

## ارزیابی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی توده‌های پامچال وحشی (*Dionysia revolute*) شمال ایران تحت تاثیر عامل بوم شناختی ارتفاع از سطح دریا

مهدی محمدی‌ازنی، حسین مرادی\*

گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۱۱

### چکیده

عوامل محیطی به عنوان مهم‌ترین عامل موثر بر صفات مورفولوژیک و بیان ژن‌های بیوسنتزکننده ترکیبات شیمیایی در گیاهان می‌باشند. پامچال وحشی دارای ترکیباتی مانند سلیجیلین، بیزابولول، کوئینولن و تیمول می‌باشد. در طب سنتی از این گیاه جهت درمان ناراحتی گوارشی و زخم عفونی استفاده می‌شود. این تحقیق به منظور ارزیابی دو اختلاف ارتفاع از سطح دریا در استان مازندران (منطقه ازنی با ارتفاع ۱۰۳۵ متر، کسوت با ارتفاع ۴۸۱ متر) بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه خودرو پامچال وحشی به اجرا درآمد. صفات فیتوشیمیایی مورد بررسی شامل میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها نیز با استفاده از روش DPPH، محتوی کلرفیل a، کلرفیل b، کلرفیل کل بودند. صفات مورفولوژیکی طول برگ، عرض برگ، طول ریشه، طول دم گل، طول دم برگ، تعداد برگ در منطقه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش ارتفاع از سطح دریا منطقه ازنی صفات طول برگ، عرض برگ، طول دم برگ، طول دم گل نسبت به منطقه کسوت کاهش یافت. همچنین منطقه ازنی دارای طول ریشه و تعداد برگ بیشتری بود. این در حالی است منطقه ازنی دارای فلاونوئید برگ و گل و فنل کل گل بیشتری نسبت به منطقه کسوت بوده ولی در صفت آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی منطقه کسوت برتری معنی‌داری را نشان داد. به‌طورکلی با افزایش ارتفاع از سطح دریا صفات مورفولوژیکی از نظر کمی دچار کاهش شد و صفات بیوشیمیایی مانند فنل و فلاونوئید افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، فنل، فلاونوئید، کلروفیل، مازندران.

### مقدمه

شیمیایی آلدهیدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی قرار می‌گیرند (Amin et al., 2009; Srivastava et al., 2005). در قرن بیستم مطالعات فیتوشیمیایی روی ترکیبات طبیعی گیاهان دارویی منجر به کشف تعداد فراوانی از ترکیبات شیمیایی متنوع شده است (Francisco, 2007). همچنین یک سوم داروهای مورد استفاده دارای منشأ گیاهی هستند که این میزان رو به افزایش است (Omid Beigi, 2009). کشور ایران با موقعیت خاص آب و هوایی، بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی را در خود جای داده است که ۲-۳ برابر پوشش گیاهی

طبیعت منبعی شگفت‌انگیز از ترکیبات مناسب دارویی جدید با تنوع شیمیایی بسیار زیاد است که در میلیون‌ها گونه گیاهی، جانوری، جانداران دریایی و میکروارگانیزم‌ها یافت می‌شود (Cragg and Newman, 2013). متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان از جمله این ترکیبات هستند که بسیاری از آنها هنوز ناشناخته هستند. ترکیبات گیاهی که خاصیت ضدسرطانی و ضدتوموری دارند در گروه‌های

\*مسئول مکاتبه: moradiho@yahoo.com.com

شیمیایی اشاره نمود. تنوع ژنتیکی، کلیدی برای برنامه‌های به‌نژادی گیاهان است (Ning et al., 2008). ارزیابی تنوع ژنتیکی به وسیله انواع نشانگرهای مورفولوژیکی، سیتولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی انجام می‌شود (Singh et al., 2004). در گیاه پونه سرخ آبادی گزارش شد بازده اسانس در سه منطقه حدود یک درصد بوده و اختلاف در ترکیبات موجود در اسانس این گونه به اختلاف منطقه رویش نسبت داده شد (Tatian, 2001). همچنین تفاوت‌های کیفی و کمی مشاهده شده در گیاه مریم گلی تماشایی در زمان گلدهی از دو رویشگاه مختلف ناشی از تاثیر عوامل مختلف اکولوژیکی، جغرافیایی، اقلیمی و خاکی روی ترکیبات شیمیایی اسانس جمعیت‌های مختلف این گونه دانسته شد. (Sonboli et al., 2009). Hadiyan و همکاران (۲۰۱۷) طی تحقیقی تنوع صفات مورفولوژیکی و تنوع اسانس آویشن دنیایی را در دو سطح درون و بین جمعیتی در شش رویشگاه طبیعی با اقلیم متنوع مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد جمعیت ایلام به جهت دارا بودن مجموعه ای از صفات مطلوب رشدی، سازگاری به شرایط تنش و همچنین تنوع مناسب درون جمعیتی به عنوان منبع ژنتیکی مطلوب در برنامه‌های به‌نژادی و اهلی‌سازی می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد. Mohammad Nejad Ganji و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند در تحت تاثیر اختلاف از سطح دریا از دو رویشگاه مازندران میزان و ترکیبات بخش هوایی گیاه اسطوخودوس متفاوت بوده که می‌تواند به دلیل برخی تفاوت‌های اقلیمی، بوم‌شناختی و آب و هوایی رویشگاه باشد. طی پژوهشی از Haddadi Nejad و همکاران (۲۰۱۸) در مورد تنوع ژنتیکی گیاه نعنای با استفاده از صفات مورفولوژیکی در ۸ منطقه استان مازندران، نتایج نشان داد که گیاهان نعنای مورد مطالعه با ۱۰۰ درصد تنوع به دو دسته کلی قابل

تمامی قاره اروپا است و پیش‌بینی می‌شود که بیش از ۷۵۰ گونه دارویی در پوشش گیاهی ایران وجود داشته باشد (Kurian ankar, 2007).

دیونیزیا (*fanzl Dionysia*) متعلق به خانواده Primulaceae به دلیل عدد پایه کروموزومی متفاوت n=10 و دارا بودن یک کپسول پنج قسمتی از جنس پامچال (*Primula*) قابل تمیز می‌باشد. این گیاه جنس تیبیک ایران بوده و محدود به ناحیه فلور ایران، از جنوب غربی آناتولیا و غرب ایران تا تاجیکستان افغانستان می‌باشد ۳۰ گونه از این جنس مختص ایران است (Magnus, 2007). پامچال صخره‌ای (*Dionysia aretioides*) پامچال وحشی در شکاف سنگ‌ها و در کوهستان به صورت بوته‌های کوچک به همراه برگ گوستی، گل‌های زرد رنگی که در اوایل بهار ظاهر می‌شوند. در طب سنتی از این گیاه جهت درمان ناراحتی گوارشی و زخم عفونی استفاده می‌کنند (In-Sook and Cha-Ho, 2006).

طی پژوهشی که بر روی گیاه پامچال توسط Sa'adtmand و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد نتایج حاصل از تجزیه اسانس گیاه توسط GC-Mass نشان داد این گیاه دارای ترکیبات سلیجیلین، بیزابولول، کوئینولن، تیمول می‌باشد. سلیجیلین ترکیبی می‌باشد که از تجزیه دوپامین در مغز جلوگیری می‌نماید و سطوح کم این ماده در بیماری پارکینسون دخیل می‌باشد (Motaleb and Hanachi, 2005). بیزابولولین ترکیب دارای خاصیت التیام‌دهندگی و ضد باکتری می‌باشد (Wendelbo, 1961).

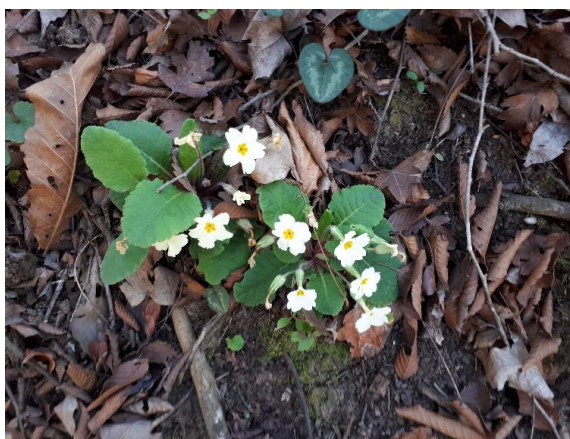
تولید متابولیت‌های ثانویه تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی و ژنتیکی قرار دارد. در بخش عوامل محیطی زیست بوم، محل رویش و موقیت گیاه در طبیعت نقش مهمی بر میزان عصاره و مواد موثره این گیاهان ایفا می‌کند. Omid Beigi (۲۰۰۵) به وجود ارتباط بین محل رویشگاه و تاثیر آن بر میزان ترکیبات

با ارتفاع ۱۰۳۵ متر از سطح دریا است و طول جغرافیایی آن ۵۳ درجه ۲۴ دقیقه ۸۲۶ ثانیه و عرض جغرافیایی آن ۳۶ درجه ۱۴ دقیقه و ۸۰۵ ثانیه می‌باشد. رویشگاه دوم ۳۵ کیلومتری شهر ساری در مسیر جاده ساری کیاسر واقع شده است و ارتفاع این ناحیه ۴۸۱ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی این منطقه ۵۳ درجه ۱۸ دقیقه و ۴۰۰ ثانیه و عرض جغرافیایی آن ۳۶ درجه ۲۱ دقیقه و ۰۹۰ ثانیه است. به منظور بررسی تنوع صفات مورفولوژیکی، تعداد برگ، طول برگ، عرض برگ، طول دم‌برگ، طول دمگل و طول ریشه (جهت اندازه‌گیری ریشه ابتدا بوته با تمام خاک اطراف آن توسط بیل از خاک خارج کرده سپس طول ریشه اندازه‌گیری شده است) در رویشگاه طبیعی آنها با سه تکرار اندازه‌گیری شده است.

تقسیم هستند. پامچال وحشی به صورت خودرو در جنگل‌های برخی از مناطق ایران رشد می‌کند و تحقیقات زیادی بر روی بومی کردن شناسایی این گیاه صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاه پامچال با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تاثیر ارتفاع از سطح دریا (۴۸۱ و ۱۰۳۵ متر از سطح دریا) در دو رویشگاه استان مازندران می‌باشد. تا زمینه لازم برای تحقیقات آینده بر روی این گیاه جهت استفاده در صنایع مختلف از جمله دارو سازی ایجاد گردد.

#### مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور ارزیابی ژنتیکی گیاه پامچال از دو منطقه استان مازندران که دارای اختلاف ارتفاع قابل توجهی از سطح دریا بودند انجام گرفت. روستای ازنی واقع در ۱۵ کیلومتری شهرستان کیاسر



نمایی از پامچال وحشی (*Dionysia revolute*) منطقه کسوت



نمایی از پامچال وحشی (*Dionysia revolute*) منطقه ازنی

$$1000 * v/w * ((A_{645} * 55/2) - (A_{663} * 12/25))$$

= میلی گرم کلرفیل a در هر گرم برگ تر

$$1000 * v/w * ((A_{663} * 55/2) - (A_{645} * 20/31))$$

= میلی گرم کلرفیل b در هر گرم برگ تر

$$1000 * v/w * ((A_{645} * 55/2) - (A_{663} * 12/25))$$

= میلی گرم کلرفیل کل در هر گرم برگ تر

کلرفیل: اندازه‌گیری کلرفیل بر مبنای روش Arnon

(۱۹۹۴) و با خواندن جذب نوری عصاره استنی حاصل از یک گرم برگ با دستگاه اسپکترو فتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ نانومتر و ۶۶۳ نانومتر و استفاده از روابط زیر برای سنجش میزان کلرفیل a، کلرفیل b و کلرفیل کل صورت گرفت.

۴۱/۲ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. در نمونه شاهد به جای عصاره متانولی، از متانول خالص استفاده شد. مخلوط نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد. سپس بلافاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر عدد جذب قرائت شد. در نمونه شاهد نیز به جای عصاره، از متانول خالص استفاده گردید (Chang et al., 2002).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در نرم افزار ۲۰۱۶ وارد شد ابتدا آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد و سپس با نرم افزار Spss نسخه ۱۹ بر پایه صفات مورفولوژیکی براساس روش Wards بر مبنای فواصل مربع اقلیدسی تجزیه و نمودار خوشه‌ای رسم گردید.

### نتایج

**صفات مورفولوژیکی:** نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر مناطق برداشت بر صفت طول برگ، عرض برگ، طول دم برگ، تعداد برگ و طول دم‌گل در سطح یک درصد معنی دار شده است (جدول ۱). به‌طوری که منطقه کسوت در صفات طول برگ، عرض برگ، طول دم‌برگ، طول دم‌گل بیشتری نسبت به منطقه ازنی داشته است (شکل ۱). منطقه ازنی داری تعداد برگ بیشتری نسبت به منطقه کسوت داشته است (شکل ۲). همچنین صفت طول ریشه هم در سطح پنج درصد معنی دار شده است (جدول ۱). بیشترین طول ریشه را منطقه ازنی و کمترین طول ریشه را منطقه کسوت داشته است.

**آنتی‌اکسیدان کل:** جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل از رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل یا DPPH استفاده شد. به مقدار و غلظت مشخصی از عصاره متانولی، DPPH اضافه کرده و بعد از آماده شدن لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک قرار داده و در نهایت جذب ترکیب فوق‌الذکر در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد (Ebrahimzadeh et al., 2010).

**فنل کل:** اندازه‌گیری فنل کل به روش فولین سیوکالتیو انجام شد. به این منظور ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی (۰/۵ گرم در ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد) با ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو و ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و پس از ۵ الی ۸ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار (۶/۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن افزوده شد. محلول فوق به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و حمام بخار ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. در نمونه شاهد نیز به جای عصاره، از متانول ۸۰ درصد استفاده شد (Slinkard and Singleton, 1977).

**فلاونوئید کل:** سنجش فلاونوئید کل به روش آلومینیوم کلراید انجام شد. ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار

جدول ۱: جدول تجزیه واریانس اثر مناطق برداشت بر صفات مورفولوژیکی گیاه پامچال

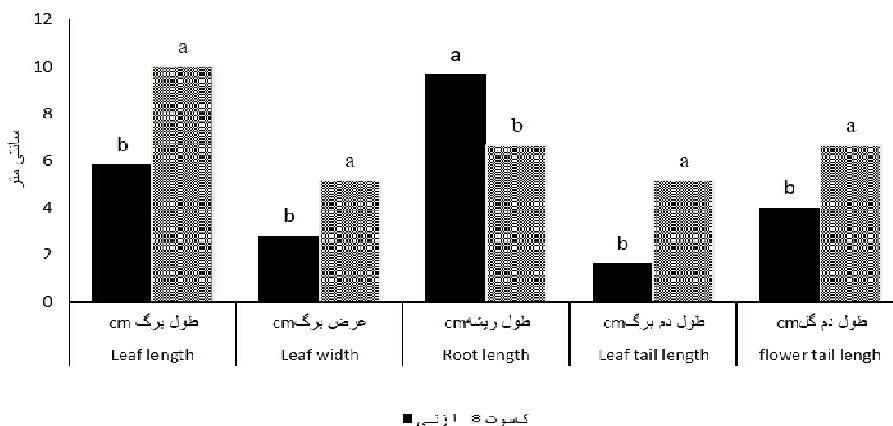
منطقه	df	طول برگ	عرض برگ	طول ریشه	طول دم برگ	تعداد برگ	طول دم گل
منطقه	۱	۲۶۷۰۴۱**	۸/۴۰۱**	۱۳/۵*	۱۸/۳۷**	۳۷/۵**	۱۰/۶۶**
خطا	۴	۰/۰۴۱	۰/۰۷۶	۱/۷۰	۰/۷۰	۱/۳۳	۰/۰۴۱
cv%		۲/۷۵	۶/۹۵	۱۶	۲۴/۶۳	۹/۷۵	۳/۸۲

ns، \* و \*\*: به ترتیب بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۵ و ۰/۱.

جدول ۲: جدول تجزیه واریانس اثر مناطق برداشت بر صفات فیتوشیمیایی گیاه پامچال

df	آنتی اکسیدان برگ	آنتی اکسیدان گل	فلاونوئید برگ	فلاونوئید گل	فنل گل	کلرفیل a	کلرفیل b	کلرفیل کل
منطقه ۱	۱۹۲/۸۶**	۱۰۳/۰۷**	۱۹۱۵۰/۷*	۳۱۳۸/۶*	۴۹/۱**	۰/۰۱۸**	۰/۰۱۹*	۰/۰۶**
خطا ۲	۱/۰۵**	۰/۰۰۸**	۱۲۲۸/۳*	۳۵۸/۱*	۲/۱۸**	۰/۰۰۰۲**	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۲**
cv%	۴/۴۹	۰/۱۵	۱/۷۵	۰/۹۱	۷/۰۱	۲/۶۴	۱۱/۰۳	۵/۵۲

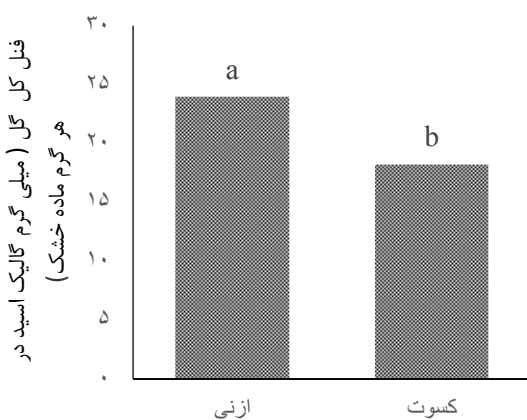
\* و \*\*: به ترتیب بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.



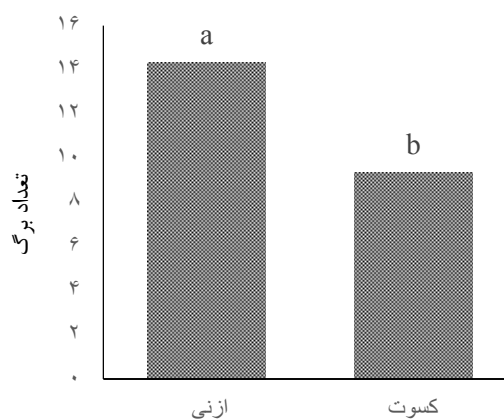
شکل ۱: مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی (طول برگ، عرض برگ، طول ریشه، طول دم برگ، طول دم گل) در دو منطقه برداشت

آنتی اکسیدان کل برگ و گل در پامچال‌های منطقه کسوت با ارتفاع کمتر، بیشتر از پامچال‌های منطقه ازنی بود (شکل ۵). میزان فلاونوئید کل موجود در برگ و گل در سطح ۵ درصد معنی دار شد (جدول ۲) میزان فلاونوئید کل در گل و برگ پامچال‌های منطقه ازنی بیشتر از منطقه کسوت بوده است (شکل ۴).

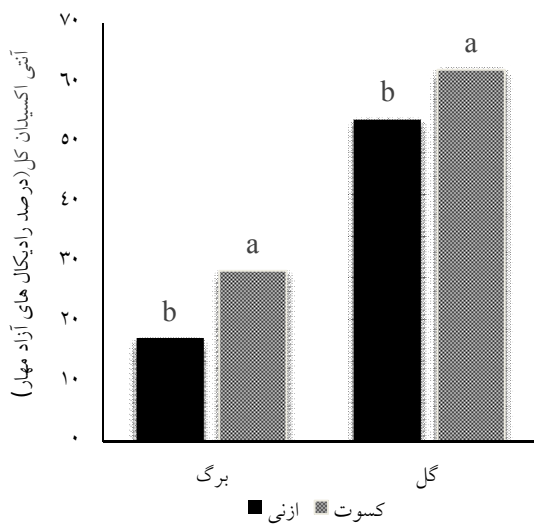
فعالیت آنتی اکسیدانی: براساس نتیجه آنالیز واریانس اثر مناطق برداشت بر میزان فنل کل گل و آنتی اکسیدان کل برگ و گل در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). به طوری که منطقه ازنی با ارتفاع بیشتر (۱۰۳۵ متر) دارای فنل گل بیشتری نسبت به منطقه کسوت بود (شکل ۳). همچنین میزان



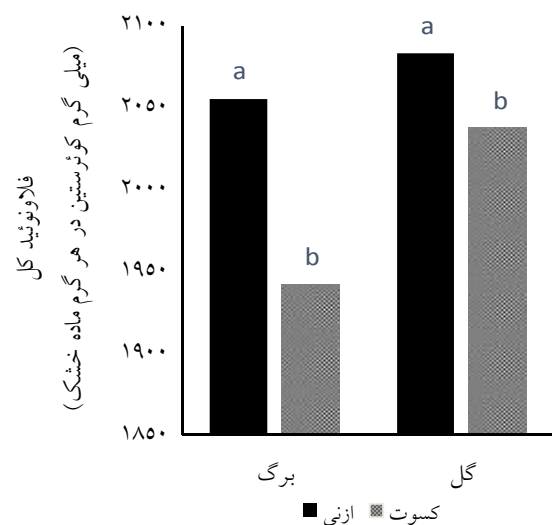
شکل ۳: مقایسه میانگین فلاونوئید گل در دو ارتفاع



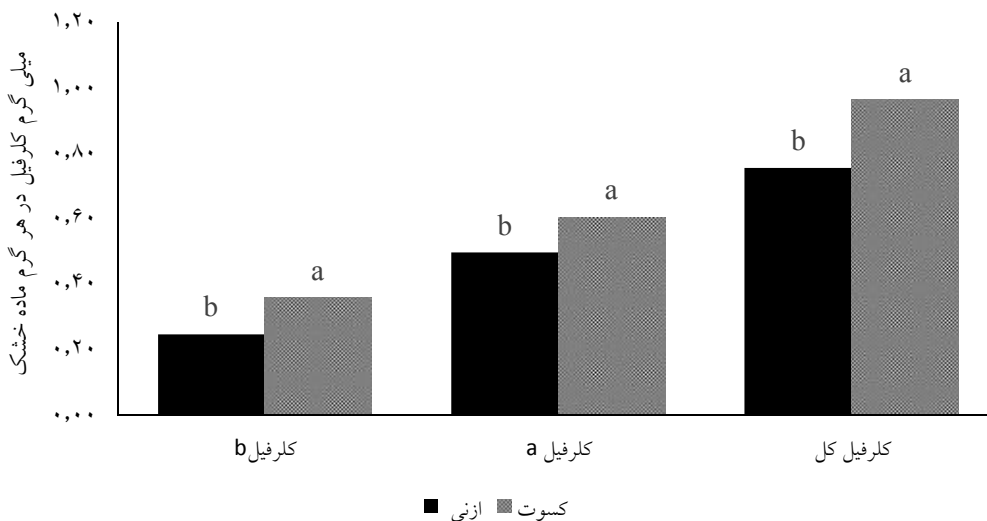
شکل ۲: مقایسه میانگین تعداد برگ در دو ارتفاع



شکل ۵: مقایسه میانگین آنتی اکسیدان برگ و گل پامچال در دو ارتفاع



شکل ۴: مقایسه میانگین فلاونوئید برگ و گل پامچال در دو ارتفاع



شکل ۶: مقایسه میانگین کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل پامچال در دو منطقه برداشت

تعداد برگ، فنل کل گل، فلاونوئید کل برگ و گل و در ارتفاع پایین نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه کسوت صفات طول برگ، عرض برگ، طول دم‌برگ، طول دم گل، کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b، آنتی‌اکسیدان کل برگ و گل افزایش می‌یافت.

نمودار تجزیه خوشه‌ای: تجزیه خوشه‌ای براساس صفات مورفولوژیکی گونه‌های مورد بررسی را در دو دسته گروه بندی شدند که ۱۰۰ درصد تنوع را در

رنگیزه‌های فتوسنتزی: بر اساس تجزیه واریانس اثر مناطق برداشت بر میزان کلروفیل کل و کلروفیل a در سطح یک درصد معنی‌دار شد و میزان کلروفیل b در سطح ۵ درصد معنی‌دار گشت (جدول ۲). به طوری که منطقه کسوت دارای میزان کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b بالاتری نسبت به منطقه ازنی بود (شکل ۶). بنابراین در ارتفاع بالا در نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه ازنی فاکتورهای طول ریشه،

ازنی قرار گرفتن که یکی از نمونه‌های منطقه ازنی بیش از ۲۵ درصد با نمونه‌های دیگر تفاوت نشان دادند (شکل ۷).

خود نشان دادند هر دسته خود نیز به دو زیر دسته تقسیم شدند که نمونه‌های کسوت در دسته اول در کنار هم دیگر قرار گرفتند و در دسته دوم نمونه‌های



شکل ۷: تجزیه خوشه‌ای پامچال در دو منطقه برداشت نمونه (۱ و ۲ و ۳ نمونه منطقه

ازنی و ۴ و ۵ و ۶ نمونه منطقه کسوت‌اند)

سطح دریا کاهش پیدا کرده است (Najjar Firoozjaji et al., 2018)؛ که با نتایج حاصل از این تحقیق همسو می‌باشد. همچنین در بسیاری از گیاهان تاثیر دمای پایین در کاهش خصوصیات رویشی اثبات رسیده است (Omidbaigi, 2000) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

میزان ترکیبات فلاونوئید کل گل و برگ همچنین میزان فنل کل موجود در گل با افزایش ارتفاع از سطح دریا افزایش پیدا کرده است به طوری که نمونه‌های جمع آوری شده از منطقه ازنی فنل و فلاونوئید بالاتری نسبت به نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه کسوت داشت با افزایش ارتفاع علاوه بر دما میزان رطوبت نسبی کاهش می‌یافت و به نظر می‌رسد کاهش دما و رطوبت از عوامل تاثیر گذار بر افزایش ترکیبات فنل و فلاونوئیدی باشد. در بیشتر مطالعات بر نقش رویشگاه به‌عنوان عامل تاثیرگذار در تولید متابولیت ثانویه تاکید شده است مکان رشد گیاه از طریق تغییرات دما و رطوبت بر میزان متابولیت ثانویه گیاهان تاثیر می‌گذارد مکانیسم اثر گذار بر تولید متابولیت ثانویه هنوز به روشنی مشخص نشده است

## بحث

طبق نتایج بدست آمده صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پامچال وحشی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف تحت تاثیر شرایط محیطی مختلف تغییر ارتفاع محل رویش قرارگرفتند. با افزایش ارتفاع میانگین دمای هوا کاهش می‌یابد و از آنجایی که رشد و نمو اندام گیاهی در دمای پایین کم می‌شود بیشتر صفات مورفولوژیک مورد بررسی در این مطالعه نظیر طول برگ، عرض برگ، طول دم برگ، طول دم گل با افزایش ارتفاع کاهش یافت. همچنین گیاهان به دلیل نیاز بالای نوری برای فتوسنتز بیشتر تحت تاثیر نور UV قرار می‌گیرد و آسیب‌پذیرتر می‌شوند (Nasibi et al., 2003). بنابراین عامل دیگر کاهش صفات مورفولوژیک در این گیاه در ارتفاع بالا می‌تواند به دلیل افزایش نور UV در ارتفاع بالا باشد. Narimani و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که با افزایش ارتفاع از سطح دریا ارتفاع بوته، طول و عرض برگ و طول گل آذین در دو گونه مورد بررسی جنس نپتا کاهش یافتند. همچنین طی پژوهش دیگر بر روی گیاه گزنه طول و عرض برگ و ارتفاع گیاه با افزایش ارتفاع از

فلاونوئیدی در مناطق با آب هوای سرد بیشتر از مناطق گرم بوده است چون در مناطق سرد طول دوره تقسیم سلولی افزایش می‌یابد و عوامل تولید ترکیبات فلاونوئیدی بیشتر می‌شود (Davise and Albrigo, 1994). همچنین میزان ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی گیاه گردو در مناطق با ارتفاع بالاتر و میانگین دمای روزانه پایین‌تر بیشترین میزان بود (Ghasemi et al., 2011).

### نتیجه‌گیری نهایی

بررسی نتایج این تحقیق و پژوهش‌های دیگران تایید کننده این مطلب است که صفات مورفولوژیکی و صفات بیوشیمیایی در طبیعت تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله اقلیم، منطقه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد. میزان فعالیت آن‌تی اکسیدان کل برگ و گل و میزان کلرفیل a، کلرفیل b، و کلرفیل کل با افزایش ارتفاع از سطح دریا در منطقه ازنی کاهش پیدا کرد. به‌طور کلی در این گیاه با افزایش ارتفاع از سطح دریا صفات مورفولوژیکی کاهش نشان دادند و برخی صفات بیوشیمیایی مانند فنل و فلاونوئید افزایش یافت. بیان این نکته ضروری می‌باشد که علاوه بر عوامل محیطی، عوامل ژنتیکی به عنوان یکی از فاکتورهای بسیار مهم بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاهان موثر می‌باشد.

ولی این مطلب تأیید شده است که محیط از طریق تأثیری که در فرایند تولید متابولیت ثانویه و آنزیم‌های مرتبط با آن در نوع و شدت واکنش شیمیایی تأثیر می‌گذارد (Hemati et al, 2003; Srivastava and Shym, 2002).

همچنین افزایش ترکیبات فنلی با افزایش ارتفاع میتواند به دلیل پاسخی به افزایش UV باشد (Hohtola, Tosserams et al., 1996; Jaakola and Buchholz et al., 1995, 2010)، که با نتایج ما هم جهت بوده است. طی پژوهشی از Najjar Firoozjaji و همکاران (۲۰۱۵) اثر ارتفاع بر خصوصیات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه گزنه در استان‌های گلستان و مازندران را بررسی و مشخص شد که با افزایش ارتفاع میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی افزایش می‌یابد. Narimani و همکاران (۲۰۱۸) بیان داشتند با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد طی تحقیقی دیگر بیان شده است میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید گیاه سرخ ولیک *Crataegus microphylla* در ارتفاعات بالا دارای بیشترین مقدار و در ارتفاعات پایین کمترین مقدار بود (Tajali and Khazaeipoor, 2012). طی پژوهش دیگر بیان شده است با افزایش ارتفاع میزان ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می‌یابد (Oomaha and Mazza, 1996). در تحقیقات انجام شده بر روی میزان ترکیبات فلاونوئیدی مرکبات بیان شد ترکیبات

### References

- Amin, A., Gali-Muhtasib, H., Ock, M. and SchneiderStock, R. (2009). Overview of major classes of plant-derived anticancer drugs. International Journal of Biomedical Science. 5: 1-11.
- Arnon, D. (1994). Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-10.
- 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.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food Drug Anal, 10: 178-182
- Cragg, G.M. and Newman, D.J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. Biochimica et Biophysica acta, 1830: 3670-3695.



- Davies, F.S. and Albrigo, L.G. (1994).** Citrus. Wallingford: CAB International. Libraries Australia.
- Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Eslami, B. (2010).** Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. Central European Journal of Biology. 5: 338-345.
- 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.
- Haddadi Nejad, M., Mohammadi Azni, M., Mousavi, S.M. and Hosseini, S.M.A. (2018).** Evaluation of Genetic Diversity of Mint Medicinal Plants in Different Regions of Mazandaran Province Using Morphological Traits. First National Conference on Agricultural and Garden Plants 5 Bahman, 511-515
- Hadiyan, J., Karimi, A., Shorabi, M., Najafi, F. and Kanaani, M.R. (2017).** Investigation of morphological diversity and analysis of coefficients of essential oil yield in (*Thymus daenensis* Celak) populations. Plant Production Technology. 16(1): 41-56.
- 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.
- Jaakola, L. and Hohtola, A. (2010).** Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Plant, Cell and Environment, 33(8): 1239-124.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977).** Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.
- Francisco, A., Macias, J. and Galindo, J. (2007).** Evolution and current status of ecological phytochemistry. Phytochemistry. 68: 2917-2936.
- Fu, X., Ning, G., Gao, L. and Bao, M. (2008).** Genetic diversity of dianthus accessions as assessed using two molecular marker systems (SRAPs and ISSRs) and morphological traits. Scientia Horticulture. 117: 263-27.
- In-Sook, R.I.M. and Cha-Ho, J.E.E. (2006).** Acaricidal effects of herb essential oils against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). Korean Journal of Parasitology. 44 (2): 133-138
- Kurian, A. and Sankar, M.A. (2007).** Medicinal Plants, New India Publishing Agency.
- Magnus, L. (2007).** The genus *Dionysia* (Primulaceae), a synopsis and five new species. Wildenowia 37: 37-61.
- Mohammad Nejad Ganji, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A. and Akbarzadeh, M.A. (2018).** The quantity and quality of secondary metabolism of lavender plant are affected by the ecological factor of altitude. New Findings in Life Sciences 4: 166-172.
- Motalleb, G. and Hanachi, P. (2005).** Evaluation of Phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extracts. Journal Biological Sciences, 17: 648-653.
- Najjar Firoozjahi, M., Hemati, K.h., Khorasani Nejad, S., Gariki Khani, A. and Bagheri Fard, A. (2015).** Effect of Altitude on Morphological and Biochemical Characteristics of *Urtica dioica* L. in Mazandaran and Golestan Provinces. Iranian Journal of Plant Ecophysiology, 35: 1-11.
- Narimani, R., Moghaddam, M., Ghasemi Pirbaloti, A. and Shokouhi, D. (2018).** The study of morphological diversity, total phenolic contents and antioxidant activity indifferent populations of *Nepeta nuda* and *Nepetacrassifolia* in Ardabil and East Azerbaijan provinces Quarterly. Journal of Ecophytochemistry of Medicinal Plants, 5(3): 13-22.
- 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.
- Newman, D.J. and Cragg, G.M. (2012).** Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. Journal of Natural Products 75: 311-335.
- Omid Beigi, R. (2009).** Production and processing of medicinal plants. Volume 3 (Third Edition). Astan Quds Razavi Publishing House, 397 p.
- Omidbaigi, R. (2000).** Approaches to production and processing of medicinal Plants. Publication Designers city. Mashhad. Volume 1. Second Edition. 281 p. (In Persian)
- Omidbeigi, R. (2005).** Production and processing of medicinal plant.- BahNashr. Mashhad.1: 347.

- Oomaha, B.D. and Mazza, G. (1996).** Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(7): 1746-1750.
- Sa'adtmand, S., Alaedini, A.R. and Salehi, M. (2009).** Antimicrobial properties of essential oil of *Dionysia revolute* on *Staphylococcus aureus* and determination of its chemical composition by GC-Mass method. *Journal of Biological Sciences*, 1(2): 57-63.
- 30. Singh, A.P., Dwivedi, S., Bharti, S., Srivastava, A., Singh, V. and Khanuja, S.P. (2004).** Phylogenetic relationships as in *Ocimum* revealed by RAPD markers. *Euphytica*, 136:11-20.
- Sonboli, A., Canaani, M., Yousefzadi, M. and Mojarrad, M. (2009).** Comparison of chemical composition and antibacterial effects of essential oil (*Salvia hydrangea* L.) in two different localities- *Iranian J. of Med. and Arom. Plant*, 9: 20-28.
- Srivastava, A.W. and Shym, S. (2002).** Citrus: climate and soil. *Int. Book Distributing Company*. 559 p.
- Srivastava, V., Negi, A.S., Kumar, J.K., Gupta, M.M. and Khanuja, S.P. (2005).** Plant-based anticancer molecules: a chemical and biological profile of some important leads. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 13: 5892-5908.
- Tajali, A.A. and Khazaeipool, M. (2012).** Effects of height and organs on flavonoids of *Crataegus microphylla* C. Koch in Iran. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 2(7): 54-58.
- Tatian, M.R. (2001).** Sociological studies of plant (Phytosociology) summer pastures Hezarjarib-Behshahr- Master s thesis. 128p.
- 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
- Wendelbo, P. (1961).** Studies in Primulaceae I. A monograph of genus *Dionysia*. *Aarbok Univ. Bergen, Mat. Naturvitensk. Ser.* 3:87-98.