Journal of Vegetables Sciences
Vol 4, No 7, Spring & Summer 2020, Pages (99-112)
DOI: 10.22034/iuvs.2020.136734.1118

دو فصلنامه علمی- پژوهشی علوم سبزی‌ها
سال ۴- شماره ۷- بهار و تابستان ۱۳۹۹- صفحات (۱۱۲-۹۹)

ارزیابی چند متغیره خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه در ارتباط با عوامل محیطی

عایشه خرمالی[۱]، فائزه سوادکوهی [۲*]، رقیه اسکوئیان[۲]، ایرج مهرگان[۳] و سید جواد موسوی‌زاده[۴]

۱- دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران
۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران
۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۴- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
* نویسنده مسئول: faezeh_savadkoohi775@yahoo.com
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۴- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۲)

چکیده

مارچوبه *Asparagus officinalis* L. پراکنش گسترده‌ای در اکثر اقلیم‌های ایران دارد. هدف از تحقیق حاضر، استفاده از آنالیز چند متغیره به‌منظور درک روابط بین شرایط محیطی و ترکیبات مارچوبه می‌باشد. بدین منظور نمونه‌های گیاهی از نُه رویشگاه در استان‌های مختلف ایران جمع‌آوری شدند و سپس ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها اندازه‌گیری و روابط آن‌ها با عوامل محیطی بر اساس همبستگی کانونیک و رگرسیون گام‌به‌گام آنالیز گردیدند. بر اساس نتایج، متغیرهای اول تا چهارم همبستگی کانونیک بر اساس آزمون Wilks' lambda در سطح یک درصد معنی‌دار شدند. اولین متغیر کانونیک، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را در ارتباط با افزایش میانگین دما نشان داد. با کاهش میانگین حداقل و حداکثر دما در متغیر کانونیک دوم، فنول کل و درصد مهار رادیکال‌های آزاد افزایش و فلاونوئید کاهش یافت. طبق نتایج رگرسیون گام‌به‌گام، هدایت الکتریکی خاک، رطوبت نسبی هوا و ارتفاع، بیشترین تغییرات رادیکال‌های آزاد را به‌عهده داشتند. با توجه به نتایج هر دو آزمون، میانگین دما، رطوبت نسبی و مجموع بارندگی بیشترین اثر را بر خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه دارند. در نهایت به‌منظور حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه، کشت در مناطق با مجموع بارندگی سالیانه ۵۰۰ تا ۹۰۰ میلی‌متر، میانگین دمای ۱۱/۵ تا ۱۷/۵ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۵۰ تا ۷۰ درصد پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اقلیم، رگرسیون گام‌به‌گام، فنول، فلاونوئید، همبستگی کانونیک.

مقدمه

مارچوبه (*Asparagus officinalis* L.) گیاهی چند ساله، علفی و دوپایه از تیره Asparagaceae است. مارچوبه دارای ساقه‌های زیرزمینی (ریزوم‌ها) است که ساقه‌های هوایی خوراکی به‌نام اسپیر (Spear) در بهار از آن رویش می‌کند. افزایش دمای خاک در اواخر زمستان و اوایل بهار سبب به‌وجود آمدن اسپیر می‌گردند. بخش هوایی مارچوبه با انجام فتوسنتز و غذایی و انتقال آن به بخش زیرزمینی، موجب ذخیره مواد غذایی در ریشه‌های متورم و ریزوم‌ها می‌شود. مواد ذخیره‌ای ریزوم در سال آینده انرژی مورد نیاز برای رشد و تولید اسپیر را فراهم می‌کند (Lopez-Anido & Cointry, 2008). مارچوبه گونه‌های زیادی در ایران و جهان دارد.

مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین گونه مارچوبه *A. officinalis* است که گستردگی و پراکندگی زیادی در طبیعت ایران دارد (Mousavizadeh *et al*., 2015; 2016)، که نشان دهنده سازگاری بالای این گونه با شرایط محیطی و اکولوژیکی متنوع کشور است. مارچوبه به‌خوبی در خاک‌های شنی با شوری پایین، خاک‌های رسی در شمال ایران و در خاک‌های رسی با شوری بالا رشد می‌کنند (Ranjbar *et al*., 2020). اما با وجود رشد مارچوبه در اقلیم‌های مختلف ایران، نسبت به سایر محصولات کشاورزی کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Mousavizadeh *et al*., 2017). گونه *A. officinalis* دارای گستردگی خوبی در ایران بوده و از لحاظ سطح پلوئیدی منحصر به فرد بوده و از دیپلوئید (2n=2x=20) تا دکاپلوئید (2n=10x=100) موجود می‌باشند. به‌دلیل داشتن مقاومت به خشکی و سرمای بالا و همچنین به‌دلیل دارا بودن سطح پلوئیدی ویژه، محافظت و نگهداری از آن به‌عنوان یک ژرم‌پلاسم مهم مارچوبه حائز اهمیت می‌باشد (Mousavizadeh *et al*., 2016).

امروزه با توجه به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی فراوانی مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها که در گیاهان وجود دارند (Lotfi *et al*., 2019)، استفاده از آن‌ها در زمینه‌های درمانی و پیشگیری از بیماری‌ها امری معمول شده است. در این بین مارچوبه نیز خواص دارویی و غذایی زیادی دارد. به‌عنوان نمونه از لحاظ دارویی ادرارآور، ضدعفونی کننده، آنتی‌اکسیدان، ضداسپاسم و غیره می‌باشد (Ranjbar *et al*., 2019). با توجه به ارزش غذایی و دارویی مارچوبه، و وجود توده‌های بومی در نقاط مختلف کشور، لزوم شناسایی و مطالعه صفات فیتوشیمیایی آن تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف ضرورت دارد. شرایط محیطی شامل عوامل مختلف اکولوژیکی، جغرافیایی، اقلیمی، خاکی و ارتفاع می‌باشند (Mousavizadeh *et al*., 2017). زیرا زمانی که گیاه با تغییرات اقلیمی مواجه می‌شود، تغییراتی در فیزیولوژی گیاه در جهت سازگاری به محیط جدید شکل می‌گیرد و این سازگاری به‌مرور به‌صورت موروثی به نتاج انتقال می‌یابند (Cseke *et al*., 2006). به‌عنوان نمونه بیان شده است که با افزایش ارتفاع میزان اشعه UV-B افزایش یافته که سبب بیان بیش از حد ژن‌های اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه می‌شوند تا محتویات آنتوسیانین برای جبران اثرات زیان‌بار اشعه ماوراءبنفش تجمع بیشتری داشته باشد (Khoo *et al*., 2017). بیان شده است که شرایط خاک، دما و ارتفاع بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان متابولیت‌های ثانویه جمعیت‌های گیاه بیهلر (*Dorema aucheri* L.) کشت شده در محیط‌های مختلف تأثیرگذار است (Akbrian *et al*., 2017). در مارچوبه نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طی شرایط مختلف محیطی تغییر می‌کند. مثلاً پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز همراه با افزایش تنش اسمزی در محیط کشت افزایش یافته است (Yuxia *et al*., 2004). عوامل محیطی از طریق تأثیر بر مقدار کلی متابولیت‌ها، تأثیر بر ترکیبات تشکیل‌دهنده متابولیت‌ها و همچنین تأثیر بر مقدار تولید وزن خشک بر عملکرد فیتوشیمیایی گیاه اثر می‌گذارند (Cseke *et al*., 2006). از این‌رو گیاهان دارای تنوع بالایی از متابولیت‌های اولیه و ثانویه هستند که به آن‌ها در حفظ تنش‌های محیطی و سازگاری منطقه‌ای کمک می‌کند. پیش‌ماده ساختاری متابولیت‌های ثانویه از متابولیت‌های اولیه حاصل می‌شوند و در گیاهان میزان و کیفیت این مواد تحت تأثیر ژنتیک بوده ولی عوامل اقلیمی نظیر نور، بارندگی، درجه حرارت، باد و ویژگی‌های خاک مثل بافت، اسیدیته، مقدار عناصر غذایی و همچنین عوامل جغرافیایی نظیر ارتفاع از سطح دریا، مقدار

شیب و جهت آن می‌باشد (Cirak *et al*., 2017; Labarrere *et al*., 2019).

با عنایت به مطالعات انجام شده روی *A. officinalis* L.، روابط بین توده‌های مختلف این گیاه مشخص نیست. با توجه به ارزش‌های بالای اکولوژیک، غذایی و دارویی مارچوبه، مطالعه جمعیت‌های مختلف آن می‌تواند کمک شایانی در حل مسائلی از قبیل جغرافیای زیستی، علوم دارویی و بهره‌برداری از این گونه و همچنین شناخت زادآوری آن‌ها نماید. در این تحقیق برای تفهیم بهتر تأثیر شرایط محیطی بر فعالیت آنزیم‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه‌های بومی ایران از روش آماری چند متغیره مانند همبستگی کانونیک و رگرسیون گام‌به‌گام استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

با توجه به پراکنش مارچوبه گونه *Asparagus officinalis* L. در ایران (Mousavizadeh *et al*., 2015; 2016)، رویشگاه‌های استان‌های گلستان، مازندران، کرمان و البرز برای انجام تحقیق تعیین گردیدند. از هر جمعیت هشت فرد جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفتند. مختصات جغرافیایی شامل طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا هر منطقه توسط نرم‌افزار GPS محاسبه و تعیین شدند (جدول ۱). در هنگام جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی از هر منطقه، نمونه خاک نیز جهت بررسی جمع‌آوری شد. برای نمونه‌برداری از خاک هر منطقه، چهار نمونه خاک به‌طور تصادفی و از عمق ۳۰ سانتی‌متری برداشته و به‌طور کامل با هم مخلوط گردید. سپس یک کیلوگرم از آن جهت اندازه‌گیری اسیدیته (pH) و هدایت الکتریکی (EC) به آزمایشگاه منتقل شد. آمار هواشناسی بلند مدت از نزدیک‌ترین ایستگاه‌های هواشناسی دریافت گردید.

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری مارچوبه در ایران

ردیف	محل جمع‌آوری	استان	ارتفاع از سطح دریا	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	نوع گیاه	علامت اختصاری
۱	محمودآباد	مازندران	10	52°19' E	36°38' N	خودرو	مرطوب- معتدل گرم
۲	بلده	مازندران	1722	52°01' E	36°12' N	خودرو	معتدل کوهستانی
۳	گزنک	مازندران	1670	52°12' E	35°53' N	خودرو	نیمه‌مرطوب مدیترانه‌ای
۴	طالقان	البرز	2049	50°54' E	36°10' N	خودرو	مدیترانه‌ای سرد
۵	کرمان	کرمان	690	57°53' E	28°47' N	خودرو	مدیترانه‌ای نیمه‌مرطوب
۶	کرج	البرز	1312	50°92′ E	35°82′ N	زراعی	بیابانی
۷	گرگان	گلستان	47	54°32′ E	36°77′ N	زراعی	معتدل مرطوب
۸	گرگان	گلستان	47	54°29′ E	36°80′ N	زراعی	معتدل مرطوب
۹	گرگان	گلستان	47	54°49′ E	36°90′ N	زراعی	معتدل مرطوب

اندازه‌گیری تانن

جهت اندازه‌گیری تانن از روش فولین دنیز با کمی تغییرات استفاده شد (Nwinuka *et al*., 2005). به این ترتیب که ۰/۵ گرم نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌آرامی جوشید و سپس در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ

(SIGMA-3K30-USA) شدند. یک میلی‌لیتر از محلول فوقانی با هشت میلی‌لیتر آب مقطر، ۰/۵ میلی‌لیتر فولین دنیز و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع مخلوط شدند و جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis 52000- China) قرائت شد. جهت رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های مختلف اسید تانیک (۱۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌ها

تهیه بافر از عصاره اندام هوایی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها

برای این منظور ۰/۲ گرم بخش هوایی مارچوبه به‌وسیله نیتروژن مایع در هاون ساییده شد و یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.8) که حاوی EDTA ۰/۲ مولار و پلی‌وینیل‌پلی پیرولیدون (PVPP) یک درصد بود، به آن اضافه شد و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ انجام شد. محلول شفاف رویی برداشته و برای اندازه‌گیری آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز با استفاده از روش nitroblue tetrazolium (NBT) اندازه‌گیری شد. محلول اندازه‌گیری شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.8)، ال- متیونین ۱۴/۵ میلی‌مولار، NBT ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین چهار میکرومولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و عصاره استخراج آنزیم بود. محلول واکنش به‌مدت ۲۰ دقیقه در اتاقک نور فلورسنت با شدت ۴۰۰۰ لوکس قرار گرفت. جذب نوری در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Chu *et al*., 2000).

آنزیم کاتالاز

یک میلی‌لیتر محلول واکنش کاتالاز که دارای که دارای ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=7) و ۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن بود به‌سرعت با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. واکنش با شروع افزودن عصاره آنزیمی شروع و ۱ دقیقه جذب آن در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Chu *et al*., 2000).

آنزیم پراکسیداز

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم عصاره استخراج با گایوکول ۲۸ میلی‌مولار، H_2O_2 پنج میلی‌مولار و بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) ترکیب شد و به‌مدت یک دقیقه با فاصله‌های یک ثانیه‌ای در طول موج ۴۷۰ نانومتر میزان جذب آنزیمی قرائت شد (Chu *et al*., 2000).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) با ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربیک‌اسید، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱۵ میلی‌مولار H_2O_2 ترکیب شد و طول موج آن با گذشت یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Nakano & Asada, 1981).

اندازه‌گیری فنول کل

میزان دو میلی‌لیتر عصاره متانولی با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب دیونیزه رقیق گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو به محلول فوق اضافه گردید. پس از طی مدت شش دقیقه، به‌مقدار ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم به محلول فوق اضافه گردید. محلول برای مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری (Memmert-Germany) با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در اسپکتروفتومتر میزان عدد جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر یادداشت گردید. با استفاده از منحنی کالیبراسیون اسید گالیک و معادله‌ی به‌دست آمده میزان فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در یک گرم محاسبه گردید (Mcdonald *et al*., 2001).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری فلاونوئید، میزان ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلراید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب دیونیزه)، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم‌استات یک مولار (۲/۴۱ گرم پتاسیم‌استات در ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه)، و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر درون لوله آزمایش ۲۰ میلی‌لیتری مخلوط شد. مخلوط به‌دست آمده برای مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریک نگهداری شد و پس از طی مدت زمان لازم بلافاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۴۱۵ نانومتر میزان جذب اندازه‌گیری شد. برای محاسبه‌ی میزان واقعی فلاونوئید با رجوع به منحنی استاندارد کوئرسیتین و بهره‌گیری از معادله به‌دست آمده و جای‌گذاری اعداد قرائت شده، میزان واقعی فلاونوئید به‌دست آمد (Yisa, 2009).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

میزان یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده را به همراه یک میلی‌لیتر معرف DPPH (دو هزارم گرم معرف DPPH در ۵۰ میلی‌لیتر متانول) به درون لوله آزمایش ۲۰ میلی‌لیتری اضافه شد. سپس لوله‌های آزمایش حاوی محلول به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریک نگهداری شد تا اثر بخشی مهار رادیکالی توسط DPPH صورت پذیرد. پس از طی مدت زمان لازم، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب اندازه‌گیری شد. اعداد قرائت شده با استفاده از فرمول نهایی محاسبه‌ی آنتی‌اکسیدان محاسبه گردیدند (Ebrahimzadeh *et al*., 2010).

$$DPPH = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

DPPH: درصد مهار رادیکال‌های آزاد، Ac: میزان جذب نمونه شاهد، As: میزان جذب هر یک از نمونه‌ها.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش ABTS (3 Azinobis (benzylthiazole)-6-sulphonic)

فعالیت مهار رادیکال ABTS پروتئین‌های هیدرولیز شده تعیین گردید (Cai *et al*., 2004). محلول رادیکال ABTS با ترکیب نسبت حجمی یکسانی از ABTS در غلظت هفت میلی‌مولار و ۴/۴۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات تهیه گردید. ۴۰ میکرولیتر از هر نمونه (عصاره آبی) حاوی چهار میلی‌گرم پروتئین در میلی‌لیتر به چهار میلی‌لیتر محلول رقیق شده ABTS افزوده شد. مخلوط برای ۳۰ ثانیه به‌شدت ورتکس و به‌مدت شش دقیقه در تاریکی قرار داده شد. جذب محلول نهایی در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال ABTS نمونه‌ها بر اساس رابطه ۱ بر حسب درصد محاسبه گردید.

رابطه (۱)

$$AA = (Ablank-Asample)/Ablanke \times 100$$

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

در این روش توانایی آنتی‌اکسیدانی در احیاء آهن مورد سنجش قرار می‌گیرد. برای تهیه واکنش‌گر FRAP بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (pH =۳/۶)، ۱۰ میلی‌مولار TPTZ در ۴۰ میلی‌مولار HCl و محلول کلرید آهن III به نسبت ۱۰:۱:۱ مخلوط می‌شود. به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول FRAP، ۵۰ میکرولیتر عصاره آبی اضافه شده و پس از چهار دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، میزان جذب در ۵۹۳ نانومتر قرائت می‌شود. منحنی استاندارد با کمک سولفات‌آهن II، در محدوده معمول ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومولار ترسیم و نتایج به‌صورت میکرومولار آهن

II در گرم نمونه بیان شد (Faria e*t al*., 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

جهت مشخص شدن مهم‌ترین عوامل محیطی بر هر یک از خواص آنتی‌اکسیدانی، از ضرایب رگرسیون گام‌به‌گام استفاده گردید. برای تعیین رابطه بین شرایط محیطی و خواص آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی از تجزیه همبستگی کانونیک استفاده شد. تعیین تعداد متغیرهای کانونیک و انتخاب همبستگی‌های کانونیک مناسب بر مبنای مقادیر همبستگی‌های کانونیک تصحیح شده و آزمون Wilks' lambda در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

گونه *officinalis* از جنس *Asparagus* در ایران دارای توده‌هایی است که از ارتفاع پایین مانند ۱۰ متر در محمود آباد استان مازندران، ۴۷ متر در گرگان استان گلستان، ۶۹۰ متر در کرمان و تا ارتفاع بالا مانند ۲۰۴۹ متر در طالقان استان البرز رشد می‌کند. همچنین در اقلیم‌های مختلفی مانند معتدل مرطوب، معتدل گرم، معتدل کوهستانی، مدیترانه‌ای و حتی اقلیم بیابانی رویش دارد (جدول ۱). البته مارچوبه در اقلیم‌های معتدل برخلاف اقلیم‌های گرم و سرد، دارای فصل رشد طولانی‌تری است (Mousavizadeh *et al*., 2017).

با توجه به این‌که شرایط محیطی و خاکی زیادی به‌طور هم‌زمان روی رشد و تولید ترکیبات مارچوبه اثرگذار هستند و مقایسه اثرات جداگانه آن‌ها به‌دلیل داشتن اثر متقابل روی یکدیگر تا حدودی دشوار و گیج‌کننده بود از روش‌های آماری چند متغیره همبستگی کانونیک استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه همبستگی کانونیک، شش متغیر کانونی به‌دست آمد (جدول ۲) که مقادیر ضرایب همبستگی کانونیک متغیرهای اول تا چهارم ۰/۹۸ تا ۰/۹۹ می‌باشند. در ادامه مقدار توان دوم همبستگی کانونیک محاسبه گردید. توان دوم همبستگی کانونیک بیانگر مقدار واریانس متغیر کانونیک یک گروه است که توسط متغیر کانونیک گروه دوم توجیه می‌شود. این مقادیر برای همبستگی کانونیک اول و دوم به‌ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۹۸ می‌باشند. به‌عبارت دیگر ۹۹ درصد تغییرات اولین متغیر کانونیک خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه توسط اولین متغیر کانونیک شرایط محیطی توجیه می‌شود. عدد مربوط به مقدار ویژه نیز برای متغیر اول ۴۸/۵۷ در مقابل ۲۵/۲۳ و ۱۶/۴۳ متغیر دوم و سوم به‌دست آمد که نشان‌دهنده اهمیت بالای متغیر اول در تفسیر نتایج می‌باشد. با توجه به آزمون لامبدا ویلکس مقدار همبستگی کانونیک در متغیرهای اول، دوم، سوم و چهارم در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشند ($P<0.01$)، اما متغیر پنجم و ششم به‌علت کوچک بودن مقدار همبستگی کانونیک معنی‌دار نشد (جدول ۲).

جدول ۲- همبستگی کانونیکال بین خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه با شرایط محیطی

متغیر کانونی	همبستگی کانونیک	توان دوم همبستگی کانونیک	مقدار ویژه	لامبدا ویلکس
۱	۰/۹۹	۰/۹۹	۷۴۰/۴	۴۸/۵۷**
۲	۰/۹۹	۰/۹۸	۹۵/۸	۲۵/۲۳**
۳	۰/۹۹	۰/۹۸	۶۶/۳	۱۶/۴۳**
۴	۰/۹۸	۰/۹۷	۴۲/۲	۸/۵۱**
۵	۰/۸۰	۰/۶۴	۱/۸۴	۱/۷۶ns
۶	۰/۱۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۸ns

** ($p<۰/۰۰۱$)، ns عدم معنی‌داری.

در جدول ۳ نتایج همبستگی کانونیک بین دو گروه ارائه شده است. ضرایب کانونیک استاندارد شده سهم هر متغیر را در تشکیل متغیر کانونیک در مقابل متغیرهای دیگر بروز می‌نماید (Mousavizadeh *et al*., 2017). بر این اساس ضرایب کانونیک استاندارد شده اولین متغیر کانونیک مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه نشان داد که آنزیم کاتالاز با اثر مثبت سهم مؤثری در تشکیل این متغیر کانونیک دارد. مقادیر این ضرایب در اولین متغیر کانونیک مربوط به شرایط محیطی حاکی از تأثیر زیاد و مثبت میانگین دمای محیط است که بیشترین سهم را در تشکیل متغیر کانونیک اول دارا می‌باشد. به‌عبارت دیگر مهم‌ترین عاملی که در تغییرات آنزیم کاتالاز مؤثر است میانگین دمای محیط می‌باشد. بعد از آن میانگین حداکثر دمای محیط به‌عنوان عامل دوم اثرگذار است. بدین صورت که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش میانگین حداکثر دمای محیط کاهش می‌یابد (جدول ۳).

در متغیر کانونیک دوم با کاهش میانگین حداقل و حداکثر دما، فنول و DPPH افزایش یافته و فلاونوئید کاهش می‌یابد. در متغیر کانونیک دوم بعد از میانگین دما، بارندگی کل، میانگین حداقل و حداکثر دما، رطوبت نسبی به‌عنوان مهم‌ترین عامل متغیر کانونیک دوم وارد معادله شده و اثربخشی خود را نشان داده است. در همین متغیر می‌توان پی برد که با کاهش رطوبت نسبی، مقدار فنول، DPPH و فعالیت آسکوربات پراکسیداز افزایش می‌یابد ولی فلاونوئید و FRAP کاهش می‌یابد (جدول ۳). عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات مختلف فنولیک هستند که در مجموع به آن‌ها پلی‌فنول گفته می‌شود، پلی‌فنول‌ها دارای ترکیباتی مانند اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها هستند (Lotfi *et al*., 2019). فنول و فلاونوئیدها هم از جمله ترکیبات موجود در مارچوبه می‌باشند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اصلی، از جمله خواص دارویی مهم این گیاه را شامل می‌شوند (Ranjbar *et al*., 2019). فنول‌ها در بین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، دارای قدرت احیا کنندگی بالا می‌باشند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به فرم خنثی تبدیل کنند (Lotfi *et al*., 2019). فلاونوئیدها نیز در پاسخ به اشعه ماوراء بنفش برای محافظت بافت‌های درونی، در سلول‌های اپیدرم تجمع پیدا می‌کنند (Jakola & Hohtola, 2010).

دومین متغیر کانونیک مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه نشان داد که فنول و DPPH با اثر مثبت و فلاونوئید با اثر منفی سهم مؤثری در تشکیل این متغیر کانونیک دارند. بدین صورت که فنول و DPPH با افزایش میانگین دما و بارندگی کل افزایش یافته و در عین حال فلاونوئید کاهش می‌یابد. در متغیر کانونی اول بارندگی کل و رطوبت نسبی هیچ‌کدام اثربخشی خود را نشان ندادند. در واقع در درجه اول، میانگین دما و در درجه دوم، میانگین حداکثر و بعد میانگین حداقل دما بر خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه اثرگذار هستند و بارندگی کل و رطوبت نسبی در درجه چهارم و پنجم اهمیت قرار می‌گیرند. در سومین متغیر کانونیک، تانن با اثر منفی، بیشترین تأثیر را در تشکیل متغیر کانونیک سوم داشته که تحت تأثیر میانگین دما و بارندگی کل با اثر مثبت قرار گرفت. بدین صورت که با افزایش میانگین دما و بارندگی کل موجب کاهش تانن گردید (جدول ۳).

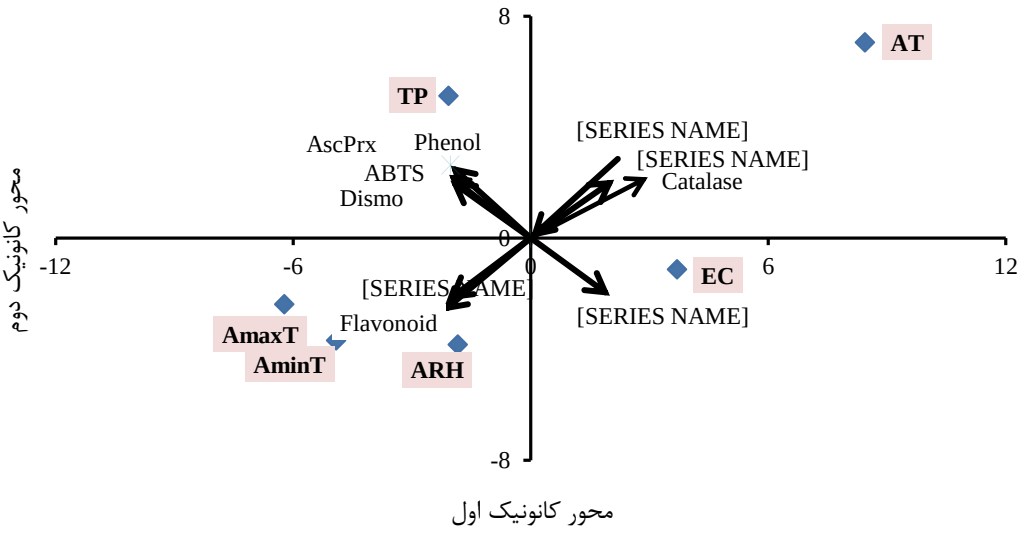
در متغیر کانونی چهارم هدایت الکتریکی خاک با اثربخشی روی خواص آنتی‌اکسیدانی، سبب افزایش DPPH و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز مارچوبه شد. یکی از

ویژگی‌های مهم مارچوبه مقاومت بالای آن به شوری می‌باشد. البته محدوده تحمل به شوری در گونه‌های مختلف مارچوبه و حتی رقم‌های آن‌ها متفاوت است. بر اساس مطالعه انجام شده تفاوت بین گونه‌های مارچوبه در مقاومت به شوری می‌تواند به اختلاف در متابولیسم، ظرفیت‌های متفاوت آن‌ها برای جذب و انتقال آب منتهی گردد که سبب تطابق اکولوژیکی برای افزایش جذب و حفاظت آب در مارچوبه می‌شود (Mousavizadeh *et al*., 2017; 2018). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مارچوبه طی تنش شوری تغییر می‌کند. بر این اساس فعالیت سوپر اکسید دسموتاز افزایش معنی‌داری همراه با افزایش تنش شوری نداشت (Zhang *et al*., 2006). گزارش شده است که شوری همانند دیگر تنش‌های محیطی می‌تواند سبب تولید رادیکال‌های آزاد جهت کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو شود. بر این اساس گیاهان از یک سیستم پیچیده دفاع آنتی اکسیژن (ROS) همانند سوپر اکسید (O_2^-)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) در درون سلول برخوردارند. این ترکیبات خسارت زیادی را از طریق اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به سلول وارد می‌کنند (Madavarao *et al*., 2006). در این بین گیاهان نیز از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌کنند. از آنتی‌اکسیدان‌های درگیر در این سیستم که دارای وزن مولکولی کمی هستند می‌توان به کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز اشاره کرد. این آنزیم‌ها نقش بسیار مهمی در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول گیاهان دارند که بسته به گونه گیاهی و شدت تنش میزان فعالیت آن‌ها در گیاهان تغییر می‌کند (Alscher *et al*., 1997). با دقت در نتایج همبستگی کانونی، این نکته قابل ذکر است که DPPH، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در سه متغیر کانونی اول تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارهای به‌کار رفته قرار نگرفتند (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد میزان واریانس ژنتیکی در این صفت‌ها بالا بوده و کمتر تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند.

در شکل ۱ ارتباط خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه با شرایط محیطی بر اساس متغیر اول و دوم همبستگی کانونیک آورده شده است. زاویه‌ای که پیکان‌ها با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌کنند بیانگر رابطه بین آن‌ها است. اگر پیکان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و متغیر شرایط محیطی در یک جهت باشند همبستگی بین آن‌ها برابر یک و مثبت است. اگر عمود بر هم باشند بدون همبستگی می‌باشند و در صورتی که خلاف جهت قرار گیرند دارای همبستگی منفی هستند (Mousavizadeh *et al*., 2017). بر این اساس DPPH، تانن و کاتالاز همبستگی مثبت و هم‌جهت با میانگین دما و همبستگی منفی و معکوس با رطوبت نسبی، میانگین حداقل و حداکثر دما دارند. فنول کل، ABTS، آنزیم‌های آسکوربات دیسموتاز و سوپر اکسید دیسموتاز همبستگی مثبت و همسو با بارندگی کل و همبستگی منفی با شوری نشان دادند. فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر از سایر صفات تحت تأثیر شوری خاک قرار گرفت (شکل ۱).

جدول ۳- ضرایب کانونیک در چهار متغیر کانونیک (همبستگی کانونیک بین خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه با شرایط محیطی)

متغیر	ضرایب کانونیک استاندارد شده			
آنتی‌اکسیدان	۱	۲	۳	۴
فنول	-۰/۰۲	۰/۶۱	۰/۳۴	۰/۱۵
فلاونوئید	-۰/۲۲	-۰/۶۵	۰/۵۶	۰/۱۸
DPPH	۰/۲۰	۰/۸۵	-۰/۰۷	۱/۰۲
تانن	۰/۱۱	۰/۱۰	-۰/۸۱	۰/۲۷
ABTS	-۰/۰۳	۰/۰۷	-۰/۰۵	۰/۰۸
FRAP	-۰/۰۸	-۰/۲۴	۰/۰۹	-۰/۰۳
پراکسیداز	۰/۰۰۳	-۰/۰۸	۰/۲۸	-۰/۵۷
آسکوربات پراکسیداز	-۰/۰۶	۰/۲۸	۰/۱۲	-۰/۰۰۹
سوپر اکسید دیسموتاز	-۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۰۶	-۰/۸۲
کاتالاز	۰/۹۶	۰/۱۹	۰/۴۳	۰/۱۴
شرایط محیطی				
میانگین حداقل دمای سالیانه	-۴/۹۱	-۳/۷۰	-۱/۴۸	۳/۷۵
میانگین حداکثر دمای سالیانه	-۱۳/۲۲	-۲/۳۹	-۰/۵۴	۵/۵۶
میانگین دما	۱۷/۴۵	۷/۰۵	۱/۴۳	-۹/۲۵
بارندگی کل	-۰/۰۷	۲/۱۲	۱/۵۰	-۱/۰۲
میانگین رطوبت نسبی	-۰/۸۴	-۱/۸۵	-۰/۳۷	۱/۴۰
شوری خاک	۰/۷۰	-۰/۱۳	۰/۷۸	۱/۱۱



شکل ۱- نمودار دوبعدی همبستگی کانونیک خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه با عوامل محیطی بر اساس ضرایب کانونیک استاندارد شده

AminT: میانگین حداقل دمای سالیانه، AmaxT: میانگین حداکثر دمای سالیانه، AT: میانگین دما، TP: بارندگی کل، EC: شوری خاک و ARH: میانگین رطوبت نسبی خاک

نتایج آنالیز رگرسیون گام‌به‌گام (جدول ۴) نشان می‌دهد که میانگین حداکثر دما از مجموع تیمارهای دیگر مورد بررسی در این تحقیق، به تنهایی ۰/۳۲ تغییرات مربوط به فنول کل را توجیه می‌کند که نشان دهنده اهمیت بیشتر میانگین حداکثر دما نسبت به سایر شرایط محیطی بر فعالیت مقدار فنول کل است. از طرف دیگر ارتفاع از سطح دریا در گام دوم وارد معادله شده که نشان‌دهنده اهمیت آن بعد از میانگین حداکثر دما می‌باشد. به‌طوری‌که میانگین حداکثر دما و ارتفاع از سطح دریا همراه با مجموع بارندگی ۵۸ درصد تغییرات را در فنول کل به عهده داشتند (R^2= ۰/۵۸). ارتفاع از سطح دریا از عوامل مؤثر بر رشد و تولید ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان می‌باشد، به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع میزان تشعشع و کیفیت نور خورشید و همچنین اختلاف دمای شب و روز افزایش یافته که در نتیجه با کاهش تنفس در شب همراه خواهد شد و در نتیجه میزان ذخیره کربوهیدرات را بالا افزایش می‌یابد (Cirak *et al.*, 2017).

فلاونوئید برعکس فنول کل، در ابتدا تحت تأثیر رطوبت نسبی (R^2= ۰/۳۴) قرار می‌گیرد. در گام دوم تحت اثر میانگین دما قرار می‌گیرد. به‌طوری کلی مجموع رطوبت نسبی، میانگین دما، مجموع بارندگی، هدایت الکتریکی و pH ۸۸ درصد تغییرات را در فلاونوئید توجیه می‌کنند (R^2= ۰/۸۸) (جدول ۴).

فنول و فلاونوئیدها چون منشأ مشترک دارند و افزایش هر کدام از آن‌ها باعث افزایش دیگری می‌شود و در اکثر موارد افزایش فنول‌ها و فلاونوئیدها باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود به جز در موارد محدودی مثل گل پامچال و مهر سلیمان که با افزایش ارتفاع و کاهش دمای هوا بعضی از آنزیم‌های مؤثر در تولید فنول و فلاونوئیدها غیرفعال می‌شوند و میزان آن‌ها کاهش می‌یابد. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌طور قابل‌توجهی اکسید شدن سوبستراها را به تأخیر می‌اندازند یا از آن جلوگیری می‌کنند. در حقیقت، رادیکال‌های آزاد محصول جانبی متابولیسم ارگانل‌ها هستند و اثرات مخرب آن‌ها از طریق سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی خنثی می‌شوند (Caunii *et al.*, 2015; Alkadi, 2020).

بر اساس نتایج به‌دست آمده، مجموع بارندگی به تنهایی ۰/۳۷ و ۰/۴۱ تغییرات را به‌ترتیب در میزان DPPH و تانن را توجیه می‌کند که نشان‌دهنده اهمیت بالای بارندگی بر صفات مذکور است. از طرف دیگر هدایت الکتریکی خاک و تعداد روزهای با دمای صفر و کمتر در گام دوم به‌ترتیب در میزان DPPH و تانن وارد معادله شده که نشان‌دهنده اثربخشی آن بعد از بارندگی می‌باشد. شوری خاک و رطوبت نسبی هوا همراه با ارتفاع از سطح دریا به‌ترتیب بالاترین تغییرات مربوط به آنتی‌اکسیدانی ABTS و FRAP را بر عهده دارند (جدول ۴).

یکی از خصوصیات بیوشیمیایی مهم در گیاهان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد که نشان‌دهنده قابلیت عصاره گیاه در برابر مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد. تفاوت در سطح ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ناشی از عوامل محیطی می‌تواند به توانایی گیاهان در مقابله با تنش غیرزنده کمک کند (Cirak *et al.*, 2017). گیاه در مقابل ارتفاع‌های مختلف واکنش‌های مختلفی را از خود نشان می‌دهد. یکی از آن‌ها افزایش تولید رادیکال آزاد می‌باشد. تولید رادیکال آزاد هم نوعی واکنش منفی تلقی می‌شود و هم واکنش مثبت. رادیکال‌های آزاد ترکیبات بیولوژیکی هستند که حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده‌اند و برای جبران کمبود الکترون باعث

تخریب DNA، پروتئین‌ها و غیره می‌شوند. چون در اوربیتال آخر رادیکال آزاد یک الکترون کم دارد و برای جبران الکترون خود به پروتئین‌ها و غیره می‌چسبد و آن‌ها را تخریب می‌کند، بنابراین نقش منفی دارند (Alkadi, 2020)، از طرفی وقتی گیاه تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد بعضی از قسمت‌ها نباید فعال شوند بنابراین بعضی از پروتئین‌ها که در مسیر فعال می‌شوند باید از کار بیافتند که رادیکال آزاد این کار را انجام می‌دهد، بنابراین نقش مثبت خواهند داشت. همچنین گیاه برای جلوگیری از آسیب پروتئین‌های خودش از دو طریق آنزیمی و غیرآنزیمی فعالیت‌هایی را تنظیم می‌کند تا رادیکال‌های آزاد را مهار کند. روش غیرآنزیمی با تولید آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل فنول‌ها و فلاونوئیدها کمبود الکترون رادیکال‌های آزاد را جبران می‌کنند و باعث مهار می‌شود. که با DPPH یا درصد مهار رادیکال آزاد سنجیده می‌شود و به‌عنوان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود (Alkadi, 2020; Caunii *et al*., 2015).

ضرایب رگرسیون گام‌به‌گام (جدول ۴) نشان می‌دهد که تعداد روزهای با دمای صفر و کمتر، به‌ترتیب ۰/۶۸، ۰/۱۶ و ۰/۶۵ تغییرات مربوط به آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را توجیه می‌کنند که نشان‌دهنده اهمیت یکسان دماهای یخبندان بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است. میانگین دما همراه با رطوبت نسبی به‌ترتیب ۳۱ و ۲۸ درصد تغییرات سوپراکسیددیسموتاز مارچوبه را به عهده داشتند (R^2= ۰/۷۴). با توجه به نتایج آزمون چند متغیره همبستگی کانونی و رگرسیون گام‌به‌گام، از بین متغیرهای شرایط محیطی میانگین دما، رطوبت نسبی و مجموع بارندگی بیشترین اثر را بر خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه دارند. بنابراین به‌منظور حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه، کشت در مناطق با مجموع بارندگی سالیانه حدود ۵۰۰ تا ۹۰۰ میلی‌متر، میانگین دمای ۱۱/۵ تا ۱۷/۵ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۵۰ تا ۷۰ درصد پیشنهاد می‌باشد.

جدول ۴- چگونگی تأثیر تیمارهای مورد استفاده بر صفات مارچوبه با ضرایب رگرسیون گام‌به‌گام (Stepwise)

منابع تغییر	فنول کل	فلاونوئید	DPPH	تانن	ABTS	FRAP	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپر اکسید دیسموتاز	کاتالاز
میانگین حداقل دما	–	–	–	–	–	–	۰/۰۳	–	۰/۱۰	–
میانگین حداکثر دما	۰/۳۲	–	–	–	–	–	۰/۰۵	–	۰/۱۲	–
میانگین دما	–	۰/۲۶	–	–	–	۰/۰۵	–	–	۰/۳۱	–
بارندگی کل	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۳۷	۰/۴۱	۰/۰۵	۰/۱۱	–	–	۰/۱۲	۰/۲۳
میانگین رطوبت نسبی	–	۰/۳۴	۰/۰۷	–	۰/۰۵	۰/۳۱	–	۰/۰۲	۰/۲۸	–
pH	–	۰/۰۹	–	–	–	۰/۰۹	۰/۰۵	–	–	۰/۰۴
EC	–	۰/۱۷	۰/۳۰	–	۰/۱۹	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	–	۰/۰۵
ارتفاع	۰/۱۸	–	–	۰/۰۷	–	۰/۳۱	۰/۰۳	–	–	۰/۰۲
تعداد روزهای با دمای صفر و کمتر	-	–	–	۰/۱۲	۰/۰۷	–	۰/۶۸	۰/۱۶	–	۰/۶۵
مجموع	۰/۵۸**	۰/۸۸**	۰/۷۵**	۰/۶۱**	۰/۳۷**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۰/۲۰*	۰/۷۴**	۰/۹۸**

** (p<۰/۰۰۰۱)، اعداد معرف Partial R-square می‌باشند.

نتیجه‌گیری کلی

میزان بالای متابولیت ثانویه از اهداف مهم در گیاهان با رویکرد دارویی می‌باشد که این هدف مهم با شناسایی مکان مناسب کشت امکان‌پذیر است. تفاوت در مقادیر کمی ترکیب‌های فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی بین توده‌های مناطق مختلف گیاهان ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاه‌ها می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که گیاه مارچوبه از پراکنش گسترده‌ای در ایران برخوردار است و توده‌های مارچوبه تنوع زیادی از منظر ترکیبات فیتوشیمیایی نشان دادند از این‌رو منابع ژنتیکی ارزشمندی برای برنامه‌های اصلاحی هستند. هر چند رشد و کیفیت ترکیبات مارچوبه تحت تأثیر ژنتیک می‌باشد ولی شرایط محیطی محل نمو باعث ایجاد تغییراتی در رشد و کیفیت مواد مؤثرهٔ آن‌ها می‌شود. با توجه به نتایج آزمایش می‌توان تفاوت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بین توده‌های مارچوبه مورد مطالعه در این تحقیق را علاوه بر ژنوتیپ، به عوامل مختلفی مانند ارتفاع، رطوبت نسبی، میزان بارش و متوسط دما نسبت داد. از این‌رو خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه تحت تأثیر شرایط محیطی قرار داشته و شدت تأثیر هر کدام از پارامترهای اقلیمی بر جزء به جزء ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متفاوت می‌باشد. ترکیبات بسیاری در مارچوبه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن را تشکیل می‌دهند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مارچوبه هم به مقابله با فعالیت رادیکال‌های آزاد تولید شده از عوامل محیطی می‌پردازد و هم در صورت مصرف، در بدن انسان از رادیکال‌های آزاد حفاظت می‌نماید. پارامترهای آنتی‌اکسیدانی (فنول، فلاونوئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) از اجزای بسیار مهم ترکیبات بیوشیمیایی مارچوبه را شامل می‌شوند که با شرایط اقلیمی همبستگی بالایی دارند.

بر اساس نتایج ضرایب همبستگی کانونیک در درجه اول، میانگین دما و در درجه دوم، میانگین حداکثر و بعد میانگین حداقل دما بر خواص آنتی‌اکسیدانی مارچوبه اثرگذار هستند و بارندگی کل و رطوبت نسبی در درجه چهارم و پنجم اهمیت قرار می‌گیرند. در مکان‌هایی که ارتفاع از سطح دریا پایین‌تر است میانگین متوسط دما و میانگین حداکثر دمای بالاتری دارند در نتیجه شروع گرمای زودرس در اواخر زمستان، گیاهان زودتر وارد مرحله شروع اسپیردهی می‌شوند و دوره گلدهی سریع‌تری دارند. در این مناطق مارچوبه‌ها از فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری برخوردار هستند، تانن بالاتری دارند و از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری بر اساس DPPH برخوردارند. از سوی دیگر در مکان‌هایی که ارتفاع از سطح دریا بالاتر است و میانگین متوسط دما و میانگین حداقل دمای کمتر دارند، اسپیردهی با تأخیر در فروردین و اردیبهشت انجام می‌شود. اما به‌دلیل قرارگیری در ارتفاع بالاتر، ترکیبات فلاونوئیدی بیشتری دارند و از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری بر اساس FRAP برخوردارند داشتن آگاهی در مورد تغییرات ترکیبات فیتوشیمیایی به همراه تغییرات شرایط اقلیمی و موقعیت جغرافیایی می‌تواند برای گزینش روش‌های مناسب اصلاحی و اهلی‌کردن مارچوبه مورد استفاده قرار گیرد.

References

- Akbrian, A., Rahimmalek, M., Sabzalian, M. R. & Saeidi, G. (2017). Assessment of phytochemical, morphological and antioxidant variation of bilehar (*Dorema aucher*i) populations cultivated in different environmental conditions. *Journal of Medicinal Plants*, 2(62), 120-135.

- Alkadi, H. (2020). A review on free radicals and antioxidants. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 20(1), 16-26.
- Alscher, R. G., Donahue, J. L. & Cramer, C. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 224-233.
- Chu, Y. H., Chang, C. L. & Hsu, H. F. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), 561-566.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157-2184.
- Caunii, A., Butu, M., Rodino, S., Motoc, M., Negrea, A., Samfira, I. & Butnariu, M. (2015). Isolation and separation of inulin from *Phalaris arundinacea* roots. *Revista de Chimie*, 66(4), 472-476.
- Cirak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Seyis, F. & Yayla, F. (2017). Altitudinal changes in secondary metabolite contents of *Hypericum androsaemum* and *Hypericum polyphyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 70, 108-115.
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S. L., Duke, J. A. & Brielmann, H. L. (2006). Natural products from plants 2th Ed. CRC Press. Florida. 569 p.
- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M. & Eslami, B. (2010). Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. *Central European Journal of Biology*, 5(3), 338-345.
- Faria, A., Oliveira, J., Neves, P., Gameiro, P., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. & Mateus, N. (2005). Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6896-6902.
- Jaakola, L. & Hohtola, A. (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell & Environment*, 33(8), 1239-1247.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T. & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1-21.
- Labarrere, B., Prinzing, A., Dorey, T., Chesneau, E. & Hennion, F. (2019). Variations of secondary metabolites among natural populations of sub-antarctic *Ranunculus* species suggest functional redundancy and versatility. *Plants*, 8(7), 234-241.
- Lopez-Anido, F. & Cointry, E. (2008). Asparagus. In: J. Prohens & F. Nuez (Eds.), Vegetables II: Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, and Solanaceae. Handbook of plant breeding. (pp. 123-144) Springer, New York.
- Lotfi, S., Kordsardouei, H. & Oloumi, H. (2019). Study of total phenolic content and antioxidant capacity of the ethanolic extracts of two medicinal plants, *Hibiscus sabdariffa* L. and *Amaranthus caudatus* L. *Banat's Journal of Biotechnology*, 10(19), 66-74.
- Madavarao, K. V., Raghavendra, A. S. & Janardha, K. (2006). Physiology and molecular biology of stress Tolerance in Plants. Springer. 345 p.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M. & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73-84.
- Mousavizadeh, S. J., Hassandokht, M. R. & Kashi, A. (2015). Multivariate analysis of edible Asparagus species in Iran by morphological characters. *Euphytica*, 206(2), 445-457.

- Mousavizadeh, S. J., Hassandokht, M. R., Kashi, A., Gil, J., Cabrera, A. & Moreno, R. (2016). Physical mapping of 5S and 45S rDNA genes and ploidy levels of Iranian Asparagus species. *Scientia Horticulturae*, 211, 269-276.
- Mousavizadeh, S. J., Hassandokht, M. R. & Kashi, A. (2017). In vitro Response of Asparagus breslerianus to NaCl. *Journal of Medicinal plants and By-product*, 6(2), 153-163.
- Mousavizadeh, S. J., Hassandokht, M. R., Gil, J., Millan, T. & Moreno, R. (2017). Assessment of genetic diversity in Iranian Asparagus spp. related to garden asparagus. In *XIV International Asparagus Symposium*, 1223, 39-44.
- Mousavizadeh, S. J., Hassandokht, M. R. & Kashi, A. (2019). Analysis of nutrients content of Iranian Asparagus species and Its relationship with environmental conditions by canonical correlation. *Plant Production Technology*, 18(2), 121-133. (In Farsi)
- Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Nwinuka, N. M., Ibeh, G. O. & Ekeke, G. I. (2005). Proximate composition and levels of some toxicants in four commonly consumed spices. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 9(1), 150-155.
- Ranjbar, M. E., Ghahremani, Z. & Mousavizadeh, S. J. (2019). Iranian Asparagus nutritional, Medicinal and genetic characteristics. LAP Lambert Academic publishing. 58 p.
- Ranjbar, M. E., Ghahremani, Z., Mousavizadeh, S. J., Barzegar, T. & Gil, J. (2020). Evaluation of progeny produced through inter and intra-species crossing between Iranian and European Asparagus (*Asparagus* spp.). *Journal of Vegetables Sciences*, 3(2), 15-29. (In Farsi)
- Yisa, J. (2009). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of Scoparia dulcis and Nymphaea lotus. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 3975-3979.
- Yuxia, Z., Zhigang, L., Yanshu, W., Weiwei, T. & Xiaoyan, D. (2004). Elementary study on the mechanism of drought resistance of *Asparagus Officilins*. *Zhongguo Nong xue Tong bao-Chinese Agricultural Science Bulletin*, 20(6), 236-239**.**
- Zhang, Y. X., Tan, W. W., Wang, Y. S. & Wei, J. H. (2006). Effect of alkali-salt stress on anti-oxidative enzymes of *Asparagus Officinalis* [J]. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities (Natural Sciences)*, 2(21), 165-168.