Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2020, P. 698-710
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۷۱۰-۶۹۸
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مطالعه اثر رویشگاه بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.)

محسن عیسی پور[1*] - خدایار همتی[2] - نسترن همتی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۶

چکیده

پونه (*Mentha longifolia* L.) گیاه دارویی و معطر ارزشمند متعلق به خانواده نعناعیان است. در این تحقیق، اثر شش رویشگاه با ارتفاع متفاوت (ارتفاعات شهرستان آمل) بر روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پونه در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد صفات مورد ارزیابی در بین رویشگاه‌های پونه تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان دادند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین تعداد برگ در بوته (۲۵ عدد) و تعداد شاخه گیاه در بوته (۲۷ عدد) پونه به ترتیب در منطقه گت لش و سیوزمین بدست آمد. همچنین بیشترین تعداد گل (۱۵ عدد) و بیشترین تعداد گره (۲۲ عدد) به ترتیب در بندریکا و گت لش مشاهده شد. منطقه گت لش و سیوزمین به ترتیب بیشترین و کمترین میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی را دارا بودند. تفاوت معنی‌داری بین محتوای فنل کل و فلاونوئید کل در رویشگاه‌های مختلف وجود نداشت هرچند بیشترین میزان در مناطق پردمه و گت لش مشاهده شد. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین بازده اسانس به ترتیب از رویشگاه‌های گت لش و واش ورین بدست آمد. میزان پولگون در برگ گیاه پونه با افزایش ارتفاع افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان پولگون (۶۰۶۹ پی‌پی‌ام) در منطقه پردمه بدست آمد. بنابراین، با توجه به نتایج کلی بدست آمده، بهترین رویشگاه‌ها برای حصول بیشترین بازدهی اسانس و پولگون به ترتیب رویشگاه‌های گت لش و پردمه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: پونه، رویشگاه، ارتفاع، اسانس، پولگون

مقدمه

گیاهان دارویی و معطر خانواده نعناع به عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی مهم گیاهان بخاطر انعطاف اکولوژیکی بسیار زیاد نسبت به اقلیم‌های متنوع شناخته می‌شوند (۱). جنس نعنا با قدمت استفاده بیش از ۲۰۰۰ سال، یکی از مهمترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی می‌باشد. بخش هوایی و اسانس گونه‌های نعناع به عنوان ماده دارویی در صنایع غذایی، بهداشتی-آرایشی، داروسازی، شیرینی‌سازی، نوشابه‌ای و صنایع ادویه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۷). گیاهان جنس نعناع منبع مهمی از ترکیبات آنتی اکسیدان هستند و جزو مهمترین سبزی‌های خوراکی در سراسر جهان شناخته می‌شوند که در ایران شش گونه *M. mozaffarianii*، *M. aquatica*، *M. arvensis*، *M. longifolia*، *M. spicata* و *M. suaveolens* گزارش شده است (۲۴). گیاه پونه[4] یکی از مهمترین گونه‌ها نعناع است که خواص ضد اسپاسم، ضد آسم، ضد نفخ و خصوصیات آنتی‌موتاژنیک آن گزارش شده است (۲). گزارش شده است که پولگون، کارون و منتول از ترکیبات اصلی اسانس گونه *Mentha longifolia* L. می‌باشند (۱۰). در تحقیق دیگری نشان داده شد اجزای اصلی اسانس گیاه پونه را ترکیبات ۱،۸- سینئول، پولگون، ایزومنتون و آلفا-پینن تشکیل می‌دهند (۸).

خواص ضدمیکروبی اسانس را می‌توان به دلیل وجود گروه‌های پولگون، منتون و نئومنتون دانست زیرا می‌توانند با تغییر نفوذپذیری غشا سلولی و تخریب دیواره باکتریایی سبب از بین بردن ساختار لایه‌های مختلف پلی ساکارید، اسیدهای چرب و فسفولیپیدهای غشای باکتری شوند (۳۴). بیان شده است روغن‌های ضروری پونه از نوع سیکلوهگزان‌ها و معطر بوده و پولگون ترکیب اصلی این روغن‌ها، دارای عطر معین در محدوده نعنایی شدید تا تند و سرکه‌ای است (۱۳). پولگون در طبیعت گیاه را از آسیب حشرات و گیاه‌خواران حفظ می‌کند. در صنعت از آن در ساخت حشره‌کش‌ها،

۱ - کارشناس ارشد گیاهان دارویی، موسسه آموزش عالی سنا، ساری
(*- نویسنده مسئول: Email: mohsen_eisapoor@yahoo.com)
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳- دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.79019

4- *Mentha longifolia* L.

www.SID.ir

Archive of SID

دئودورانت‌ها، صابون‌های معطر و همچنین به عنوان طعم دهنده در خمیر دندان‌ها استفاده می‌شود. از دیگر خواص دارویی پولگون، می‌توان درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل پیچه را نام برد (۲۵).

عوامل مختلفی از جمله نوع گونه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و اقلیم منطقه بر رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌های مختلف تاثیرگذار می‌باشند. ویژگی‌های مختلف خاک بر چگونگی رشد و نمو گیاه و نیز بر میزان مواد موثره گیاهان تاثیر می‌گذارند (۱۹). گزارش‌ها نشان دادند همبستگی بالایی بین ترکیبات مواد موثره و منشا جغرافیایی گیاهان وجود دارد (۱۱). در تحقیقی نشان داده شد بین ژنوتیپ‌های مختلف از سه گونه نعناع، در درصد و عملکرد اسانس آن‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد و محققین بیان داشتند که ژنوتیپ‌های اصفهان و همدان به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد اسانس را داشتند (۲۸). از آنجا که اکوسیستم‌ها نقش عمده‌ای در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه دارند، همواره باید به مطالعات تاثیر تغییرات اکوسیستم بر تولیدات متابولیتی گیاهان به خصوص متابولیت‌های ثانویه پرداخت (۲۶). از آنجاکه درصد اسانس گونه‌ها در شرایط متفاوت از جمله نوع رویشگاه، دمای محیط، میزان رطوبت، نور، ارتفاع از سطح دریا و میزان بارندگی متغیر است، بررسی ترکیب‌های موجود در این گونه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به ارزش دارویی گونه‌های گیاهی جنس نعناع و تفاوت‌ها و شباهت‌هایی که از نظر فیتوشیمیایی در گونه‌های مختلف این جنس مشاهده می‌شود، به نظر می‌رسد که این تفاوت می‌تواند در ترکیب شیمیایی اسانس و تاثیر عوامل ژنتیکی و رویشگاهی بر پونه نیز دیده شود (۶).

بنابراین، با توجه به مقدار بالای مونوترپن پولگون در گونه پونه و اهمیت این ترکیب در صنایع مختلف دارویی و بهداشتی، همچنین پراکنش جغرافیایی نسبتا گسترده این گونه در سراسر کشور، در این آزمایش تاثیر شرایط اقلیمی و ارتفاع رویشگاه‌های مختلف در استان مازندران (شهرستان آمل) بر صفات مورفولوژی، بیوشیمیایی و بازدهی اسانس گیاه پونه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

به منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و کیفی شش رویشگاه گیاه پونه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۷ در سه تکرار انجام شد. رویشگاه‌های مختلف پونه متعلق به رویشگاه‌های بلقلم، بندریکا، سیوزمین، گت لش، واش ورین و پردمه در محدوده ارتفاعی ۱۵۰۰ تا ۲۶۰۰ متر از سطح دریا واقع در شهر آمل از استان مازندران بودند (جدول ۱). در هر رویشگاه نمونه‌های گیاهی در زمان گلدهی بر اساس طرح برداشت شدند. پس از بررسی برخی صفات مورفولوژی، اقدام به خشک کردن برگ‌های گیاه در شرایط سایه و تهویه مناسب شد.

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه گیاه پونه

Table 1- Characteristic of the studied habitats of *Mentha longifolia* L.

رویشگاه (Habitats)	ارتفاع از سطح دریا (Altitude)	شن Sand (%)	رس Clay (%)	لای Silt (%)	PH	EC ($dS\ m^{-1}$)	C (%)	N (%)	P (ppm)
بلقلم (Belghalam)	1500	74	6	20	8.01	1.55	4.29	0.37	32
بندریکا (Banderika)	1700	66	11	23	8.2	1.16	0.8	0.11	21
سیوزمین (Sivzamin)	1850	54	16	30	7.72	0.92	1.58	0.22	13
گت لش (Gate Lash)	2000	58	20	32	7.5	0.66	1.48	0.2	9
واش ورین (Vash Varin)	2300	62	15	25	7.82	0.93	2.11	0.23	7
پردمه (Pardameh)	2600	52	16	32	7.94	1.28	2.98	0.29	28

کلروفیل

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش بارنز (۹) استفاده گردید. بر اساس این روش ۰/۵ گرم از نمونه را خرد کرده و در داخل لوله آزمایش ریخته سپس ۱۰ میلی لیتر دی‌متیل‌سولفوکسید اسید

www.SID.ir

Archive of SID

(DMSO) خالص به آن اضافه کرده و به مدت سه ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. تا رنگیزه‌ها استخراج و بافت برگی کاملاً بی‌رنگ شود. سپس بعد از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده را برداشته و به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس میزان جذب محلول به دست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردید. سپس مقدار کلروفیل a و b و کل با استفاده از فرمول-های زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد. برای نمونه شاهد از DMSO استفاده شد.

$$\text{کلروفیل } a = \frac{\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times (22.7 \times OD\ 663) - (2.69 \times OD\ 645)}{\text{وزن نمونه} \times 1000}$$

$$\text{کلروفیل } b = \frac{\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times (22.7 \times OD\ 645) - (4.68 \times OD663)}{\text{وزن نمونه} \times 1000}$$

$$\text{کلروفیل کل} = \frac{\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times (20.2 \times OD\ 663) + (2.02 \times OD645)}{\text{وزن نمونه} \times 1000}$$

کاروتنوئید

همانند اندازه گیری کلروفیل از روش بارنز (۹) استفاده گردید. بر اساس این روش ۰/۵ گرم از نمونه را خرد کرده و در داخل لوله آزمایش ریخته سپس ۱۰ میلی لیتر دی‌متیل‌سولفوکسید اسید خالص به آن اضافه کرده و به مدت سه ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. تا رنگیزه‌ها استخراج و بافت برگی کاملاً بی-رنگ شود .سپس بعد از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده را برداشته و به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس میزان جذب محلول به دست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. سپس مقدار کاروتنوئید کل با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد. برای نمونه شاهد از DMSO استفاده شد.

$$\text{کاروتنوئید کل} = \frac{\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times (7.6 \times OD\ 480) - (2.49 \times OD\ 510)}{\text{وزن نمونه} \times 1000}$$

فنل کل

میزان ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (۴). برای استخراج روش کار به این صورت است که ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی ۸۰ درصد تهیه شده با ۱/۱۶ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین به محلول فوق اضافه شد. پس از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه و نمونه‌ها بعد از هم زدن با همزن لوله‌ای به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتو فتومتر (مدل WPA dgeCambri ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد.

فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید تام به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه-گیری شد (۲۰). به این منظور ۰/۵ سی سی از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی تنها از متانول خالص استفاده شد. سپس مخلوط نیم ساعت در تاریکی قرار داده و سپس بلافاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. اعداد به دست آمده برای فلاونوئید کل با رجوع به منحنی استاندارد واقعی می شوند بدین منظور غلظت‌های مختلفی از استاندارد کوئرستین ساخته شده و بعد از خوانده شدن عدد جذب منحنی استاندارد رسم شد از معادله خط به دست آمده در منحنی استاندارد جهت تعیین غلظت فلاونوئید کل استفاده شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

در این آزمایش از روش درصد مهار رادیکال‌های دی‌پی‌پی‌اچ[1]، استفاده شد (۳). ابتدا دو میلی‌لیتر از DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار (۴ میلی‌گرم رادیکال به ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) به لوله آزمایش اضافه شده و سپس دو میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با آن مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از پایان واکنش بلافاصله جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر[2]در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. علاوه بر نمونه‌های مذکور یک لوله آزمایش به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که تنها حاوی دو میلی‌لیتر DPPH و دو میلی‌لیتر متانول بود. فعالیت مهار رادیکال DPPH از فرمول درصد فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال ($DPPH= ۱۰۰ (۱ - A_S/A_C)$) محاسبه شد. در این معادله A_C جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به عنوان شاهد، A_S جذب DPPH به همراه نمونه می‌باشد. از متانول نیز به عنوان بلانک استفاده شد.

اسانس‌گیری

برای استخراج اسانس از نمونه خشک شده اندام هوایی و به روش تقطیر با آب مقطر توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس به روش حجمی – وزنی و براساس وزن خشک نمونه‌ها محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها با استفاده از

1- 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
2- Spectrophotometer

www.SID.ir

Archive of SID

سولفات سدیم خشک آبگیری و تا زمان آنالیز در یخچال و در تاریکی نگهداری شد. درصد بازده اسانس با فرمول زیر محاسبه گردید:

۱۰۰ × (وزن خشک گیاه / وزن اسانس) = درصد بازده اسانس

پولگون

برای اندازه‌گیری پولگون از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل shimadzu 2014 مجهز به سنجنده FID و ستون BP-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و دمای انتهایی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۱۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

برای اندازه‌گیری برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در هر رویشگاه از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه تهیه شد. نیتروژن خاک با روش نیتراسیون بعد از تقطیر و با استفاده از سیستم کجل تک اتوآنالیزر[1] انجام شد و برای اندازه‌گیری فسفر خاک از روش اولسن[2] استفاده شد (۳۳).

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه آماری SAS نسخه ۹/۱ و جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد رویشگاه تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی صفات مورفولوژیک مورد بررسی گیاه پونه داشت (جدول ۲). با توجه به نتایج به دست آمده مقایسه میانگین، ارتفاع و تعداد گل گیاه پونه در منطقه گت لش با ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا نسبت به بقیه مناطق بطور معنی‌داری بیشتر بود در حالی که کمترین میزان ارتفاع و تعداد گل در منطقه پردمه با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا مشاهده شد (جدول ۳). بیشترین تعداد برگ در رویشگاه‌های بلقلم، گت لش و واش ورین و کمترین تعداد برگ در رویشگاه بندریکا مشاهده شد در حالیکه بیشترین و کمترین تعداد شاخه به ترتیب در مناطق سیوزمین و واش ورین وجود داشتند (جدول ۳). بیشرین تعداد بند نیز در منطقه گت لش با ۲۲ عدد و کمترین میزان بند در منطقه بندریکا با ۱۶ عدد مشاهده شد که بین مناطق مختلف از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳).

نتایج نشان داد رویشگاه تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در سطح آماری ۵ درصد داشته است (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد منطقه سیوزمین کمترین میزان کلروفیل a را داشت و با اینکه بین بقیه مناطق تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، منطقه واش ورین با میزان ۱۰/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین میزان کلروفیل a را داشت (شکل ۱-A). منطقه سیوزمین کمترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در بین مناطق مورد بررسی دارا بود با اینحال دو منطقه گت لش و بلقم به ترتیب بیشترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل را در بین رویشگاه‌ها داشتند (شکل ۱- B و C). محتوای کاروتنوئید کل در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر رویشگاه‌ها قرار گرفتند (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بین رویشگاه‌های اختلاف معنی‌داری وجود داشته که بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید به ترتیب در مناطق واش ورین با ۶/۰۱ و سیوزمین با ۴/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد (شکل ۱- D).

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که تاثیر رویشگاه بر میزان فعالیت آنتی آکسیدان در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۴). مقایسه میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به رویشگاه پردمه و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در منطقه گت لش مشاهده شد (شکل ۲). نتایج مربوط به محتوای فنل و فلاونوئید نشان داد تیمار رویشگاه تاثیر معنی‌داری بر آنها نداشت (جدول ۴). مقایسه میانگین صفات هم نشان داد هرچند بیشترین میزان فنل و فلاونوئید به ترتیب در منطقه پردمه و گت لش بدست آمد اما بین رویشگاه‌ها از نظر محتوای فنل و فلاونوئید از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳- A و B).

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد رویشگاه اثر معنی‌داری در سطح آماری یک درصد بر میزان اسانس داشته است (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، درصد اسانس در رویشگاه گت لش با ارتفاع ۲۰۰ متر از سطح دریا در مقایسه با بقیه رویشگاه‌ها به طور معنی‌داری بیشتر بود. رویشگاه واش ورین کمترین میزان اسانس را به خود اختصاص داده بود (شکل ۳- C). نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان پولگون در سطح آماری یک درصد تحت تاثیر رویشگاه قرار گرفت (جدول ۴). مقایسه میانگین نشان داد میزان پولگون بین رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشته است بطوریکه با افزیش ارتفاع رویشگاه‌ها میزان پولگون افزایش معنی‌داری داشته است. بیشترین میزان پولگون در منطقه پردمه با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا و کمترین میزان پولگون در رویشگاه بلقلم با ارتفاع ۱۵۰۰ متر از سطح دریا بدست آمد. البته بین مناطق بلقلم، بندریکا و سیوزمین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳- D).

1- Single Auto analysis System
2- Olsen method

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک گیاه پونه در شش رویشگاه مختلف

.Table 2. ANOVA of morphological traits of *Mentha longifolia* L. in six habitats

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	ارتفاع Height	تعداد گل Flowers number	تعداد برگ Leaves number	تعداد شاخه Shoots number	تعداد گره Nodes number
رویشگاه (Habitats)	5	2300**	14.9**	11.7**	10.4**	12.8**
خطا آزمایش (Error)	12	0.00003	0.0005	0.001	0.0002	0.0001
ضریب تغییرات CV	-	4.3	3.4	4.1	3.2	3.2

** نشانگر معنی‌دار بودن در سطح آماری ۱ درصد است.

**Significant at the 1% level of probability

جدول ۳- صفات مورفولوژیکی گیاه پونه در شش رویشگاه مختلف

Table 3. Mean comparison of morphological traits traits of *Mentha longifolia* L. in six habitats

رویشگاه (Habitats)	ارتفاع Height (cm)	تعداد گل در بوته Number of flower in plant	تعداد برگ Number of leaves	تعداد شاخه Number of shoots	تعداد گره Number of nodes
بلقلم (Belghalam)	123 c	12 b	25 a	23 bc	**19 b**
بندریکا (Banderika)	137 b	15 a	20 c	26 a	**16 c**
سیوزمین (Sivzamin)	105 d	12 b	23 b	27 a	**19 b**
گت لش (Gate Lash)	162 a	16 a	25 a	24 b	**22 a**
واش ورین (Vash Varin)	100 e	12 b	25 a	22 c	**19 b**
پردمه (Pardameh)	86 f	10 c	23 b	24 b	**17 c**

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD هستند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($p<0.05$) using LSD test.

جدول ٤- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گیاه پونه در شش رویشگاه مختلف

Table 4- ANOVA of biochemical traits of *Mentha longifolia* L. in six habitats

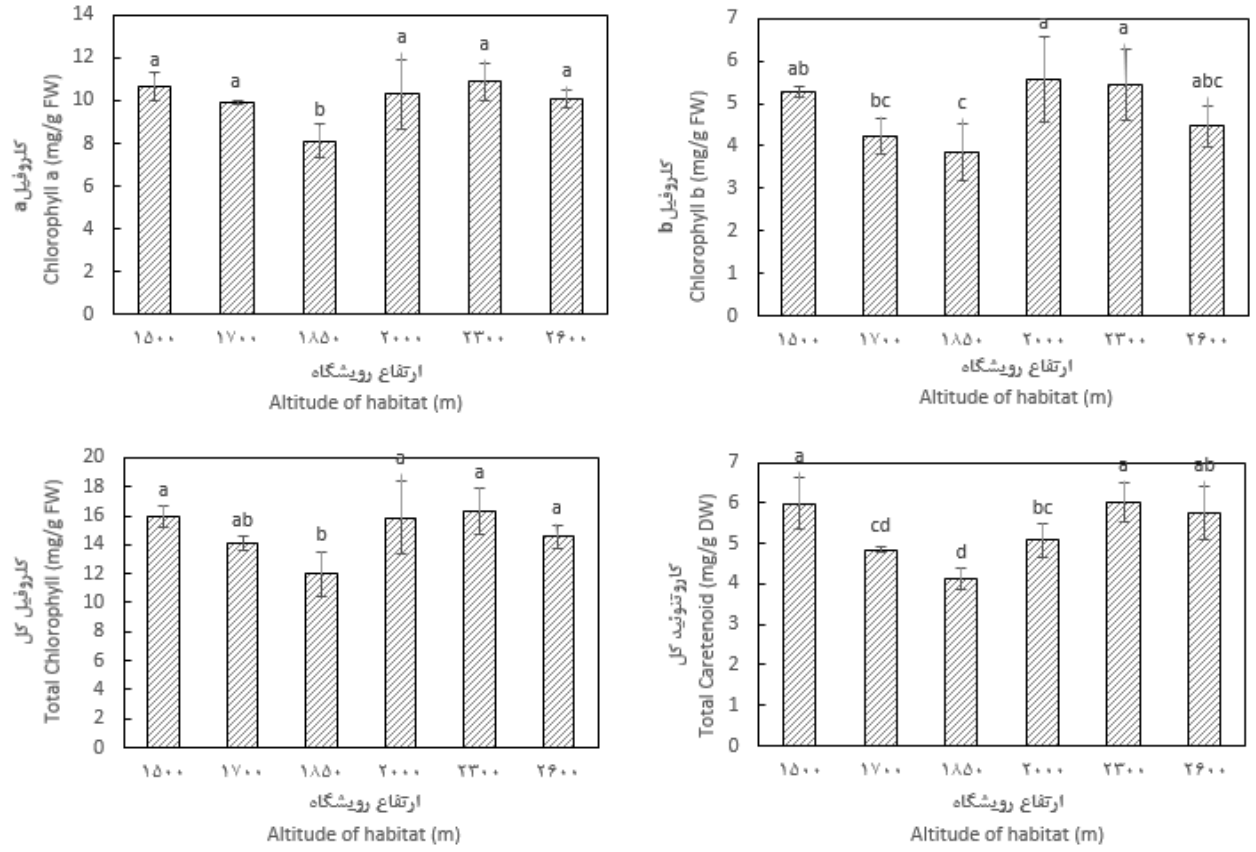
منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g DW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/g DW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g DW)	کاروتنوئید Carotenoid (mg/g DW)	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity (%)	فنل کل Total phenol (mg/g DW)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg/g DW)	اسانس Essential oil yield (%)	پولگون Pulegone (ppm)
رویشگاه (Habitats)	5	2.9 *	1.54*	8*	1.7**	0.08**	0.83**	0.08**	0.08**	15893519**
خطا آزمایش (Error)	12	0.77	0.43	2.1	0.22	0.011	1.25	0.14	0.0085	199349
ضریب تغییرات CV	-	8.8	13.6	9.8	8.8	13	18.7	12.2	18.2	22.9

** و * به ترتیب نشانگر معنی‌دار بودن در سطح آماری ۱ و ۵ درصد و بدون علامت نشانگر عدم معنی‌دار بودن است.

** ,* Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively

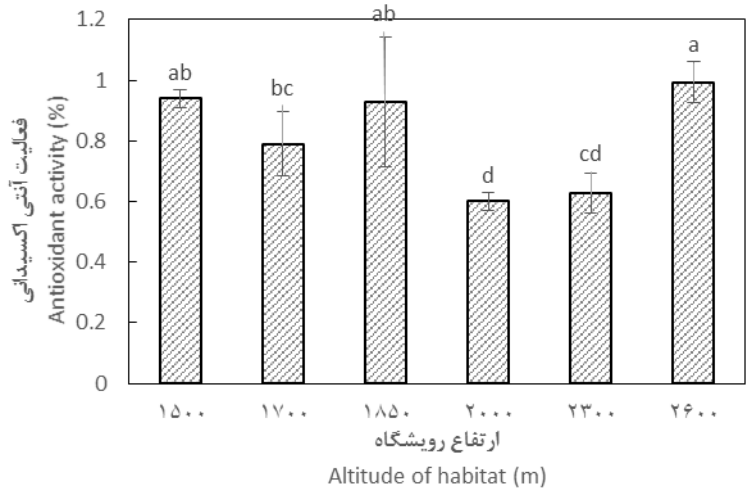
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- تاثیر رویشگاه‌های مختلف (بلقلم (۱۵۰۰ متر)، بندریکا (۱۷۰۰ متر)، سیوزمین (۱۸۵۰ متر)، گت لش (۲۰۰۰ متر)، واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر)) بر محتوای کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئیدها (D) گیاه پونه

Figure 1- The effect of different habitats (Belqalam (1500 m), Banderica (1700 m), Siozmin (1850 m), Gat Lash (2000 m), Vash Verin (2300 m) and Pardemeh (2600 m) on contents of chlorophyll a (A), chlorophyll b (B), total chlorophyll (C) and carotenoids (D) of *Mentha longifolia* L. (LSD, $p \leq 0.05$)

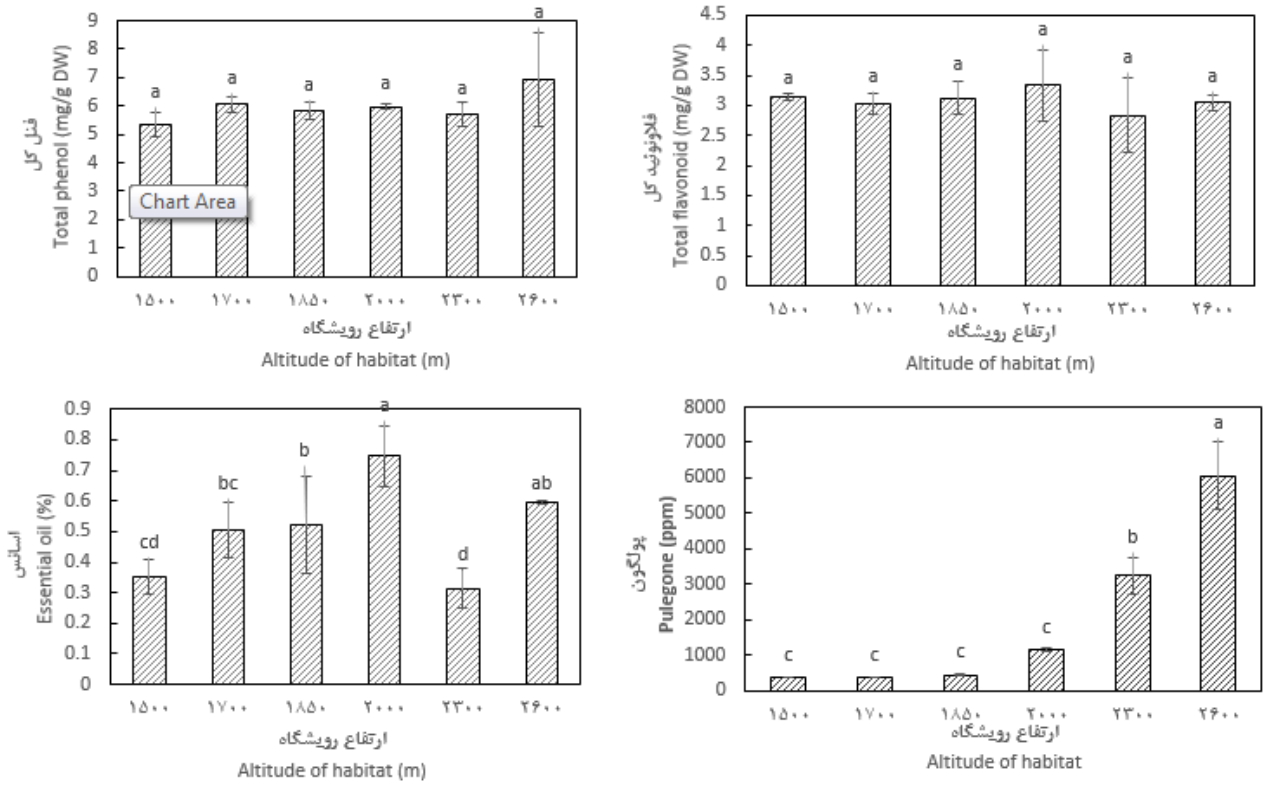


شکل ۲- تاثیر رویشگاه‌های مختلف (بلقلم (۱۵۰۰ متر)، بندریکا (۱۷۰۰ متر)، سیوزمین (۱۸۵۰ متر)، گت لش (۲۰۰۰ متر)، واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر)) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه پونه

Figure 2- The effect of different habitats (Belqalam (1500 m), Banderica (1700 m), Siozmin (1850 m), Gat Lash (2000 m), Vash Verin (2300 m) and Pardemeh (2600 m) on antioxidant activity of *Mentha longifolia* L.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- تاثیر رویشگاه‌های مختلف (بلقلم (۱۵۰۰ متر)، بندریکا (۱۷۰۰ متر)، سیوزمین (۱۸۵۰ متر)، گت لش (۲۰۰۰ متر)، واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر)) بر فنل کل (A)، فلاونوئید کل (B)، اسانس (C) و پولگون (پی‌پی‌ام) (D)

Figure 3- The effect of different habitats (Belqalam (1500 m), Banderica (1700 m), Siozmin (1850 m), Gat Lash (2000 m), Vash Verin (2300 m) and Pardemeh (2600 m) on total phenol (A), total flavonoid (B), Essential oil (C) and Pulegone (D) content of *Mentha longifolia* L.

بحث

طبق نتایج بدست آمده از لحاظ موفولوژیکی و بیوشیمیایی بین رویشگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت که می‌تواند دلیل آن عوامل محیطی از جمله تغییرات ارتفاع از سطح دریا باشد، به طوریکه ارتفاع بالای گت لش با ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا، صفات مورد بررسی در این تحقیق دارای بیشترین تاثیرپذیری از افزایش ارتفاع بودند. تا ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا، صفات مورفولوژی گیاه پونه با افزایش همراه بود اما افزایش بیشتر ارتفاع باعث کاهش این صفات شده بود. از آنجا که ارتفاع گیاه و تیپ رشد بوته از صفات مهم مورفولوژیک است جهت اصلاح رقم مناسب برای برداشت مکانیزه باید مدنظر قرار گیرد. به گزارش رضایی و همکاران (۲۹) ارتفاع گونه‌های مختلف نعناع در مناطق مختلف کشور که شامل قزوین، اردبیل، تهران، یزد و گیلان بودند، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که گونه لانگیفولیا (واریته آمفی لما) از قزوین بیشترین ارتفاع گیاه را داشت. در گزارش دیگری، نتایج یاوری و همکاران (۳۵) بر روی آویشن آذربایجانی نشان دادند که گیاهان رویشگاه جلفا دارای بیشترین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، تعداد انشعاب‌های ساقه در بین رویشگاه‌های مورد مطالعه می‌باشند که از نظر برداشت گیاهان دارویی ارزش بالایی دارند. ارتفاع متفاوت گیاهان مشابه در مناطق مختلف می‌تواند به عوامل زیادی از جمله شرایط اکولوژیکی به ویژه میزان رطوبت نسبی و همچنین بارندگی و تعداد ساعات آفتابی مرتبط باشد. به علاوه درجات مختلف غنای خاک نیز در این مورد موثر است. نتایج نشان داد بیشترین تعداد گل و تعداد بند در منطقه گت لش و ارتفاع ۲۰۰۰ متر ثبت شده است که بیشتر از این ارتفاع در دو منطقه واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر) با کاهش در تعداد گل همراه بود. کمترین میزان تعداد برگ در بوته در منطقه بندریکا با ارتفاع ۱۷۰۰ متر مشاهده شد و در بقیه مناطق تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از آنجا که برگ‌ها معمولا اسانس بیشتری دارند (۲۷)، بنابراین هر چه نسبت برگ و اندام‌های رویشی به گل بیشتر باشد باعث افزایش میزان اسانس می‌شود. در بررسی میانگین صفات مختلف جمعیت گیاه بومادران هزار برگ (*Achillea millefolium* L) در آذربایجان شرقی بیشترین طول میانگره، طول برگ، قطر چتر گل و

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد گل آذین در بوته مربوط به رویشگاه شبستر گزارش شد که این ویژگی‌ها از نظر عملکرد اسانس دارای اهمیت زیادی می‌باشند (۱۴). به طور کلی افزایش تعداد شاخه اصلی و شاخه‌های فرعی باعث افزایش بیوماس و عملکرد تولیدی می‌شود و از این نظر می‌تواند یک فاکتور مناسب جهت انتخاب اکوتیپ‌های برتر مدنظر قرار بگیرد (۲۳). تحقیقات میرزایی ندوشن و همکاران (۲۲) بر روی ۴ گونه *M. longifolia*، *M. spicata*، *M. piperita* و *M. aquatic* در شرایط مزرعه‌ای نشان داد که ارتفاع نعناع‌های مورد بررسی به ترتیب ۱۲۱، ۷۸، ۶۲/۸ و ۷۷ سانتی‌متر بودند. در تحقیقات نامبردگان طول برگ گونه‌های نعناع نیز به ترتیب ۶، ۷/۵، ۵/۵ و ۳/۹ سانتی‌متر گزارش گردید و قطر ساقه آن‌ها به ترتیب ۷/۶، ۴/۸، ۴/۳ و ۵/۱ میلی‌متر بود که بیشترین درصد اسانس برگ در گونه *M. longifolia* با ۱/۷۷ درصد و کمترین میزان آن در گونه *M. aquatica* با ۰/۴۳ درصد مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان گفت ارتفاع متفاوت همراه با دیگر شرایط محیطی از جمله کیفیت خاک، دما، میزان بارندگی و نور عواملی هستند که باعث تفاوت‌های موروفولوژی مشاهده شده در این رویشگاه‌ها می‌باشند. خصوصیات مختلف خاک، بر چگونگی رشد و نمو و نیز بر میزان مواد موثره گیاهان تاثیر دارد. ولی نمی‌توان فقط به خصوصیات فیزیکی یا فقط به خصوصیات شیمیایی یک خاک از این نظر اکتفا نمود. کاشت و تکثیر یک گونه گیاه در خاک‌های کاملا مشابه، ممکن است منجر به حصول نتایج متفاوتی از نظر مواد دارویی یا حتی چگونگی رشد و نمو گردد. زیرا ممکن است جذب و سوخت وساز گیاه تحت تاثیر عوامل محیطی دیگر قرار گرفته باشند.

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه تحت شرایط و رویشگاه‌های مختلف اهمیت زیادی دارد که می‌تواند بر رشد و عملکرد گیاه تاثیرگذار باشد (۱۸). ارتفاع از سطح دریا عاملی است که تاثیرگذاری زیادی بر روی صفات فیزیولوژیکی گیاهان می‌گذارد بطوریکه گیاهان برای بهبود شرایط فتوسنتزی خود در ارتفاعات مجبور به تعدیل تعداد کلروپلاست‌ها، کاهش اندازه کلروپلاست و دانه‌های نشاسته در کلروپلاست در سلول می‌شود (۳۱). در این آزمایش، هر چند در منطقه سیوزمین با ارتفاع ۱۸۵۰ متر با کاهش در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی همراه بود اما بین مناطق دیگر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کاهش مقدار کلروفیل و افزایش نسبت کاروتنوئید به کلروفیل نیز به عنوان سازگاری گیاهان در محافظت در برابر اکسیداسیون نوری در ارتفاعات بالا تلقی می‌شود. غنی و همکاران (۱۵) به منظور بررسی تنوع بیوشیمیایی ۲۵ اکوتیپ از گیاه نعناع خوراکی[1] گزارش کردند بین جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر میزان کلروفیل (a، b و کل)، کاروتنوئید، فلاون، فلاونول و فلاونوئید کل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید بطوریکه بیشترین و کمترین میزان کلروفیل کل به ترتیب از جمعیت‌های فارس منطقه خفر ۲ و مازندران منطقه نور بدست آمد. همچنین جمعیت‌های اصفهان ۲، مازندران، قائم‌شهر و یاسوج از نظر صفات ارزشمند بیوشیمیایی عصاره نظیر آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و کربوهیدرات‌ها تیمار برتر بودند. سعیدی و همکاران (۳۰) گزارش کردند میزان کاروتنوئید کل در گیاه نسترن کوهی در مناطق مختلف ایران بین ۱/۱-۰/۱۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر متغیر بود. در این تحقیق بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید به ترتیب از رویشگاه کردستان (دیوان دره) و بویراحمد (میمند) به دست آمد. آنها اذعان داشتند عوامل آب و هوایی، فاکتورهای جغرافیایی و شرایط خاک می‌تواند باعث تغییر در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شود. فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و در تنظیم فعالیت‌های آنزیمی و تولید متابولیت-های اولیه نقش دارند. میزان فلاونوئیدها در گونه‌های مختلف گیاهی با مرحله رشد، بافت، واریته، تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراء بنفش، خشکی، شرایط خاک، شخم و بیماری‌ها مرتبط می‌باشد (۱۷). قاسمی و همکاران (۱۶) با بررسی تاثیر فاکتورهای محیطی بر میزان آنتی اکسیدان‌ها، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاه گردو به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در منطقه آبعلی با بیشترین ارتفاع و کمترین میانگین دمای روزانه بدست آمد. محققین دیگر نیز بیان داشتند که در ارتفاعات بالاتر از ۲۱۰۰ متر، مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی وجود دارد (۲۱). طجالی و خازئی‌پور (۳۱) با بررسی تاثیر ارتفاع بر روی فنل کل و فلاونوئیدهای گیاه *Cerateagus microphylla* بیان داشتند که این گیاه در ارتفاع ۱۰۰۰ متری دارای بیشترین میزان ترکیبات نامبرده نسبت به گیاهان رشد یافته در ارتفاعات پست بود.

نتایج مربوط به بازدهی اسانس استخراج شده از اندام هوای پونه نشان داد منطقه گت لش در ارتفاع ۲۰۰۰ متر بیشترین و در منطقه واش ورین کمترین میزان بازدهی اسانس را داشته است. درجه حرارت مناسب برای رشد و نمو و افزایش اسانس در نعناع ۱۸ تا ۲۰ سانتی-گراد است. درجه حرارت بالاتر باعث تغییراتی در ترکیب اجزاء اسانس می‌گردد به عنوان مثال در نعناع فلفلی افزایش دما (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) باعث کاهش منتول می‌شود (۲۷). به نظر می‌رسد که افزایش دما تا حدی باعث سنتز بیشتر اسانس نعناع می‌شود. این مساله به دلیل فعال شدن آنزیم‌های اختصاصی گیاه و مسئول تولید و سنتز اسانس بوده و یا به دلیل افزایش فتوسنتز کارایی تولید اسانس در گیاه را بالا ببرد. میزان اسانس در بررسی زینلی و همکاران (۳۷) ۰/۸ تا ۲/۱ درصد گزارش شده است که بیشتر از میزان اسانس استخراجی از نتایج این تحقیق می‌باشد. یزدانی و همکاران (۳۶) میزان اسانس نعناع فلفلی را ۱/۴۵ تا ۳/۲ درصد گزارش کردند (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۱). در گزارش دیگری حبیبی و همکاران

1- *Mentha spicata* L

www.SID.ir

Archive of SID

(۱۹) با آزمایشی که بر روی گیاه آویشن وحشی انجام دادند، دریافتند که در ارتفاعات کمتر میزان اسانس افزایش می‌یابد. در این بررسی نمونه‌های گیاه فئق در ارتفاعات ۱۸۰۰ تا ۲۸۰۰ متری به فواصل ۲۰۰ متر برداشت شده و پس از اسانس‌گیری مشخص شد که میزان اسانس در ارتفاع ۱۸۰۰ متری بیشتر از بقیه نقاط بود که تا اندازه‌ای مطابق نتایج بدست آمده در این تحقیق بود. در بررسی دیگری مشخص شد که میزان اسانس برگ بومادران با افزایش ارتفاع کاهش یافت. در این مطالعه که در رویشگاه سیاه بیشه در استان مازندران انجام شد، اسانس برگ گیاه بومادران در ارتفاع ۲۲۰۰ متر نسبت به ارتفاع ۲۱۰۰ متری به طور معنی‌داری کاهش یافت (۷). می‌توان تفاوت‌های تنوع عملکردی در محتوای کل اسانس در مناطق مختلف را به تفاوت ژنتیکی و تا اندازه‌ای تفاوت در اقلیم مناطق مختلف رویش این گیاه و همچنین زمان جمع‌آوری مربوط دانست. با توجه به نتایج بدست آمده افزایش دما، نور و کاهش ارتفاع از سطح دریا باعث تاثیر بر میزان اسانس گیاه می‌شوند ولی برای مشخص شدن میزان عملکرد گیاه و اسانس در واحد سطح نیاز به بررسی‌های بیشتری با کشت گیاهان می‌باشد.

پولگون یکی از مهمترین ترکیبات موجود در گیاه پونه است که اهمیت دارویی زیادی دارد. نتایج ما در این تحقیق نشان داد با افزایش ارتفاع مناطق مورد بررسی، بطور معنی‌داری میزان پولگون افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان پولگون (۶۰۶۹/۱ پی‌پی‌ام)در منطقه پردمه با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا مشاهده شد که با افزایش زیادی نسبت به مناطق دیگر همراه بود. آسکون و همکاران (۵) میزان پولگون موجود در اسانس نعناع گونه لانگیفولیا را بین ۱۸/۴ تا ۳۵ درصد گزارش کردند. تجلی و همکاران (۳۲) گیاه کافوری را از نظر ترکیبات تشکیل دهنده آن مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند که پولگون نیز یکی از اجزای اسانس این گیاه را تشکیل می‌دهد. میزان این ماده در اسانس گیاه کافوری در مناطق همدان، اراک و شهرکرد با هم متفاوت بود و شرایط اقلیمی بر درصد این ماده در اسانس موثر بوده است. با توجه به این که مهمترین ترکیب در اسانس این گونه، پولگون است و ارزش اقتصادی و دارویی آن وابسته به میزان پولگون موجود در آن است، بنابراین هدف اصلی از بهره‌برداری این گیاه، استخراج میزان پولگون در آن می‌باشد. کولمان و همکاران (۱۲) اظهار داشتند که اختلاف در کیفیت طبیعی اسانس گونه‌های جنس منتا به عوامل ذاتی (ژنتیک یا قابلیت وراثت از ساقه، وضعیت بلوغ و ...) و عوامل بیرونی (نور خورشید، آب، حرارت، فشار، ارتفاع، خاک و ....) که در رشد گیاه و میزان اسانس تاثیر می‌گذارد، بستگی دارد که البته با نتیجه تحقیق حاضر نیز تایید می‌گردد. در نهایت با توجه به اینکه مهمترین مساله در برنامه‌های اصلاحی وجود تنوع ژنتیکی است، به نظر می‌رسد پونه جمع‌آوری شده از منطقه پردمه و واش ورین بالاترین میزان پولگون را بین سایر رویشگاه‌ها دارند و می‌توانند به عنوان نمونه‌های امیدبخش در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به اهمیت و کاربرد فراوان متابولیت‌های ثانویه در زندگی امروزی بشر بررسی وجود ارتباط با شرایط محیطی با تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌تواند بسیار مفید باشد. نتایج ما نشان داد شرایط اقلیمی تاثیر شگرفی بر روی خصوصیات مورفولوژیکی گیاه پونه دارد که در نتیجه باعث افزایش یا کاهش اسانس می‌شود. در تحقیق حاضر اگرچه بهترین رویشگاه از نظر داشتن بالاترین میزان پولگون اکوتیپ پردمه می‌باشد، ولی رویشگاه گت لش به جهت داشتن بازده اسانس بیشتر و میزان پولگون نسبتا خوب می‌تواند یک رویشگاه مناسب جهت اهلی‌سازی و کشت این گیاه مطرح باشد، به همین منظور، بررسی رویشگاه‌های مختلف این گونه در سایر نقاط کشور برای دستیابی به بهترین اکوتیپ‌ها توصیه می‌شود.

منابع

1. Akbarzadeh M. 2004. Medicinal plants of labiate family in Vas location in Mazandaran. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 1(19):36-45.
2. Akhbari M., Aghajani Z., Karimi E., and Mazoochi A. 2016. Composition analysis of essential oil and biological activity of oily compounds of *Mentha longifolia*. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 6(21):59-66.
3. Akowuah G.A., Ismail Z., Norhayati I., and Sadikun A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food Chemistry, 93(2):311-317
4. Anonymus. 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage. p. 4-5.
5. Asekun O.T., Grierson D.S., and Afolaya, A.J. 2007. Effect of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. Capensis. Food Chemistry, 10:995-998.
6. Azarkish P. 2015. Evaluation of morphological and phytochemical diversity of some horsemint (*Mentha Longifolia* L.) ecotypes in South West of Iran. M.Sc. Thesis in Horticulture Ferdowsi Univesity of Mashhad. [In Persion]

www.SID.ir

Archive of SID

7. Azarnivand H., Ghavam Arabani 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 with English abstract)
8. Bajalan I., Akbarzadeh M., Qalayi E., and Yarahmadi, E. 2013. Comparison of chemical compition of essential oil of *Mentha longifolia* L. from two regions of Iran. Canadian journal of pure and applied sciences. 7(3):2541-2543.
9. Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., and Davison A.W. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in the lichens and higher plants. Environmental and Experimental Botany. 32(2):85-100.
10. Barzin G., Mazooji A., and Salimpour, F. 2014. Essential oil composition of four varieties of Mentha longifolia L. From northern parts of Iran. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences, 4(2):639-643
11. Brown B. 2003. Mint soil fertility research in the PNW. Western Nutrient Management Conf. 5(3): 54-60.
12. Coleman W.M., Perfetti T.A., and Suberjr, R.L. 1998. Quantitive analysis of menthol isomer distributions in selected samples. Journal of Chromatographic Science, 36:318-321.
13. Gaeini Z., Sohrabvandi S., Sobhani R., and Soleimani M. 2013. Characteristics of pennyroyal essential oils. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 7(5):661-668. [In Farsi]
14. Ghanbari M., Souri M.K., Omidbaigi R., and Mirzaei H.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 with English abstract)
15. Ghani A., Nemati S.H., Azizi M., Saharkhiz M.J. and Farsi M. 2014. The study of extract biochemical variations contents some of spearmint (*Mentha spicata* L.) Population. Journal of horticulture science. 4(27):433-443.
16. Ghasemi K., Ghasemi Y., Ehteshamnia A., Nabavi M., Nabavi F., Ebrahimzadeh A. and Pourmand F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. Medicinal Plant, 5(7):1128-1133.
17. Ghorbani A., Razavi S.M., Ghasemi Omran V.O., and Pirdashti H. 2018a. *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. Russian Journal of Plant Physiology, 65(6):898–907
18. Ghorbani A., Razavi S.M., Ghasemi Omran V.O., and Pirdashti H. 2018b. *Piriformospora indica* inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Plant Biology, 20(4):729-736.
19. Habibi H., Mazaheri D., Majnoon Hoseini N., and Chaeechi M.R. 2007. Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss.) Taleghan region. Pajouhesh-va-Sazandegi, 73:2-10.
20. Huang D.J., Chun-Der L., Hsien-Jung C., and Yaw-Huei L. 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] LamTainong 57') constituents. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 45:179-186.
21. Jaakola L., Maatta-Riihinen K.R., Karenlampi S., and Hohtola A. 2004. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. Planta, 218(5):721-728.
22. Mirzaaie-nadoushan H., Rezaie M., and Jaimand K. 2001. Path analysis of the essential oil-related characters in *Mentha* spp. Flavour and Fragrance Journal, 16: 340-343.
23. Moghadam M., Omidbeygi R., Salimi A., Naghavi M.R. 2007. An assessment of genetic diversity among iranian populations of Basil (*Ocimum* spp.) using morphological traits. Iranian Journal of Horticultural Science. 44(3): 227-243 (in Persian with English abstract)
24. Mozaffarian V. 2013. A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publishers Press. Tehran, Iran, pp: 228-230. [In Persian with English abstract]
25. Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi Motamed M., and Ghorbani A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2:63-79.
26. Omidbeaigi R. 2013. Production and processing of medicinal plants. Vol. I. Behnashr Press. Mashhad, Iran. 347 P. [In persian with English abstract]
27. Omidbeygi R. 2006. Production and processing of medicinal plants, Volume I. Publisher: Astan Quds Razavi (Mashhad), 397p.
28. Rai-Dehagi H., Razmjoo J., Sabzaliyan M.R., and Arzani A. 2014. Effect of shading on morphological characteristics and essential oil content in different of genotypes of three species of mint. Journal of Plant Process and Function, 4(13): 58-69.
29. Rezaei M.B., Jaymand K., and Jamzad Z. 2000. Chemical constituents of *Mentha longifolia* (L.) Hudson var. chlorodictya Rech. f. from three different localities. Pajouhesh-va-Sazandegi. 13:60-63 (in Persian with English abstract)
30. Saeidi K., Sefidkon F., and Babaei A. 2014. Determination of carotenoids and lycopene content of dog-rose (*Rosa canina* L.) fruit in different regions of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(5):839-842.
31. Tajali A., and Khazaeipoor M. 2002. Effect of height and organs on flavonoids of *Crataegus microphylla*. International Journal of Biosciences. 7:54-58.

www.SID.ir

Archive of SID

32. Tajali A.A., Amin G.R., and Gandomkar, G.A. 2009. Study and identification compounds of essential oil of *Camphorosma monspeliaca* in different phonological stages in Arak, Hamedan and Shahr-e-Kord rangelands. Rangeland. 3(2): 302-316 (in Persian with English abstract)
33. Tandon H.L.S. (Ed.). 1995. Methods of analysis of soils, plants, waters and fertilisers. New Delhi, India: Fertilisers Development and Consultation Organization.
34. Teixeira B., Marques A., Ramos C., Batista I., Serrano C., Matos O., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A., and Nunes M.L. 2012. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. Industrial Crops and Products, 36: 81-87.
35. Yavari A.R., Nazeri V., Sefidkon F., and Hassani M.E. 2010. Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2):227-238 (in Persian with English abstract)
36. Yazdani D., Jamshidi A.H., and Mojab F. 2002. Comparison on menthol content of cultivated peppermint at different regions of Iran. Journal of Medicinal Plants. 3:73-78 (in Persian with English abstract)
37. Zeinali H., Arzani A., and Razmjo K. 2004. Morphological and essential oil content diversity of Iranian minhs (*mentha* spp). Iranian Journal of Science & Technology, Transaction A, 28 No. A1.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2020, P. 698-710
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۷۱۰-۶۹۸
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Study of the Effect of Habitat on Morphological and phytochemical traits of Horsemint (*Mentha longifolia* L.)

M. Eisapoor[1*]- Kh. Hemmati[2]- N. Hemmati[3]

Received: 02-03-2019
Accepted: 27-11-2019

Introduction: Horsemint (*Mentha longifolia* L.) is a valuable medicinal and aromatic plant belonging to Lamiaceae family. It was reported that the contents and composition of perceived pharmacological properties varied significantly among populations. The genus *Mentha* L. (Lamiaceae), is widely distributed in all continents (except in South America and Antarctica). The systematic of the genus is not very elucidated because of the strong morphologic variations, levels of ploidy (2n = 2x = 24 to 2n = 6x = 96), and hybridizations intra- and interspecific (or between spontaneous and cultivated forms). *M. longifolia* or horsemint is a fast-growing and perennial herb which cultivated in all regions. The species possesses antimicrobial and antioxidant properties. The antimicrobial properties of the essential oils can be attributed to the presence of pulegone, menthone and neomenthone because they can destroy the structure of different polysaccharides, fatty acids and phospholipids by altering the permeability of the cell membrane and destroying the bacterial wall. The essential oils of horsemint are said to be cyclohexane and aromatic, and pulegone is the main compound of these oils has a definite aroma in the range of intense to spicy mint. The effects of environmental conditions on the plant growth and development, reproduction and distribution are well known in plant ecology. Many studies have been carried out about the relationships among plant chemical contents, biological activity and environmental variables in the natural and cultivated plant species. This information has been used to determine the medicinal value and economic importance of plant products.

Materials and Methods: In this research, the effects of six habitats with different altitudes (habitats of Amol city) on some morphological and biochemical characteristics of horsemint plants were investigated in a completely randomized design with three replications. This study was done to compare the amount of pulegone, total phenol, total flavonoids, antioxidant activity, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid and also morphological features of horsemint such as number of leaves per plant, number of branches per plant, number of flowers and number of nodes. For antioxidant properties using DPPH method in 517 nm wavelength, total amount of phenol using Folin-Ciocalteu method in 765 nm wavelength and the total amount of flavonoid were done using the aluminum chloride method in 415 nm wavelength and they were measured by spectrophotometer. Essential oil was extracted from dried aerial parts using distillation by Clevenger apparatus for 3 hours. Gas chromatography (GC) was used to measure pulegone.

Results and Discussion: The results showed that the altitude and ecotype significantly affecting the growth and biochemical characteristics of horsemint plant. The highest number of leaves (25) and the shoots (27) of horsemint were obtained in the Gat Lash region with 2000 meters and Siozmin with 1850 meters above sea level, respectively. Gat Lash and Siozmin had the highest and lowest content of photosynthetic pigments, respectively. Although there was no significant difference between the content of phenol and flavonoids in different habitats, the highest rates were observed in the Pardemeh and Gat Lash habitats. The results showed that the highest and lowest oil were obtained from ecotypes of Gat Lesh with 2000 meters and Vash Verin with 2300 meters above sea level, respectively. As the height increased, the amount of pulegone was also increased in the leaves, so that the highest amount of pulegone was found in Pardemeh (6069 ppm) habitat by 2600 meters above sea level.

Conclusions: Generally, for obtaining the highest essential oil content and pulegone, the best ecotypes were Gat Lash and Pardemeh habitats, respectively. Due to the importance and usage of secondary metabolites in the human life, investigating the relationship between environmental conditions with the production and accumulation of secondary metabolites in plants can be very useful. Our results showed that the climatic conditions had a significant effect on the morphological characteristics of the horsemint, thereby increasing or decreasing the essential oil. In the present study, the best habitat for the highest pulegone was Pardemeh habitat

1- M.Sc of Medicinal Plants, Sana Higher Education Institute, Sari
(*- Corresponding Author Email: mohsen_eisapoor@yahoo.com)
2- Associate Professor of Horticulture Science, Faculty of Plant Production, Gorgan Agricultural Science and Natural Resources
3- Ph.D of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

www.SID.ir

Archive of SID

but the habitat of Gat Lash could be a suitable habitat for domestication and cultivation of this plant because of its higher essential oil yield and relatively good pulegone content. For this purpose, it is recommended to study different habitats of this species in other parts of the country for finding the best ecotypes.

Keywords: Altitude, Essential oil, Habitat, Horsemint,Pulegone.

www.SID.ir