بررسی تنوع مورفولوژیکی، محتوای فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی جمعیت‌های مختلف گونه‌های *Nepeta nuda* و *Nepeta crassifolia* در رویشگاه‌های استان‌های اردبیل و آذربایجان شرقی

رسول نریمانی[۱]، محمد مقدم*[۲]، عبداله قاسمی پیربلوطی[۳]، دانیال شکوهی[٤]

[۱]دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[۲]دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[۳]گروه کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

[٤]کارشناس‌ارشد گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهان زراعی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹٦/۲/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹٦/۷/۲۳

چکیده

جنس نپتا (*Nepeta* L.) متعلق تیره نعناعیان (Lamiaceae)، حاوی گونه‌های مختلف یک ساله و چندساله می‌باشد که در نقاط مختلف آسیا، اروپا و شمال آفریقا یافت می‌شوند. این تحقیق به‌منظور بررسی تنوع مورفولوژیکی، محتوای فنل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ٦ جمعیت متعلق به دو گونه *Nepeta nuda* و *Nepeta crassifolia* در تابستان ۱۳۹٤ در دو استان اردبیل و آذربایجان شرقی انجام شد. نمونه‌برداری در زمان گلدهی صورت گرفت. صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، طول و عرض برگ، تعداد گره، طول گل‌آذین، طول میانگره و طول شاخه فرعی بود. عصاره متانولی به روش خیساندن، میزان فنل با روش فولین – سیکالتو و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از ظرفیت مهار رادیکال‌های DPPH انجام پذیرفت. آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نتایج نشان داد در گونه *Nepeta crassifolia* جمعیت ۱ (رضی) به لحاظ صفات مورفولوژیکی بر دیگر جمعیت‌های این گونه برتری داشت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با (۷٤/۹٦ درصد) و فنل کل (۹/۸۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن‌تر) در بین جمعیت‌های این گونه به‌ترتیب مربوط به گل و برگ جمعیت ۳ (گردنه حیران) بود. همچنین در مورد گونه *Nepeta nuda* بیشترین ارتفاع بوته، طول و عرض برگ، تعداد گره مربوط به جمعیت ٦ (مشکین شهر) و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل در برگ و گل این گونه به‌ترتیب در جمعیت‌های ۵ (هریس) و ٤ (مشکین- هریس) مشاهده گردید. به‌طورکلی در بین دو گونه بیشترین فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت ۳ (گردنه حیران) متعلق به گونه *Nepeta crassifolia* بود. به نظر می‌رسد ارتفاع از سطح دریا تاثیر به سزایی در افزایش محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی جمعیت‌ها داشت. جمعیت‌های ۱ و ٦ از هر دو گونه گیاهی از نظر صفات مورفولوژیک مورد ارزیابی، مطلوب بوده به‌طوری‌که دربرنامه‌های اصلاحی و اهلی کردن، این جمعیت‌ها می‌توانند مورد توجه قرارگیرند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پونه‌سای، جمعیت‌های مختلف، فنل کل، صفات مورفولوژیکی

*نویسنده مسئول: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

جنس *Nepeta* L (متعلق به تیره نعنا) با نام فارسی پونه‌سای دارای ۲۵۰ گونه از شمال آفریقا تا اروپا و آسیا پراکنده می‌باشند. تاکنون ٦٧ گونه از این جنس در ایران شناسایی شده است که ۳۹ گونه از آنان بومی ایران می‌باشد (Mozaffarian, 2006). با مرور تحقیقاتی که تاکنون در مورد جنس پونه‌سای (Nepta) به عمل آمده است، ملاحظه می‌شود که این جنس بیشتر حاوی ترکیبات فلاونوئیدی از زیر گروه فلاون‌ها می‌باشد (Jamzad et al., 2003). از ترکیبات دیگر این جنس می‌توان به ایریدوئیدها، فنل‌ها و دی‌ترپن‌ها اشاره نمود (Takeda et al., 1996; Takeda et al., 1998; Fraga et al., 1998).

تحقیقاتی انجام گرفته در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این جنس گیاهی صورت پذیرفته است (Adiguzel et al., 2009; Tepe et al., 2007). پژوهش‌های پراکنده‌ای نیز در مورد اثرات حشره‌کشی، ضدالتهابی، ضددردی و ضد اضطرابی این گیاهان انجام شده است (Ali et al., 2012). برخی از گونه‌های جنس پونه‌سای به‌طور وسیعی در طب سنتی به‌دلیل داشتن اثرات خلط‌آور، ضد عفونی‌کننده، ضدسرفه، ضدآسم و تب بر استفاده می‌شوند. نوشیدنی‌ها و دم‌کرده تهیه شده از اندام‌های هوایی گیاه *Nepeta crispa* Willd. در طب سنتی به‌عنوان آرام‌بخش، ملین، ضدنفخ، مقوی اعصاب و در اختلالات تنفسی استفاده می‌شوند. گیاه *N. cataria* L. به‌عنوان مقوی و ضدعفونی‌کننده در درمان سرماخوردگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. عصاره برخی گونه‌های جنس پونه‌سای دارای اثر مدر و آنتی‌باکتریال می‌باشند و در تهیه پمادها برای بهبود اختلالات پوستی و اگزما به کار می‌روند (Ali et al., 2012).

محل رویش گیاهان، موقعیت مکانی و منشاء آن‌ها از جمله عواملی هستند که می‌تواند برخصوصیات رویشی و مواد موثره گیاهان دارویی تأثیر فراوانی داشته باشد. در تحقیقات متعددی ارتباط موثر بین شرایط رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی و همبستگی بالا بین منشاء جغرافیایی و مواد موثره گیاهان دارویی بررسی شده است. به‌طوری‌که عوامل محیطی سبب بروز تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و همچنین کمیت و کیفیت مواد موثره آن‌ها می‌گردد (Parnbam and Kesselring, 1985; Bertome et al., 2007).گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه بوده و مواد مؤثره اولیه بسیاری از داروها می‌باشند. مواد مذکور اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرارمی‌گیرد. به‌طوری که عوامل محیطی سبب تغییراتی دررشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و کیفیت مواد مؤثره آنها می‌گردد. از جمله عوامل تاثیرگذار، ارتفاع از سطح دریا می‌باشد که در رشد و تولید گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف نقش ایفا می‌کند و ازجمله عوامل مهم و تعیین کننده در کمیت و کیفیت گیاهان محسوب می‌شود (Omidbaigi, 2005).

ترکیبات فنلی با قدرت مهار رادیکال آزاد و مهار آنزیم‌های اکسیداتیو دارای عملکرد ضد درد و ضدالتهابی هستند. فلاونوئیدها و فنل‌ها در گیاهان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان هستند که منجر به توجه بیشتر برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به جای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به‌دلیل محدود بودن عوارض جانبی‌شان از قبیل سرطان می‌شود (Zhou et al., 2000). محققان گزارش کردند که عوامل بسیار زیادی از جمله آب و هوا، خاک، ارتفاع، اختلال در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری‌های آنتی‌اکسیدان‌ها در میزان فنل و فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند که در این میان بر تأثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است (Gairola et al., 2010). با بررسی از ارتفاع مختلف روی میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنل و فلاونوئید کل درگیاه فاگوپیروم[1] نشان داده شد که مقدار فنل و فلاونوئید با افزایش ارتفاع افزایش می‌یابد (Gairola et al., 2010). تنوع سنتز ترکیبات ثانویه دارویی در نمونه‌های گیاهی بیشتر تحت تأثیر سه عامل مهم: خزانه ژنتیکی منحصر به فرد هر گونه، تنوع ترکیبات در بین بخش‌های مختلف گیاه، مراحل تکاملی و رشد گیاه و سپس اهمیت تغییرات محیطی است (Friedman et al., 2005).

در فرایند اهلی‌سازی یک گیاه دارویی بررسی و شناخت کامل از شرایط اکولوژیکی گیاه و ارتباط شرایط اکولوژیکی با ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی به منظور مدل‌سازی نیازهای اکولوژی گیاه در شرایط مزرعه و نیز شناخت جمعیت‌های با بهترین ویژگی‌های رشدی و متابولیتی ضروریست (Bernath, 2001). تنوع ژنتیکی گیاهان طی هزاران سال ایجاد شده و درطبیعت به طور پایدار باقی مانده است. توده‌های بومی یک گیاه، ژرم پلاسم مناسبی برای برنامه‌های اصلاحی می‌باشند. بانک‌های ژن با جمع‌آوری، شناسایی و ارزیابی دقیق و حفاظت از ذخایر توارثی و توده‌های گیاه، اطلاعات مورد نیاز محققان را تأمین می‌کنند. روش‌های متداول اصلاح گیاهان زراعی براساس گزینش جمعیت‌های مطلوب از بین جوامع باتنوع ژنتیکی می‌باشد. بنابراین، آگاهی از تنوع جمعیت‌ها شرط اصلی و اولین گام در اصلاح گیاهان می‌باشد (Pharsi and Bageri, 1988). صفات مورفولوژیکی به سادگی وبا دقت زیاد قابل اندازه‌گیری بوده وتوارث پذیری بالائی دارند، پس انتخاب براساس این صفات ممکن است راه مطمئن و سریعی برای غربال جوامع گیاهی وبهبود عملکرد آنها باشد (Yildrim et al., 1993). در بررسی تنوع مورفولوژیکی ۵ جمعیت *Thymus glabrescens* تغییرات معنی‌داری در طول و عرض برگ و تعداد غده‌های ترشحی برگ مشاهده شد (Dajić-Stevanović et al., 2008).

بنابراین با توجه به این که رویشگاه‌های مختلف دارای شرایط متفاوتی می‌باشند؛ گزینش گیاهی با عملکرد کمی و کیفی بالا در جنس پونه سای با حداکثر ماده مؤثره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا برای کاهش طیف وسیعی از بیماری‌ها نیازمند تحقیق می‌باشد. همچنین، ضروری به نظر می‌رسد که بررسی دقیق توده‌های موجود در کشور و تهیه شناسنامه برای آن‌ها به‌منظور برنامه‌ریزی تحقیقات به نژادی و به زراعی بعدی انجام شود. از این رو، این تحقیق با هدف شناسایی توده‌های پونه‌سای موجود با استفاده از صفات مورفولوژیکی، بررسی میزان فنل کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و گل جمعیت‌های مختلف دو گونه پونه‌سای در دو استان اردبیل و آذربایجان شرقی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

ابتدا محدوده پراکنش و رویشگاه‌های جمعیت‌های گیاه پونه سای با مراجعه به منابع معتبر از جمله فلور ایران در دو استان مورد نظر (اردبیل و آذربایجان شرقی) مشخص شدند. سپس نمونه‌های گیاهی در مرداد ۱۳۹٤ و به هنگام گلدهی گیاهان جمع‌آوری شدند. پس از شناسایی جمعیت‌ها در دانشکده علوم دانشگاه فردوسی، یک نمونه هرباریومی در محل هرباریوم مرکزی دانشکده علوم نگهداری شد. مشخصات این جمعیت‌ها و محل پراکنش آن‌ها در

1- Fagopyrum

Archive of SID

www.SID.ir

جـدول ۱ نشـان داده شده اسـت. در هـر رویشـگاه نمونه‌برداری در یک کوادرات ۲×۲ مترمربع انجام شد. در هر منطقه ۳ نمونه‌برداری در مرحله گل‌دهی کامـل انجام شد. گیاهان جمع‌آوری شده پس از جـدا کـردن بخش هوایی (سرشاخه گلدار) در شرایط دور از نـور و رطوبت (در دمای اتاق) تارسیدن به یک وزن ثابت، خشک و تا زمان استفاده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و تـاریکی نگهـداری شـدند. از ایـن نمونـه‌هـا بـرای اندازه‌گیری میزان فنل کـل و فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی استفاده شد.

صفات مورفولوژیک

در این مطالعه صفات مورفولوژیکی شامل ارتفـاع بوته، تعداد شاخه فرعی، طول و عرض بـرگ، تعـداد گره، طول گل آذین، طول میانگره و طول شاخه فرعی در جمعیت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. بدین‌منظـور تعداد ۱۰ بوته به‌طور تصادفی از هر جمعیت انتخـاب و میانگین هـر صـفت بـرای آن جمعیـت ثبـت شـد. صفات ارتفاع بوته، طول گـل‌آذیـن، طـول میـانگره و طول شاخه فرعی توسط خط‌کش انـدازه‌گیـری شـد. برای تعیین طول و عرض برگ با انتخاب تصـادفی ٤ برگ میانی از هر بوته، این صـفات توسـط کـولیس و برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: مشخصات هرباریومی جمعیت‌های پونه‌سای جمع‌آوری شده

استان	جمعیت	نام علمی	کد هرباریومی	محل نمونه‌برداری	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی (شمالی)	طول جغرافیایی (شرقی)
اردبیل	۱	*Nepeta crassifolia*	٦۳۰۱	رضی	۱۰٦٤	۳۸درجه۳۷دقیقه	٤۸درجه٥دقیقه
اردبیل	۲	*Nepeta crassifolia*	٦۳۰۱	نمین	۱٤۲۳	۳۸درجه۲۸دقیقه	٤۸درجه۳٤دقیقه
اردبیل	۳	*Nepeta crassifolia*	٦۳۰۱	گردنه حیران	۲۳۷٤	۲٤درجه ۳۸دقیقه	۳۷درجه ٤۸دقیقه
آذربایجان شرقی	٤	*Nepeta nuda*L.	٦۳۰۲	٤٥km مشکین-هریس	۷٥٥	۳۸درجه۱۹دقیقه	٤۷درجه۲۱دقیقه
آذربایجان‌شرقی	٥	*Nepeta nuda*L.	٦۳۰۲	هریس	۱٥۱۳	۳۸درجه۹دقیقه	٤٦درجه٤٥دقیقه
اردبیل	٦	*Nepeta nuda*L.	٦۳۰۲	مشکین شهر	۳۱٥	۳۸درجه ۲۳دقیقه	٤۷درجه ۱دقیقه

فنل کل

فنل کل در عصاره برگ و گـل بـا معـرف فـولین سیکالتو با انـدکی تغییـرات توسـط روش پیشـنهادی سـینگلتون و راشـی (Singleton and Rossi, 1965) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونـه گیـاهی را با یک میلی‌لیتر حلال (متانول یا اتانول) عصاره‌گیـری شد و پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها، ۲۵ میکرولیتر از عصاره شفاف را برداشته و یک میلی‌لیتر آب مقطـر بـه همـراه ۵۰ میکرولیتـر معـرف فـولین سـیکالتو را مخلوط کرده و ۵ دقیقه به محلول حاصـل اسـتراحت داده شد. سـپس ۳۰۰ میکرولیتـر کربنـات سـدیم ۲۰ درصد به نمونه‌ها اضافه کرده و به‌مـدت ٦۰ دقیقـه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت جذب نمونه‌هـا را در طول موج ۷٦٥ نانومتر قرائت شد. نمـودار اسـتاندارد این صفت توسط گالیک اسید به غلظت‌هـای ۰، ۳، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ میلی‌گرم در لیتر رسم شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی عصـاره برگ و گل ابتدا عصـاره‌هـای متـانولی بـا اسـتفاده از متـانول خـالص در دمـای اتـاق تهیـه شـد و فعالیـت آنتی‌اکسیدانی براساس روش مون و ترائو (Moon and

Archive of SID

www.SID.ir

Terao, 1998) و با ایجاد کمی تغییرات از طریق غیرفعال کردن رادیکال‌های آزادشده توسط ماده (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazul) DPPH صورت پذیرفت. جذب محلول‌های حاصل و شاهد (حاوی کلیهٔ مواد غیر از نمونه) در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. درصد بازداری از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه شاهد و استفاده از رابطه زیر به دست آمد.

%AA: 1 – A517 (sample)/A517 (control) × 100

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌ها با نرم‌افزار JMP8 و مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات مورفولوژیک نشان داد که بین جمعیت‌های مورد مطالعه ازنظر کلیه صفات کمی در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳ و ٤). فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای کل فنلی برگ در گیاه *Nepeta crassifolia* در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل دارای اختلاف معنی‌دار ۵ درصد شد؛ ولی محتوای تام فنلی گل معنی‌دار نشد (جدول ۳). همچنین در گیاه *Nepeta nuda* L. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی (برگ و گل) دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد بودند (جدول ٤).

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات موردبررسی برای گیاه *Nepeta crassifolia*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات											
		ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	طول‌شاخه فرعی	طول میانگره	طول برگ	عرض برگ	طول گل آذین	تعداد گره	فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ	فنل برگ	فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل	فنل گل
جمعیت	۲	۲۱/۹٦**	۹/۰۱**	۹/۵۹**	۰/۲۰**	۱/۷۳**	۰/٤٦**	۱۰/۳٤**	۵/۳۲**	۱۱۲/۹۸**	۱۷/۳۰**	۱۳/۳۵*	۱/۳٦^{ns}
خطا	٦	۰/۳٦	۰/۳۲	۰/۲٦	۰/۰۳	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۳٦	۰/۲۸	۳/۱۰	۰/۳۵	۱/۵۰	۰/٦۵

^{ns}، **و *به‌ترتیب غیرمعنی‌دارو معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد

جدول ٤: تجزیه واریانس صفات موردبررسی برای گیاه *Nepeta nuda* L.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات											
		ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	طول‌شاخه فرعی	طول میانگره	طول برگ	عرض برگ	طول گل آذین	تعداد گره	فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ	فنل برگ	فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل	فنل گل
جمعیت	۲	۸٤۰/۰۸**	۱۲/۹۸**	۲۸/٤۲**	۲/۰۹**	۳/۲۷**	۱/۳۷**	۱۷٤/۷۹**	۱۱۸/۷۷**	٤۸۳/۲۸**	۳/۵۱**	۵٦/۸۸**	۳/۵۱**
خطا	٦	۰/۸٤	۰/۲۳	۰/۱٦	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۰٤	۰/۲٦	۱/۰۰	۱/۷۰	./۱۰	٤/۸۹	۰/۱۳

**بیانگر معنی‌دار در سطح ۱ درصد

بررسی صفات مورفولوژیکی نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته، تعدادشاخه فرعی، طول و عرض برگ، طول شاخه فرعی، طول میان‌گره و تعداد گره در گیاه *Nepeta crassifolia* مربوط به جمعیت ۱ و کمترین مقدار این صفات را جمعیت ۳ دارا بود. به‌طوری‌که از لحاظ تعداد گره تفاوت معنی‌داری میان جمعیت ۲ و

Archive of SID

www.SID.ir

۳ دیده نشد. همچنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی (برگ و گل) مربوط به جمعیت ۳ بوده و تفاوت معنی‌داری در این صفات میان جمعیت ۱ و ۲ وجود نداشت (جدول ۵).

در مورد گونه *Nepeta nuda* L. بیشترین ارتفاع بوته، طول و عرض برگ، تعداد گره مربوط به جمعیت ٦ بوده و تعداد شاخه فرعی، طول شاخه فرعی، طول میانگره و طول گل آذین در جمعیت ٤ بر سایر جمعیت‌ها برتری دارد. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی (برگ) در جمعیت ۵ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی (گل) در جمعیت ٦ بیشترین مقدار را دارا می‌باشد (جدول ٦).

جدول ۵: مقایسه میانگین صفات موردبررسی برای گیاه *Nepeta crassifolia*

جمعیت	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه فرعی	طول شاخه فرعی (cm)	طول میانگره (cm)	طول برگ (cm)	عرض برگ (cm)	طول گل آذین (cm)	تعداد گره	فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ (٪)	فنل برگ (mg.g-1 FW)	فعالیت آنتی اکسیدانی گل (٪)
۱	۲۵/۵۵^{a}	۱۰/۰٦^{a}	۱۰/۰۳^{a}	۲/۲٦^{a}	۲/٦٦^{a}	۱/٤۹^{a}	۱۰/۳۹^{a}	۱۰/۱٦^{a}	٤٦/٦۲^{b}	۵/۹۱^{b}	۷۱/۲۰^{b}
۲	۲۲/٤٤^{b}	۸^{b}	۸/۲۷^{b}	۱/۷٤^{b}	۱/۵٤^{b}	۰/۹۳^{b}	۸/٦۲^{b}	۱۲/۰٦^{b}	٤۹/٤۰^{b}	۵/۵۵^{b}	۷۱/٤٦^{b}
۳	۲۰/۱٦^{c}	٦/٦۲^{c}	٦/٤۵^{c}	۱/۹۷^{ab}	۱/۲۱^{c}	۰/۷۳^{c}	٦/٦۷^{c}	۹/۵۰^{b}	۵۸/۳٦^{a}	۹/۸۸^{a}	۷٤/۹٦^{a}

جدول ٦: مقایسه میانگین صفات مورد بررسی برای گیاه *Nepeta nuda* L.

جمعیت	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه فرعی	طول شاخه فرعی (cm)	طول میانگره (cm)	طول برگ (cm)	عرض برگ (cm)	طول گل آذین (cm)	تعداد گره	فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ (٪)	فنل برگ (mg.g-1 FW)	فعالیت آنتی اکسیدانی گل (٪)	فنل گل (mg.g-1 FW)
٤	۵۵/٤٤^{b}	۱۰/٤٤^{a}	۱۸/۲٤^{a}	۵/۱۳^{a}	۲/٤۲^{b}	۱/۵۹^{b}	۱۹/۵۱^{a}	۱۲/۳۳^{b}	۳۵/۵۵^{b}	۳/۷٤^{c}	۷۰/۵٦^{c}	٤/۲٦^{c}
۵	۳۵/۳۳^{c}	٦/۰٦^{c}	۱۲/٦۷^{b}	۳/۷۰^{b}	۲/۳۲^{b}	۱/۲۲^{c}	۹/۳۳^{b}	۸/۳۳^{c}	۵٦/۰۹^{a}	۵/۸۸^{a}	٦٤/۵٦^{b}	۷/٦۲^{b}
٦	٦۸/۵۵^{a}	۸/۰٦^{b}	۱۳/۱۸^{b}	۳/٦۷^{b}	٤/۱۸^{a}	۲/۵٤^{a}	٤/۵٦^{c}	۲۰/٦٦^{a}	۳۲/۹۰^{c}	٤/۵٤^{b}	۷۳/۰۳^{a}	۸/۷۱^{a}

بحث

همان‌طور که مشاهده می‌گردد در هر دو گونه پونه‌سای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی مربوط به گل این گیاهان می‌باشد و نیز احتمالاً ارتفاع از سطح دریا عامل تفاوت مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در این توده‌ها است. به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، ارتفاع بوته، طول و عرض برگ، طول گل‌آذین در هردو گونه کاهش‌یافته و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی افزایش معنی‌داری داشته است. مطالعات متعدد انجام شده روی گونه‌های مرزه بومی ایران از جمله مرزه خوزستانی (Hadian et al., 2011)، مرزه جنگلی (Karimi et al., 2014) و مرزه بختیاری (Khadivi-khub et al., 2014) نشان می‌دهدکه ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه تحت تأثیر شرایط اقلیمی محل رویش قرار می‌گیرد. در بسیاری از گیاهان تأثیر دمای پایین در کاهش خصوصیات رویشی به اثبات رسیده است (Omidbaigi, 2000). تجلی و خزائیپور (Tajali and Khazaeipoor, 2012) بیان کردند که میزان فنل و فلاونوئید گیاه

Archive of SID

www.SID.ir

Cerateagus microphylla در ارتفاعات بالا دارای بیشترین سطح و در ارتفاعات پست دارای کمترین مقدار بوده است که موید نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. در اکثر مطالعات بر نقش رویشگاه به‌عنوان عامل تأثیرگذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه تأکید شده است. مکان رشد گیاه می تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند تشکیل مواد مؤثره تاثیرگذار باشد. مکانیسم تأثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه به‌درستی روشن نیست، ولی این مطلب تأیید شده است که محیط از طریق تأثیری که در فرآیند تولید متابولیت‌ها و نیز آنزیم های مرتبط به آن دارد، در نوع وشدت واکنش‌های شیمیایی مؤثراست (Hemati et al., 2003; Srivastava and Shym, 2002). در میان موجودات زنده، گیاهان به‌دلیل احتیاج اجتناب ناپذیرشان به نور برای فتوسنتز، بیشتر تحت تاثیر نورUV قرار می‌گیرند و آسیب‌پذیرتر هستند (Nasibi et al., 2003). بنابراین کاهش شدید صفات مورفولوژیک در این پژوهش احتمالاً به‌دلیل تاثیر منفی افزایش نور UV در ارتفاعات بالا بر روی این گیاهان می‌باشد. محققین بیان داشتند که در ارتفاعات بالاتر از ۱۵۰۰ متر، مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی وجود دارد (Jaakola et al., 2004). افزایش ترکیبات فنلی با بالا رفتن ارتفاع به عنوان پاسخی به افزایش اشعه UV می‌باشد (Buchholz et al., 1995; Tosserams et al., 1996; Jaakola and Hohtola, 2010;) که همسو با نتایج تحقیق حاضراست (جدول ۵ و ٦).در تحقیقی دیگر، یک رابطه خطی بین ارتفاع از سطح دریا با تعدادی ازترکیبات شیمیایی گیاه آویشن گزارش شده است (Corticchiato et al., 1998). شدت نور، دوره‌های نوری و دما بر روی سنتز بسیاری از متابولیت‌های ثانویه تاثیر می‌گذارند (Hohtola, 2007). در تمام مراحل رشد گیاهان، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال می‌باشد. عمل آنتی‌اکسیدان‌ها با چندین فاکتور مثل مراحل بلوغ، شرایط آب و هوایی، اندام‌های مورداستفاده گیاه، شرایط برداشت و انبارداری و نگهداری در طی بلوغ تغییر می‌کند (Mejia et al., 1988). در تحقیقی که نیکخواه و همکاران (Nikkhah et al., 2017) بر روی گیاه چویل *Ferulago angulate* انجام دادند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تاثیر مراحل مختلف فنولوژیکی و ارتفاع از سطح دریا بود و افزایش ارتفاع از ۲۵۰۰ به ۳۰۰۰ متر موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چویل گردید که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. فلاونوئیدها، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌دلیل ایجاد مکانیسم دفاعی گیاهان را در برابر اشعه ماوراء بنفش، عوامل بیماری‌زا و موجودات گیاه‌خوار محافظت می‌کند. فلاونوئیدها و فنل کل دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و در تنظیم فعالیت‌های آنزیمی و تولید متابولیت‌های اولیه نقش دارند. میزان آن‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی با مرحله رشد، بافت گیاهی، واریته، تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراء بنفش و خشکی، شرایط خاک، شخم، آفات وبیماری‌ها و کاربرد کودها مرتبط می‌باشد (Kalinova and Vrchotova, 2011). به‌نظر می‌رسد در پژوهش حاضر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل در جمعیت پونه‌سای در گردنه حیران به‌دلیل افزایش ارتفاع از سطح دریا و بالا بودن اشعه ماوراء بنفش می‌باشد. بررسی نتایج این تحقیق و یافته‌های دیگران موید این مطلب است که صفات کمی و کیفی گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیرعوامل مختلفی نظیراقلیم منطقه، ارتفاع ازسطح دریاوموقعیت جغرافیایی دارد. اماذکراین نکته نیزضروری است که علاوه بر عوامل محیطی، عوامل ژنتیکی به‌عنوان یک فاکتور موثر بر صفات کمی و کیفی گیاهان نقش مهمی را ایفا می‌نمایند (Wichtl, 1989).

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده جمعیت‌های ۱ و ٦ به لحاظ صفات مورفولوژیکی دارای برتری بودند که می‌توان در برنامه به‌نژادی آینده از آن‌ها بهره برد. همچنین مشخص گردید که در رویشگاه‌های مختلف، در ارتفاعات بالا برخی خصوصیات مورفولوژیکی گیاهان پونه‌سای مانند ارتفاع بوته، طول و عرض برگ و طول گل‌آذین کاهش ولی میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی افزایش پیدا می‌کند. یعنی اینکه عوامل اکولوژیکی واسترس‌های محیطی نیزمانند عوامل ژنتیکی می‌توانند بر تولید و مقادیر ترکیبات شیمیایی موجود گیاهان دارویی موثر واقع گردند. بنابراین برخی از این جمعیت‌ها می‌توانند به‌عنوان جمعیت‌های مستعد برای اهلی‌سازی و اصلاح گیاه دارویی پونه‌سای در نظرگرفته شوند. البته بررسی جمعیت‌های بیشتر جهت معرفی بهترین جمعیت در رویشگاه‌های طبیعی این گیاه و همچنین مطالعه گونه‌های دیگر این جنس ضروری می‌باشد.

References

1. Adiguzel, A.H., Ozer, H., Sokmen, M., Gulluce, M.E., Sokmen, A., Kilic, H., Sahin, F. and Baris, O. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepeta cataria*. Polish Journal of Microbiology, 58(1): 69-76.
2. Ali, T., Javan, M., Sonboli, A. and Semnanian, S. 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. in experimental rat models. Natural Product Research, 26(16): 1529-1534.
3. Ali, T., Javan, M., Sonboli, A. and Semnanian, S. 2012. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of essential oil of *Nepeta pogonosperma* Jamzad et Assadi in rats. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 20(1): 48.
4. Bernath, J. 2001. Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. In International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant, 576: 115-128.
5. Bertome, J., Isabel Arrillage, M. and Segura, J. 2007. Essential oil variation whit in and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. Biochem. Biochemical Systematics and Ecology, 35(8): 479-488.
6. Buchholz, G., Ehmann, B. and Wellmann, E. 1995. Ultraviolet light inhibition of phytochrome-induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledons (*Sinapis alba* L.). Plant Physiology, 108(1): 227-234.
7. Corticchiato, M., Tomi, F., Bernardini, A.F. and Casanova, J. 1998. Composition and infraspecific variability of essential oil from *Thymus herba barona* Lois. Biochemical Systematics and Ecology, 26(8): 915-932.
8. Dajić-Stevanović, Z., Šoštarić, I., Marin, P.D., Stojanović, D. and Ristić, M. 2008. Population variability in *Thymus glabrescens* Willd. from serbia: morphology, anatomy and essential oil composition. Archives of Biological Sciences, 60(3): 475-483.
9. Fraga, B.M., Hernández, M.G., Mestres, T. and Arteaga, J. 1998. Abietane diterpenes from *Nepeta teydea*. Phytochemistry, 47(2): 251-254.
10. Friedman, J.M., Auble, G.T., Shafroth, P.B., Scott, M.L., Merigliano, M.F., Freehling, M.D. and Griffin, E.R. 2005. Dominance of non-native riparian trees in western USA. Biological Invasions, 7(4): 747-751.
11. Gairola, S., Shariff, N.M. and Bhatt, A. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants: Issues needs immediate attention. Journal of Medicinal Plants Research, 4(18):1825-1829.
12. Hadian, J., Hossein Mirjalili, M., Reza Kanani, M., Salehnia, A. and Ganjipoor, P. 2011. Phytochemical and morphological characterization of *Satureja khuzistanica* Jamzad populations from Iran. Chemistry and Biodiversity, 8(5): 902-915.

Archive of SID

www.SID.ir

13. Hemati, K.H., Omidbeigi, R. and Bashiri Sadr, Z. 2003. Effect of climate and harvest time on the qualitative and quantitative characteristics of flavonoids of *citrus varieties*. PhD Thesis, Submitted to Modares University.
14. Hohtola, A. 2007. Northern plant as a source of bioactive products. In: Taulavuori and Tauravuori (eds.) Physiology of Northern Plants under changing environment. Res. Signpost India, 291-307.
15. Jaakola, L. and Hohtola, A. 2010. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Plant, Cell &Environment, 33(8):1239-1247.
16. Jaakola, L., Määttä-Riihinen, K., Kärenlampi, S. and Hohtola, A. 2004. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. Planta, 218(5):721-728.
17. Jamzad, Z., Grayer, R.J., Kite, G.C., Simmonds, M.S., Ingrouille, M. and Jalili, A. 2003. Leaf surface flavonoids in Iranian species of *Nepeta* (Lamiaceae) and some related genera. Biochemical Systematics and Ecology, 31(6):587-600.
18. Kalinova, J. and Vrchotova, N. 2011. The influence of organic and conventional crop management, variety and year on the yield and flavonoid level in common buckwheat groats. Food Chemistry, 127 (2): 602–608.
19. Karimi, E., Ghasemnejad, A., Hadian, J., Akhundi, R. and Ghorbanpour, M. 2014. Evaluation of morphological diversity and essential oil yield of *Satureja mutica* Fisch. & CA Mey. populations growing wild in Iran. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology,18(1):7-16.
20. Khadivi-Khub, A., Salehi-Arjmand, H. and Hadian, J. 2014. Morphological and phytochemical variation of *Satureja bachtiarica* populations from Iran. Industrial Crops and Products, 54(3):257-265.
21. Mejia, L.A., Hudson, E., Gonzalez de Mejia, E. and Vasquez, F. 1988. Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annuum*) as determined by HPLC. Journal of Food Science, 53(5):1448-1451.
22. 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(12):5062-5065.
23. Mozaffarian, V.A. 2006. Dictionary of Iranian Plant Names: Latin - English - Persian. 4th Ed. Farhang Moaser. Tehran. 360 p.
24. Nasibi, F., Kalantari, K. and Rashidi, M. 2003. Investigation of change in morphological and physiological parameter induced by UV-A, UV-B and UV-C of ultraviolet radiation in colza seedling (*Brassica napus*). Research and Reconstruction, 16(3):97-103.
25. Nikkhah, A.H., Hoseini, B., Gosta, Y. and Fatahi, M. 2017. Effect of height and phonological stages on phytochemical properties and antioxidant activity of medicinal plant (*Ferulago angulate* Boiss.) From Dena Highlands. Quaternary Ecophytochemistry of Medicinal Plants, 17(1):16-29.
26. Omidbaigi, R. 2000. Approaches to production and processing of medicinal Plants. Publication Designers city. Mashhad. Volume 1. Second Edition. 281 p. (In Persian)
27. Omidbaigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants. Tehran University. 283p. (In Persian)
28. Parnbam, M.J. and Kesselring, K. 1985. Rosmarinic acid. Drugs of the Future, 10(9): 756-757.
29. Pharsi, M. and Bagheri, A. 1988. Principles of Plant Breeding. Publishers (SID), Mashhad, 230 p. (In Persian)
30. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3):144-158.
31. Srivastava, A.W. and Shym, S. 2002. Citrus: climate and soil. Int. Book Distributing Company. 559 p.
32. Tajali, A.A. and Khazaeipool, M. 2012. Effects of height and organs on flavonoids of *Crataegus microphylla* C.

Archive of SID

www.SID.ir

Koch in Iran. International Journal of Biosciences (IJB), 2(7):54-58.
33. Takeda, Y., Matsumoto, T., Ooiso, Y., Honda, G., Tabata, M., Fujita, T., Otsuka, H., Sezik, E. and Yesilada, E. 1996. *Nepeta cilicioside*, a new iridoid glucoside from *Nepeta cilicia*. Journal of Natural Products, 59(5):518-519.
34. Takeda, Y., Ooiso, Y., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Sezik, E. and Yesilada, E. 1998. Iridoid and eugenol glycosides from *Nepeta cadmea*. Phytochemistry, 49(3): 787-791.
35. Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A.S., Polissiou, M. and Sokmen, A. 2007. Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. Food Chemistry, 103(4):1358-1364.
36. Tosserams, M., Sa, A.P. and Rozema, J. 1996. The effect of solar UV radiation on four plant species occurring in a coastal grassland vegetation in The Netherlands. Physiologia Plantarum, 97(4):731-739.
37. Wichtl, M. 1989. Teedrogen. Stuttgart: Wissen schaftliche Verlagsgesell schaft mbH. 405-407.
38. Yildirim, M.B., Budak, N. and Arshad, Y. 1996. Factor analysis of yield and related traits in bread wheat. Turkish Journal of Field Crops, 1(1): 11-15.
39. Zhou, M., Chen, Y., Quyang, Q., Liu, S.X. and Pang, Z.J. 2000. Reduction of the oxidative injury to the rabbits with established atherosclerosis by protein bound polysaccharide from *Coriolus vesicolor*. The American Journal of Chinese Medicine, 28(2):239-249.

Archive of SID

www.SID.ir

The study of morphological diversity, total phenolic contents and antioxidant activity indifferent populationsof *Nepeta nuda* and *Nepeta crassifolia* in Ardabil and East Azerbaijan provinces

Narimani, R.[1], Moghaddam, M.[2*], Ghasemi Pirbaloti, A.[3], Shokouhi, D.[4]

[1]Ph.D student, Department of Horticultural Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Horticultural Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
[3]Department of Agriculture, Islamic Azad University Shahrekord, Shahrekord, Iran.
[4]M.Sc. of Department of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received: 2017-5-9 ; Accepted: 2017-10-15

Abstract

Nepeta L., belongs to Lamiaceae family, is containing different annual and perennial species which are found in different parts of Asia, Europe and North Africa. In order to evaluate the morphological diversity, total phenolic content and antioxidant activity between 6 populations of *Nepeta nuda* and *Nepeta crassifolia*, the aerial parts of these plants in flowering stages were collected in summer 2015 from Ardabil and east Azerbaijan provinces. The morphological traits included plant height, number of sub-branches, leaf length and width, number of nodes, inflorescence length, internode length and length of sub-branch were measured. Methanolic extract were obtained by maceration, phenolic content by Folin-Ciocalto method and antioxidant activity were measurement DPPH radical scavenging capacity method, respectively. The experiment was performed in a completely randomized design with 3 replications and the comparison of data average was done by LSD test at 5% probability level. Results were showed that the first population (*Nepetacrassifolia* - Razi) was superior in morphological characteristics compared to other populations of this species. The highest antioxidant activity (74.96%)and total phenolic content (9.88mg of gallic acid equivalents per gram of fresh weight), was obtained from the leaves and flowers of population 3 (Heyran), respectively. Maximum plant height, leaf length and width, number of nodes were observed in population 6 (Meshkin) of *Nepeta nuda* and also the highest antioxidant activity and total phenolic content were perceived in leaves of population 5 (Heris) and flowers of population 4 (Meshkin-Heris), respectively. Generally the most total phenolic content and antioxidant activity between two species were observed in population 3 (Heyran) which is belong to the *Nepeta crassifolia*. It seems that the height of sea level had significant effect on populations phenolic content and antioxidant activity. So the populations of 1 and 6, which both species were desirable at evaluated morphological traits so that these populations can be considered in breeding and domestication programs.

***Keywords*:** Antioxidant activity, Azerbaijan, Morphological traits, Total phenol, *Nepeta* L. Population

*Corresponding author; m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir