واژه "شکل" استفاده شود. در صورت وجود عکس، عکس‌ها باید با وضوح و کیفیت بالا تهیه و با فرمت JPG در انتهای مقاله آورده شود.

۷- بحث: با توجه به هدف و یافته‌های سایر پژوهش‌ها، نتایج تجزیه و تحلیل و درباره آنها بحث و نتیجه‌گیری شده و علل و روابط بین آنها در ایجاد نتایج حاصل، با استفاده از منابع علمی دیگر، مورد بحث قرار می‌گیرد.

۸- سپاسگزاری: در این بخش که حداکثر در چهار سطر تنظیم می‌شود، می‌توان از اشخاص حقیقی و حقوقی که در راهنمایی و یا انجام تحقیق مساعدت نموده و یا در تأمین بودجه، امکانات و لوازم کار نقش مؤثری داشته‌اند سپاسگزاری نمود.

۹- نحوه ارجاع منابع در متن:

تمامی منابع باید به انگلیسی باشد. منابع فارسی هم به انگلیسی ترجمه شود. تمامی منابع نیز باید در داخل متن به انگلیسی ارجاع داده شود. فرمت انگلیسی منابع با استفاده از مجلات مرجع، سایت‌های SID و مدیکوس و... باشد. ارجاعات در متن مقاله باید به شیوه داخل پرانتز باشد، به گونه‌ای که ابتدا نام مؤلف یا مؤلفان و سال انتشار مانند.

ارجاع منابع در داخل متن در صورت وجود یک یا دو نویسنده باید به طور کامل و با ذکر نام خانوادگی نویسنده و سال انتشار و به زبان انگلیسی باشد، مانند: (Ahmadi, 2007). در صورت وجود چندین نگارنده، ارجاع به منبع باید به صورت (نام خانوادگی نگارنده و همکاران، ۲۰۰۶) باشد، مانند: (Pinke et al., 2010). در صورتی که در شروع جمله به منبعی استناد شود ابتدا نام فرد به فارسی و به دنبال آن نام فرد به همراه سال به انگلیسی در پرانتز آورده شود، مانند:

مقیمی (Moghimi, 2005) یا جفرسون و همکاران (Jefferson et al., 2003)

مقاله در مجلات علمی

Preston, C.A., Betts, H., and Baldwin I. 2002. Methyljasmonate as an allelopathic agent: Sagebrush inhibits germination of a neighboring tobacco. *Chemical Ecology*, 28 (11): 2343-2369.

Mokhtari Asl, A., Mesdaghi, M., Akbarloo, M., and Zangavaran, R. 2008. Effective interaction between soil characteristics and indicator species in meadows of grassland Qrkhlarand East Azerbaijan province. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 15(1): 135-152. (In Persian).

کتاب:

حرف اول کلمات عنوان کتب باید به صورت حروف بزرگ تایپ شوند.

کتاب ویراستاری شده توسط گروهی از نویسندگان (Edited book)

Holencheck, J.L., Pieper, R.D., and Herbel, C.H. 2003. *Range Management, Principle and Practices*. 5th edition, Prentice Hall, USA, 607 p.

کتاب به زبان فارسی

در مورد کتاب فارسی ذکر عبارت (In Persian) در انتهای منبع الزامی است.

Mesdaghi, M. 2003. *Management of Iranian Rangelands*, 4th Ed, Astan-e-Ghods Press, Mashhad, 333p. (In Persian).

فصلی از یک کتاب:

Richardson. F.D., Hahn. B.D., and Schoeman, S.J. 2000. Modeling nutrient utilization by livestock grazing semi-arid rangeland. In: McNamara J.P., France J., Beever D. Eds. *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. CABI, Wallingford, Oxon. Pp: 263-280.

پایان نامه:

Richardson, F.D. 2004. *Simulation models of rangelands production systems (simple and complex)*, Ph.D. Thesis in Applied Mathematics, University of Cape Town, South Africa, 320 p.

گزارش:

Arzani, H., Motamedi, (Torkan) J., and Zare Chahoki, M.A. 2010. Report of national project Forage quality of range species in Iran, Organization of Forests Rangelands and Watershed Management of Iran, 230p.

شامل نام خانوادگی مولف، حرف اول نام، سال انتشار، عنوان، زمان بازیابی [مشاهده و دریافت اطلاعات]، نام وبگاه

Ramakrishnappa, K. 2002. Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: case studies from India, Inter- Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture. Rome. [Cited 19 February, 2010], Available from: <http://www.fao.org/docrep/005/AA021E/AA021e00.htm#TopOfPage>

Contents

Evaluation of phytochemical, antibacterial and antifungal properties of <i>Thymus daenensis</i> and <i>Thymus fedtschenkoi</i> from west of Iran Hasan Mumivand, Parisa Khanizadeh, Hamid Hassaneian Khoshro	1
Phytochemical variations of <i>Perilla frutescens</i> L. var. <i>crispa</i> essential oils in different cultivation areas Najmeh Abbasi, Mohammadhossein Mirjalili, Raheleh Ebrahimi, Hasanali Naghdi Badi, Amir Sahraroo.....	17
Evaluation of the effect of nutrition on the quantity and quality of <i>Satureja khuzestanica</i> Jamzad. essential oils in ecological conditions of Khorramabad Shahla Ahmadi, Fatemeh Sefidkon, Bohloul Abbaszadeh, Mahnaz Farhadi	36
Comparison of the essential oils of medicinal plant populations of <i>Eryngium noeanum</i> Boiss. and <i>Eryngium iranicum</i> Mozaff in Iran Abdolbaset Mahmoudi, Mohammad-Taghi Ebadi, Mahdi Ayyari.....	49
Phytochemical, antimicrobial, anticancer and anti-Alzheimer investigation of the hydro-alcoholic leaf extract of <i>Eucalyptus globulus</i> L. in laboratory conditions Morteza Karimpour, Amir Arasteh	65
Evaluation of morpho-physiological responses of <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf to the application of chemical and biological fertilizers under salinity stress in Fars and Tehran climates Mostafa Salehi, Fatemeh Nakhaei, SeyedGholamReza Mosavi, Reza Baradaran.....	79
A review on phylogeny of Damask Rose (<i>Rosa × damascena</i>) Mehnoush Panahi.....	100
Investigating the effect of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles on physiological and phytochemical variations of <i>Rosa damascena</i> Mill. essential oil Zahra Allahverdi, Mehrab Yadegari, Mohammad Moghaddam.....	109



**Iranian Society
of Medical Plants**

ISSN 2322-3235



Islamic Azad University
Gorgan Branch

No.41

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants

EJMP

11th Year, Volume One, Spring 2023

Table of contents

Evaluation of phytochemical, antibacterial and antifungal properties of *Thymus daenensis* and *Thymus fedtschenkoi* from west of Iran
Hasan Mumivand, Parisa Khanizadeh, Hamid Hassaneian Khoshro 1

Phytochemical variations of *Perilla frutescens* L. var. *crispa* essential oils in different cultivation areas
Najmeh Abbasi, Mohammadhossein Mirjalili, Raheleh Ebrahimi, Hasanali Naghdi Badi,
Amir Sahraroo..... 17

Evaluation of the effect of nutrition on the quantity and quality of *Satureja khuzestanica* Jamzad. essential oils in ecological conditions of Khorramabad
Shahla Ahmadi, Fatemeh Sefidkon, Bohloul Abbaszadeh, Mahnaz Farhadi 36

Comparison of the essential oils of medicinal plant populations of *Eryngium noeanum* Boiss. and *Eryngium iranicum* Mozaff in Iran
Abdolbaset Mahmoudi, Mohammad-Taghi Ebadi, Mahdi Ayyari..... 49

Phytochemical, antimicrobial, anticancer and anti-Alzheimer investigation of the hydro-alcoholic leaf extract of *Eucalyptus globulus* L. in laboratory conditions
Morteza Karimpour, Amir Arasteh 65

Evaluation of morpho-physiological responses of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf to the application of chemical and biological fertilizers under salinity stress in Fars and Tehran climates
Mostafa Salehi, Fatemeh Nakhaei, SeyedGholamReza Mosavi, Reza Baradaran..... 79

A review on phylogeny of Damask Rose (*Rosa × damascena*)
Mehrnoush Panahi..... 100

Investigating the effect of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles on physiological and phytochemical variations of *Rosa damascena*. Mill. essential oil
Zahra Allahverdi, Mehrab Yadegari, Mohammad Moghaddam 109

Address:

Faculty of Agriculture Science, Islamic Azad University – Gorgan Branch, Daneshjoo St,
Shahid Kalantari Blvd, Gorgan, Golestan, Iran. P.C. No: 717