بررسی مهمترین نیازهای اکولوژیکی، ترکیب‌های شیمیایی اسانس، فنل و فلاونوئید کل و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی *Phlomis herba-venti* به همراه تهیه طیف فلورستیک گونه‌های منطقه هزارجریب بهشهر

عیسی جعفری فوتمی*[۱]، موسی اکبرلو[۲]، معصومه مازندرانی[۳]، محمدرحیم فروزه[۴]

[۱]دانشجوی دکتری علوم مرتع، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۲]دانشیار گروه علوم مرتع، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۳]دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، گرگان، ایران

[۴]استادیار گروه علوم مرتع، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۲٤ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۵/۰۹/۱۹

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی مهمترین نیازهای اکولوژیکی، ترکیب‌های شیمیایی اسانس، فنل و فلاونوئید کل و آنتی‌اکسیدانی گیاه گوش بره نفش نیش دار (*Phlomis herba-venti*) در رویشگاه طبیعی منطقه هزارجریب بهشهر استان مازندران انجام گرفت. همزمان با بررسی لیست فلورستیک، گونه‌های همراه منطقه مورد مطالعه و مهمترین نیازهای اکولوژیکی آن ثبت گردید و به منظور عملیات آزمایشگاهی، سرشاخه‌های گلدار گیاه از رویشگاه منطقه هزارجریب و در محدوده ارتفاعی ۱۰۰۰– ۲۰۰۰ متر، در خردادماه جمع‌آوری گردید. اسانس نمونه با استفاده از دستگاه تقطیر (طرح کلونجر) استخراج و ترکیبات شیمیایی آن با استفاده از دستگاه GC/MC شناسایی گردید. ارزیابی میزان فنل و فلاونویید کل با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری و میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره با استفاده از روش DPPH ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که گیاه گوش بره بیشتر در محدوده ارتفاعی ۲۰۰۰ با اقلیم نیمه مرطوب سرد، بارش ۳۸۳ میلی‌متر و متوسط درجه حرارت ۱۲/٤٤ درجه سانتی گراد و در خاک‌هایی با بافت شنی–لومی، ماده آلی خاک منطقه پراکنش گیاه ۵/۰٦ و اسیدیته ۷/۵۳، هدایت الکتریکی ۰/٦۲، رشد دارد. رشد رویشی گیاه در اوایل اردیبهشت، گلدهی در خرداد تا تیرماه و پراکنش میوه در شهریور انجام می‌گیرد و طیف فلورستیک گونه‌های همراه متعلق به ٤۷ جنس و ۵۵ گونه بوده است. در طب سنتی، منطقه بیشتر از سرشاخه‌های گلدار گیاه به‌عنوان ضدعفونی کننده و ضد التهاب استفاده می‌شود. مواد موثره دی–ژرماکرن (٥٤/٤۷ درصد) و کاریوفیلن (۱۵/۸۱ درصد) از بیشترین ترکیبات موثره اسانس بودند. میزان فلاونویید کل (۱۲۰/٤۰ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک گیاه) و فنل کل (۳/۲ میلی گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک گیاه) از عملکرد بهینه آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد با میزان ۳/۹ برخوردار بود. نتایج بدست آمده از این تحقیق در تایید مصارف سنتی این گیاه در منطقه قابل بحث می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اتنوفارماکولوژی، اسانس، فنل و فلاونوئید کل، گوش بره (*Phlomis herba-venti*)

*نویسنده مسئول: Isa.jafari84@gmail.com

مقدمه

جنس *Phlomis*، متعلق به تیره نعناع، در ایران ۱۷ گونه گیاه علفی چند ساله به گل‌های فراهم و بیشتر درشت و زیبا دارد که از این میان ۱۰ گونه انحصاری و بومی ایران است. گونه‌های *Phlomis* برای درمان عوارض مختلفی مانند دیابت، زخم معده، بواسیر، التهاب و جراحت کورد استفاده قرار می گیرند. اسانس *Phlomis* از چهار ترکیب مونوترپن، ترکیبات آلفاتیک، اسیدهای چرب و ترکیبات دیگر تشکیل شده است. فلاونوئیدها نیز ترکیبات اصلی جداشده از عصاره‌های *Phlomis* هستند. اثرات ضد دیابتی، کاهش حساسیت، تحریکات دردناک، ضدزخم، حفاظت از عروق، ضد التهابی، ضدآلرژی، ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بعضی از گونه‌های این گیاه در مطالعات داروشناسی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Limem-Ben Amor and Boubner, 2009).

کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان گیاهان تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله واریته گیاه، شرایط آب و هوایی، خاک، روش کشت، زمان برداشت و روش بهره‌برداری متفاوت است. اخیرا بعضی از عصاره‌های گیاهی از خانواده Labiateae مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، اما گیاهان این خانواده در شرایط مختلف فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی نشان می‌دهند (Morteza-Semnani et al., 2006; Firuzi et al., 2013; Sharapov et al., 2015).

در بررسی‌های مختلف ارزیابی اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و ضدباکتریایی عصاره‌های اتانولی گونه‌های مختلف گیاه *Phlomis* گزارش شده که بیشتر علت عملکرد دارویی و آنتی‌اکسیدانی گیاه را به ترکیبات ترپنوییدی، فنل و فلاونوییدهای آن نسبت داده‌اند (Aburjai et al., 2001; Darwish et al., 2002; Kyriakopolou et al., 2001; Harvala et al., 2000; Ristic et al., 2000). شواهد نشان می‌دهد آنتی اکسیدان‌های طبیعی در گیاهان موجب کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های تحلیل برنده و نیز اثر محافظتی در مقابل استرس‌های اکسیداتی دارند. این اثرات ممکن است به طبیعت آنتی اکسیدان‌ها از جمله اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، ترپن.ییدها، ویتیامین E و غیره باز گردد که توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را داشته و محافظت از سلول‌ها در آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند (Konyahoglu and Karamenderes, 2004; Ozgen et al., 2004).

استفاده از گیاهان دارویی بومی که علاوه بر سازگاری‌های اکولوژیکی قادرند با سنتز مواد موثره ثانوی و فعال در بحث پیشگیری و درمان بیماری ها موثر واقع شوند، در سال های اخیر جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی یافته است (Mazandarani et al., 2015). از آنجایی که تنوع پوشش گیاهی و کیفیت مواد موثره دارویی در گیاهان هر منطقه، متاثر از تنش‌های اکولوژیکی و حتی فنولوژی گونه‌های آن منطقه می‌باشد (Sindambiwe et al., 1999; Yuan and lin, 2000)، لذا رویکرد جامعه جهانی بهداشت به سمت شناسایی نیازهای اکولوژیکی گونه ها در رویشگاه‌های طبیعی، اتنوفارماکولوژی، استخراج مواد موثره و از همه مهمتر بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی آنها با هدف احیا، کشت، استخراج مواد موثره طبیعی و تولید داروهای طبیعی و کم خطر می‌باشد (Bodeker, 2000; Rechinger and Hedge, 1982). از آن جمله گیاه دارویی : گوش بره بنفش نیش دار (*phlomis herba-venti*) است که تاکنون درباره فنل و فلاونوئید کل، فیتوشیمی و آنتی اکسیدانی آن در استان مازندران پژوهشی انجام نشده است.

Phlomis herba -venti (گوش بره بنفش نیش دار) گیاه پایا، علفی، با ارتفاع ۳۰-۷۰ سانتی‌متر، پوشیده از کرک یا کرکینه پوش. **ساقه**: ایستاده، محکم،

با انشعاب دور از هم و هرمی شکل، متقابل و پانیکولی. **برگ**: محکم، چرمی-غشایی، پهن دراز-سرنیزه‌ای، کنگره‌ای یا تقریباً کامل، پایینی‌ها طویل، ساقه ایها مختصرا دمبرگ دار، **گل**: تقریبا بزرگ، صورتی ارغوانی، متمایل به بنفش، بدون دمگل، مجتمع در ۲-۵ پرخه دور از هم و تقریباً پرگل. (قهرمان، ۱۳۸۳). کاربرد دارویی این گیاه به‌عنوان ضدنفخ و ورم داخلی و خارجی می‌باشد و از سرشاخه‌های گلدار گیاه استفاده می‌شود. لذا با توجه به پراکنش بهینه گونه *Phlomis herba-venti* در منطقه این تحقیق برای نخستین بار هدف شناسایی ویژگی‌های فیتوشیمیایی، فنل و فلاونوئید کل و آنتی‌اکسیدانی در مرحله گلدهی در رویشگاه طبیعی آن در منطقه هزار جریب بهشهر استان مازندران انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: منطقه مورد مطالعه به لحاظ تقسیمات سیاسی در مرز بین استان‌های مازندران و گلستان و سمنان، در منطقه هزارجریب در ۸۰ کیلومتری شهرستان بهشهر، با مختصات جغرافیایی "٤٤ و'٠٣ و°٥٤ و "١٨ و' ٤٢ و°٥٣ طول شرقی و و'٣٤ و°٣٦ تا ' ٥٨ و°٣٥ عرض شمالی واقع شده است. منطقه مذبور از حدود ارتفاعی ۱۷۰۰ متر شروع شده و تا مرز استان سمنان یعنی ارتفاعی بالغ بر ۳۰۰۰ متر امتداد می یابد و بر اساس اقلیم نمای آمبروژه نوین دارای آب و هوای مرطوب تا نیمه مرطوب سرد است. پوشش منطقه بسیار متنوع بوده به صورتی که در راستای کاری مورد نظر پوشش‌های گیاهی متفاوتی مانند جنگل‌های پهن برگ، مراتع بوته ای و علفزار مشاهده شده است (Tatian, 2000).

نمونه‌برداری خاک: در محل رویش گونه مورد نظر، پس از برداشت گونه به اندازه کافی، نمونه ای خاک به صورت تصادفی و در ۵ تکرار برداشت شدند و خصوصیات خاکی پس از انتقال به آزمایشگاه تعیین گردیدند. بافت خاک به روش هیدرومتری تعیین گردید (Brauch, 2005). اسیدیته با استفاده از دستگاه pH متر دارای الکترود شیشه‌ای و هدایت الکتریکی با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (Song et al., 2006). کربن آلی خاک با روش تیتراسیون اندازه‌گیری شد (Sun et al., 2009). میزان آهک، از واکنش اسید کلریدریک نرمال با کربنات کلسیم خاک و تیتراسیون آن با سود به‌دست آمد (Jafari Haghighi, 2003). درصد رطوبت اشباع نمونه‌های خاک به صورت وزنی تعیین گردید (Famiglietti et al., 1998). مقدار پتاسیم و سدیم قابل جذب با استفاده از دستگاه شعله‌سنج و مقدار کلسیم و منیزیم قابل جذب به روش تیتراسیون، تعیین گردید (Shaidai Karkaj, 2011).

نمونه‌گیری از گیاه: در این تحقیق طی بازدیدهای مختلف صحرایی، رویشگاه طبیعی و نیازهای اکولوژیکی گیاه گوش بره بنفش نیش دار در منطقه شناسایی و ثبت گردید. پس از نمونه‌برداری خاک رویشگاه، به‌منظور تهیه طیف فلورستیک، مهمترین گونه‌های همراه گوش بره بنفش نیش‌دار از رویشگاه مورد مطالعه جمع‌آوری و شناسایی گردیدند. سرشاخه‌های گلدار گیاه در خرداد ماه ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید.

مطالعات فیتوشیمیایی

استخراج اسانس: پس از نمونه برداری، نمونه‌ها در شرایط محیط خشک می گردد، از ٦٠ تا ١٠٠ گرم از سرشاخه‌های گلدار خشک شده گیاه توسط دستگاه طرح کلونجر به مدت چند ساعت مورد اسانس‌گیری قرار می‌گیرد. اسانس بدست آمده تا زمان تزریق به دستگاه در شیشه تیره و در یخچال نگهداری شد.

مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی (GC/MS): اسانس به دست آمده تجزیه شده با استفاده از محاسبه ضرایب بازداری، هریک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آن‌ها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شناسایی شدند، طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 7890A، نوع دتکتور MS,5975 می‌باشد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس: برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی GC و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی GC/MS استفاده می‌شود. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C27) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده و مقایسه می‌شود.

بررسی عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه مورد مطالعه

عصاره گیری: استخراج عصاره به منظور تهیه عصاره: برای تهیه عصاره گیاهان موردنظر از اتانول ۷۰ درجه و روش پرکولاسیون استفاده شد. بدین‌منظور ۵۰ گرم از پودر نمونه‌های گیاهی را در داخل دکانتور ریخته، سپس مرحله به مرحله به آن اتانول گرم ۷۰ درجه افزودیم. افزودن اتانول را تا جایی ادامه دادیم که تمامی حجم گیاه داخل دکانتور خیس شده و مقداری از اتانول هم در روی سطح نمونه داخل دکانتور باشد چرا که در این حالت پودر گیاه بهتر می‌تواند حلال را در خود جذب نماید تا حداکثر مواد موثره در اتانول حل شود. لازم به ذکر است (که برای عصاره‌گیری کامل، حدود ۲٤ ساعت زمان بکار رفت و سپس عمل جداسازی حلال از عصاره نیز توسط دستگاه روتاری با کم پمپ خیلا انجام شد (Mashhadian and Bakhshandeh, 2005)

ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH: برای این منظور از رادیکال آزاد DPPH استفاده می‌شود. ابتدا عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های متفاوت 10×2-5 mg/100 الی 10×5-6 در متانل خالص تهیه و سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (8 mg/100) و عصاره‌ای گیاهی با غلظت‌های متفاوت تهیه و سپس جذب نمونه‌ها بعد از ۹۸ دقیقه در دمای آزمایشگاه در ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر به‌دست می‌آید.

R% = AD – AS/AD × 100; R% = درصد مهار؛ AD: جذب DPPH در ۱۵۰؛ نانومتر :AS جذب نمونه‌ها در ۱۵۰ نانومتر

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از پارامتر IC50 استفاده می‌شود یعنی غلظتی از عصاره که توانایی مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد را دارد (Ozgen et al., 2004).

اندازه‌گیری میزان فلاونویید کل: فلاونویید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری می‌شود و نتایج برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان می‌شود. ابتدا استانداردها بر حسب کوئرستین با غلظت‌های متفاوت (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر) تهیه می‌شود. به ۱سی‌سی از استانداردها و عصاره‌های اتانولی گیاه، ۰/۱ سی‌سی آلومینیوم ۰/۱٪، ۰/۱ سی‌سی استات پتاسیم ۰/۱ درصد و ۹ سی‌سی آب مقطر افزوده می‌شود و پس از هم زدن جذب آن در طول موج ٤۱۵ نانومتر قرائت می‌گردد. منحنی استاندارد نیز بر اساس محلول‌های استاندارد و جذب‌های نوری بدست آمده در Excel رسم خواهد شد، معادله بدست آمده نیز برای تعیین میزان فلاونویید عصاره های گیاهی مورد استفاده قرار خواهد گرفت. بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه خواهد شد (Purmorad et al., 2006).

اندازه‌گیری میزان فنل کل: میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتو اندازه گیری خواهد شد و نتایج برحسب میل گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان می‌شود. ابتدا استانداردها برحسب گالیک اسید با غلظت‌های متفاوت (۲۰،۴۰،۶۰،۸۰،۱۰۰،۱۲۰،۱۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شده سپس به ۰/۵ سی‌سی از هر یک از استانداردها و عصاره‌ها، ۵ سی سی فولین ۱۰٪، ٤ سی‌سی کربنات سدیم یک مولار اضافه می گردد و پس از ۱۵ دقیقه جذب در ۷٦۵ نانو متر قرائت می گردد. منحنی استاندارد نیز بر اساس محلول‌های استاندارد و جذب‌های نوری بدست آمده در Excelرسم گردیده و معادله بدست آمده نیز برای تعیین میزان توتال فنل عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار خواهد گرفت (Purmorad et al., 2006).

نتایج

نتایج نشان داد گوش بره بنفش نیش دار گیاهی علفی چند ساله متعلق به تیره نعناست که رویشگاه طبیعی آن در مراتع کوهستانی هزارجریب و ارتفاع ۲۰۰۰ متری و در فاصله ۷۵ کیلومتری کوه‌های جنوب شهرستان بهشهر واقع گردیده، دارای اقلیم نیمه مرطوب سرد، متوسط بارندگی سالیانه این منطقه ۳۸۳ میلی‌متر، متوسط درجه حرارت سالانه ۱۲/٤٤ درجه سانتی‌گراد است. خصوصیات خاک منطقه پراکنش گوش بره دارای ماده آلی ۵/۰٦، آهک، ۳۲/۳۱، اسیدیته ۷/۵۳ و هدایت‌الکتریکی ۰/٦۷ می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: خصوصیات خاک منطقه گونه *Phlomis herba-venti*

شن	سیلت	رس	منیزیم	کلسیم	سدیم	پتاسیم	رطوبت	EC	Ph	آهک	ماده‌آلی
٦۲/۲٦	۱۹/٤٦	۱۸/۲٦	۰/۷۸	۱٦/٦٤	۱۰/۷۱٦	۵/٤۷	۱٦/٤۱	۰/٦۷	۷/۵۳	۳۲/۳۱	۵/۰٦

در رویشگاه این گونه تعداد ۵۵ گونه گیاهی، متعلق به ٤۷ جنس و ۱۹ تیره شناسایی گردید که تیره Poaceae دارای بیشترین تعداد گونه می‌باشد و همچنین فرم رویشی همی کریپتوفیت دارای بیشترین فراوانی می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲: معرفی لیست فلورستیک به همراه فرم‌های زیستی، رویشی و عرصه‌های جغرافیایی گونه‌های موجود در زیستگاه طبیعی گیاه گوش بره.

نام اختصاری	فرم رویشی	فرم حیاتی	اسم فارسی	تیره	اسم علمی
Aegilops	Th	p	دانه تسبیح	Poaceae	*Aegilops sp*
As.rahen	Ch	p	گونه ای گون (علفی)	Fabaceae	*Astragalus denutatus*
Ag.elong	Ge	p	چمن گندمی بلند	Poaceae	*Agropyron elongatum*
Ag.pecti	He	p	چمن گندمی شانه‌ای	Poaceae	*Agropyron pectiniforme*
Br.tecto	Th	A	علف بام	Poaceae	*Bromus tecturom*
Br.donto	Th	p	جارو علفی هرز	Poaceae	*Bromus dontonieae*
Br.stral	Th	A	جارو علفی بلند	Poaceae	*Bromus sterilis*
Bebris.v	Ph	p	زرشک	Berberidaceae	*Berberis vulgaris*
Calmagts	He	p	نی گون	Poaceae	*Calamagristis sp*
Cichm.in	He	p		Asteraceae	*Cichorium intybus L*

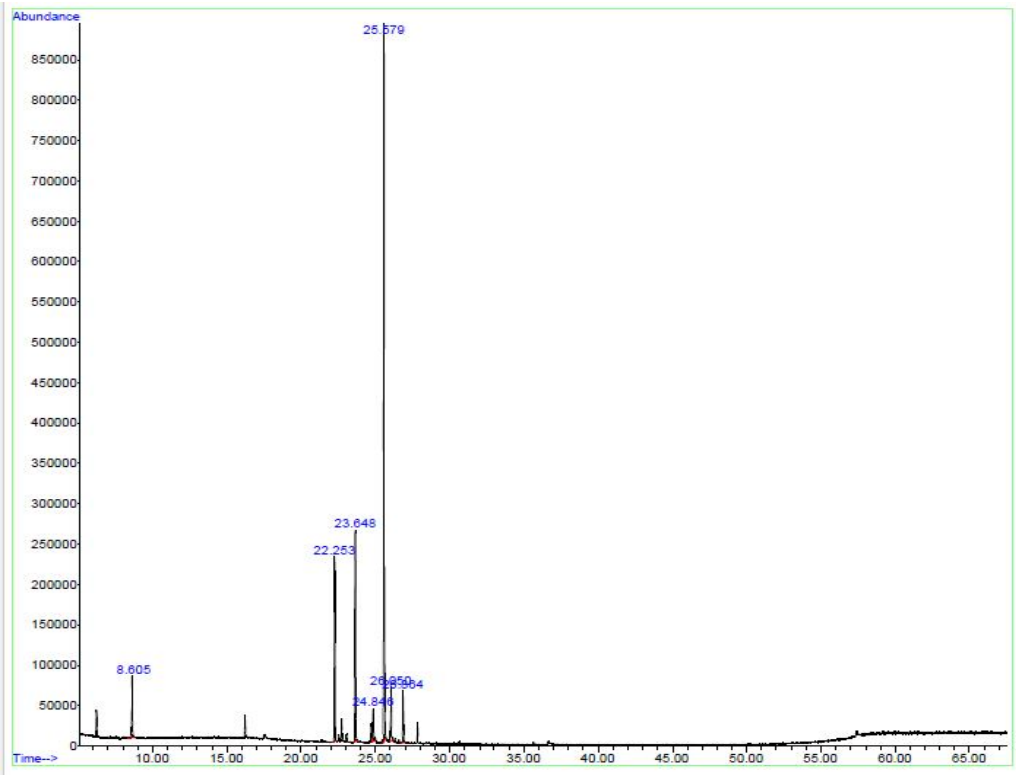
Cosinia sp	Asteraceae	هزار خار گل ماهوری	p	Th	Cosinia.
Cynodon dactylon	Poaceae	مرغ	p	Ge	Cyn.dact
Convovolus arvens	Convolvulaceae	پیچک	p	Ge	Convo.ar
Dactylis glomerota	Poaceae	علف باغ	p	He	Dact.glo
Echinops orientalis	Asteraceae	شکر تیغال	p	He	Echin.or
Eryngium bungei Boiss	Umbelliferae	زولنگ	p	He	Eryng.bu
Euphorbia aucheri	Euphorbiaceae	فرفیون کوهستانی	p	He	Euphr.au
Festuca ovina	Poaceae	گونه‌ای علف بره	p	He	Fe.ovina
Festuca.aroundinaceae	Poaceae	علف بره نی مانند	p	He	Fe.aroun
Festuca pratensis	Poaceae	علف بره	p	He	Fe.prten
Feremopyron orintale			p	Ge	Ferem.or
Hordeum bulbosom	Poaceae	جو پیازدار	p	He	Hor.bulb
Hulthemia persica	Scrophulariaceae	ورک	A	Ge	Hulth.pe
Junipyrus commonis	Cupressaceae	ارس	p	Ph	Ju.comns
Lolium perenne	Poaceae	چچم	p	He	Lo.perne
Lolium rigidum	Poaceae	چچم	A	Th	Lo.rigid
Lotus cornicolatus	Papilionaceae	یونجه پا کلاغی	A	He	lotus.sp
Lycium sp	Solanaceae	گرگ تیغ	p	Ph	Lycium
Malva officinalis	Malvaceae	پنیرک	A	Ge	Malva.of
Menta aqvatica	Lamiaceae	پونه آبی	p	He	Menta.aq
Melica persica	Poaceae	ملیکا ایرانی	p	He	Melica.p
Medicago sp	Poaceae	گونه ای یونجه	p	He	Medic.sp
Melilotus sp	Fabaceae	یونجه زرد	A	He	Meliltos
Nepeta crasifolia	Labiateae	گونه ای پونه سا	p	He	Nept.crs
Noea macronata	Chenopodiaceae	خارکو	A	Th	Noea.mac
Onobrichys coruta	Papilionaceae	اسپرس	p	He	Onobr.sp
Onopordon sp	Asteraceae	شکاعی	p	He	Onopo.sp
Potenilla recta	Rosaceae	پنجه برگ	p	He	Potnil.r
Phlomis anisodonta	Labiateae	گوش بره کوهستانی	p	He	Phlms.an
Phlomis aucheri	Labiateae	گوش بره ایرانی	p	He	Phlms.au
Poa pratensis	Poaceae	چمن مرتعی	p	He	Poa.prat
Rumex elbursens	Polygonaceae	ترشک البرزی	p	He	Rumex.el
Taraxacum monthanum	Asteraceae	قاصدک	A	He	Tarax.mo
Trifolium repens	Fabaceae	شبدر سفید	A	He	Trifo.re
Thymus sp	Lamiaceae	آویشن	p	Ch	Thyms.sp
Teucrium polium	Labiateae	مریم نخودی	p	He	Teucr.po
Tragopogon officinalis	Asteraceae	شنگ	A	Th	Trago.of
Sangisorba minor	Rosaceae	توت روباهی	A	Th	Sangis.m
Sedum pallidum	Crassulaceae	گونه ای ناز	p	Th	Sedum.ac

Stachys inflata	Labiateae	سنبله ارغوانی	p	He	Stach.in
Stipa barbata	Poaceae	گیس پیرزن	p	He	Stipa.ba
Silene pruinosa	Caryophyllaceae	سایلن کوهی	A	He	Silen.pr
Tragopogon officinalis	Asteraceae	شنگ	A	He	Trago.of
Verbascum phlomoides	Scrophulariaceae	علف خرگوشک	A	He	Verbs.ph
Verbascum sp	Scrophulariaceae	گل ماهور	p	He	Verbs.sp

چندساله، P؛ یکساله، A؛ فانروفیت، Ph؛ کامفیت، Ch؛ همی کریپتوفیت، Hem ؛ تروفیت، Th؛ ژئوفیت، Ge

فرم رویشی همی‌کریپتوفیت با ٦٧ درصد به‌عنوان فرم رویشی غالب منطقه شناسایی شده است. در ادامه گیاهان تروفیت (٢٠ درصد)، فانروفیت (٣ درصد) کامفیت (٣ درصد) و ژئوفیت با ٥ درصد به‌ترتیب از دیگر فرم‌های رویشی منطقه بوده‌اند. فرم حیاتی غالب گونه‌های چند ساله با ٧٢/٧٢ درصد بوده‌اند، گونه‌های یکساله نیز ٢٧/٢٧ درصد گیاهان منطقه را به خود اختصاص داده‌اند.

نتایج تجزیه اسانس گیاه گوش بره بنفش نیش دار نشان می‌دهد، اسانس این گیاه دارای ٧ ترکیب مهم است که در مجموع ١٠٠ درصد از ترکیب کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ژرماکرن-دی با ٥٤/٤٧ بیشترین سهم را در ترکیبات اسانس دارا می‌باشد و 1,6,10-Dodecatriene کمترین میزان ترکیبات اسانس را دارا می‌باشد (شکل ١ و جدول ٣).



شکل ١: کارماتوگرام اسانس گیاه *phlomis herba-venti*

جدول ۳: شناسایی و مقدار ترکیبات موجود در اسانس گیاه

ردیف	نام ترکیبات	RT	%
۱	decane	۸/٦۰٥	٤/٥۰
۲	α-copaene	۲۲/۲٥۳	۱۳/۳٦
۳	caryophyllene	۲۳/٦٤۹	۱٥/۸۱
٤	1,6,10-Dodecatriene	۲٤/۸٤۳	۲/۹۱
٥	germacrene -D	۲٥/٥۸٤	٥٤/٤۷
٦	germacrene B	۲٦/۰٤۸	٤/٦۷
۷	naphthalene	۲٦/۸٦٦	٤/۲۸
	Total		۱۰۰

همانطور که در جدول ٤ مشاهده می‌شود، مقادیر مربوط به فنل و فلاونوئید کل و آنتی اکسیدان گیاه فلومیس آورده شده است و مقادیر فنل کل و فلاونوئید کل و آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه از عصاره بیشتر می‌باشد.

جدول ٤: محتوای فنل و فلاونوئید کل و آنتی اکسیدانی اندام‌های هوایی گلدار گیاه مورد مطالعه

	فنل کل (mg GAE g ^{01} DW)	فلاونوئید کل (mg QUE g ^{01} DW)	آنتی اکسیدانی (ppm)
اسانس	۱۲۰/٤۰	۳/۲	۳/۹
عصاره	۱۱۷/۷۰	۲/۹۷	۳/٦۱

بحث

در این تحقیق در بررسی لیست فلورستیک گونه ها (جدول ۲)، تعداد ٥٥ گونه گیاهی دارویی در رویشگاه گیاه گوش بره بنفش‌نیش دار شناسایی گردید و می توان گفت که منطقه مورد مطالعه از تنوع گونه ایی بسیار خوبی برخوردار است. تیره‌های آفتابگردان (۱۰/۹۰ درصد)، گندمیان (۳۲/۷۲ درصد) و نعنائیان (۱۲/۷۲ درصد) بیشترین تعداد گونه‌هارا به خود اختصاص داده و همچنین فرم‌های بیولوژیک غالب شامل تروفیت (۲۰درصد) و همی کریپتوفیت (٦۷ درصد) می باشند. فراوانی گیاهان ژئوفیت و همی کریپتوفیت در یک منطقه نشان دهنده اقلیم سرد و کوهستانی است که نتایج بررسی اقلیمی در این تحقیق نشان می دهد که کوهستان هزارجریب با اقلیم سرد و مرطوب سبب فراوانی فرم های زیستی ژئوفیت و همی کریپتوفیت شده است (Archibold, 1995). مازندرانی و همکاران (Mazandarani et al., 2013) نیز در بررسی فلورستیک مراتع ییلاقی چهار باغ و دراز نو از فرم های زیستی ژئوفیت و همی‌کرپتوفیت به عنوان اشکال زیستی غالب در مناطق کوهستانی جنوب استان گلستان گزارش نمودند.

غالب پژوهش‌هایی که با محور تعیین نوع ترکیبات شیمیایی روغن فرار استحصالی از گونه‌های مختلف جنس *Phlomis* صورت پذیرفته‌اند، نتایجی را آشکار نمودند که با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی دارد. ۷ ترکیب شناسایی شده از اسانس گونه گوش بره بنفش نیش دار ۱۰۰درصد از اسانس را تشکیل داده‌اند. که در این بین ژرماکرن-دی با ۲٤/۷ درصد و سپس کاریوفیلن ۱٥/۸۱ درصد بیشترین سهم را دارا می‌باشد و به‌عنوان ترکیب شاخص اسانس استحصالی

از گیاه مورد مطالعه معرفی می گردد که با نتایج دو پژوهش مرتبط که با هدف معرفی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس همین گیاه انجام گرفته همخوانی دارد (Khalilzadeh et al., 2008; Delnavazi et al., 2014). در هر دو تحقیق مذکور، از میان مجموع ترکیبات شیمیایی شناسایی شده، ژرماکرن دی به‌عنوان جزء شیمیایی غالب گزارش شده است.

مطالعات گذشته در مورد این گونه در استان مازندران نشان داد که ژرماکرن-دی (۳۱/۱ درصد)، تی-مورولول (۱۱ درصد) و آلفا-پنین (۷/۱ درصد) در اسانس برگ‌ها و ژرماکرن-دی (۳۹/۲ درصد)، آلفا-پنین (۹/۳ درصد) و 2-pentadecanone (۷/٦ درصد) در اسانس گل، ترکیبات اصلی هستند (Khalilzadeh et al., 2008). نتایج مطالعات دیگر بر *P. herba-venti* در استان کرمان نشان داد که ژرماکرن-دی (۲٤/۵ درصد)، بایسیکبوماکرن (۱٤/۱ درصد) و آلفا-پنین (۱۳/۵ درصد) و آلفا-فارنسه (۱۳/٤ درصد) از ترکیبات اصلی گیاه هستند. ژرماکرن-دی و آلفا-پنین در سطوح قابل ملاحظه ای از ترکیبات روغن‌های ضروری دیگر گونه‌های جنس *Phlomis* مانند *P. lanceolata* and *P. brugeri P. persica*, *P. olivieri* تشکیل می دهند (Amor et al., 2009). در مطالعه دیگری ۲۱ ترکیب در اسانس گیاه گوش بره بنفش نیش‌دار شناسایی شد که ۸۷/۷ درصد از اسانس گیاه را تشکیل می دهند و از این بین هیدروکربن مونوترپنس (۵۲ درصد)، ژرماکرن-دی (۱۱/۷ درصد)، ترپینولن (۹/۱ درصد) و آلفا-پنین (۷/۳ درصد) از مهمترین ترکیبات اسانس بودند (Delnavazi et al., 2014). در مطالعه دیگری که بر روی *P. herba-venti* انجام شد۲۰ ترکیب در اسانس برگ‌های این گیاه شناسایی شد که ۹۳/۱ درصد از مجموع ترکیبات اسانس را شامل می‌شود. ژرماکرن-دی (۳۳/۹ درصد)، هیگزادیکانوک اسید (۱۲/۹ درصد) و آلفا-پنین (۹/٤ درصد) مهمترین ترکیبات گیاه می‌باشند، و ژرماکرن دی، بیشترین سهم را در مقایسه با سایر ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس‌دارا می‌باشد (Morteza-Semnani et al., 2004). در مجموع در کلیه پژوهش هایی که با هدف شناسایی اجزاء شیمیایی اسانس استحصالی از گونه های مختلف جنس *Phlomis* صورت پذیرفته است حضور ترکیب دی-ژرماکرن به‌عنوان جزء شاخص و غالب در تمامی گونه‌ها گزارش شده است. ژرماکرن یک گروه از هیدروکربنهای آلی فرار، به‌طور خاص، ترپنها هستند ژرماکرن معمولی در تعدادی از گونه‌های گیاهی با خواص ضدمیکروبی و حشره کشی را ایفا میکنند. دو مولکول برجسته شامل ژرماکرن دی و ژرماکرن هستند. همچنین ژرماکرن - دی، نقش یک پیش ماده را در سزکوئی‌ترپنهای مختلفی بازی میکند. ویژگی بارز اسانس گیاه مذکور، اجزاء ترپنی موجود در آن است. سزکویی ترپن ژرماکرن-دی و مونوترپن آلفا-پنین به سبب ویژگی‌های خاص، در صنایع دارویی، پزشکی و غذایی حائز اهمیت فراوانی می‌باشند (Baser, 1992). ژرماکرن-دی دارای اثرگذاری آنتی‌باکتریال، ضد قارچی، ضد اضطراب و ضد افسردگی بوده و آلفا-پنین نیز، ضد کرم، ضد قارچ و ضد تهوع می‌باشد (Baser, 1992). همچنین اخلاقی و متولی زاده (Akhlaghi and Motavalizadeh, 2010) پس از ارزیابی فیتوشیمیایی گیاه دارویی گوش بره سفید با بهره گیری از روش استخراج با بخار آب در استان خراسان، چهار جزء شیمیایی ژرماکرن-دی، بتاکاریوفلن، بایسیکلوژرماکرن، بتا-سلینن را در اسانس استحصالی از پیکره رویشی شاخص گزارش نمودند.

جمشیدی و همکاران (Jamshidi et al., 2010) ترکیبات پلی فنول، مانند فنولیک اسید، فلاونوئید و

تانن‌ها عوامل عمده فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان هستند. ترکیبات فنولی آنتی اکسیدان به ویژه مهم هستند دلیل اینکه پتانسیل ردوکس آنها که سبب می‌شود به‌عنوان عوامل کاهنده، احیاء کنندگان هیدروژن، کاهش دهنده واحد اکسیژن (Chew et al., 2011).

ترکیب‌های فنولی نقش بسیار مهمی در ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی یک گیاه بر عهده دارند. بنابراین بررسی خواص آنتی اکسیدانی بر روی این اسانس نشان داد که این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل کند. در تایید یافته‌های این تحقیق، برخی از محققان نیز گزارش کردند که یک رابطه مستقیم میان فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونویید کل در عصاره گیاهان دارویی وجود دارد. آنتوسیانین‌ها نیز از مهمترین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنتی اکسیدان هستند که در شواهد آزمایشگاهی و بالینی از آن‌ها به عنوان ضدسرطان، ضد التهاب و ضد عفونی کننده در پیشگیری و درمان بیماریهای قلبی- عروقی، عصبی، دیابت‌ها و فشار خون نام برده می‌شود (Khanavi et al., 2009; Maharik et al., 2009).

در این مطالعه برای ارزیابی توان آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و اسانس گیاه *Phlomis* از فاکتور (IC50) استفاده گردید. که این فاکتور بیانگر مقدار میلیگرم اسانس یا عصاره است که می تواند ٥٠ درصد از رادیکال DPPH اولیه را خنثی کند. بالاترین قدرت احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی به میزان ٣/٩ اسانس می‌باشد و جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH عصاره ٣/٦١ است. بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مختلف بسیاری از گونه‌های *phlomis* صورت گرفته است که نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد در اغلب موارد این گونه‌ها دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی می‌باشند.مرتضی سمنانی و همکاران (Morteza-Semnani et al., 2006) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی تعدادی از گونه‌های فلومیس را بر روی روغن آفتاب گردان، انجام دادند، و به این نتیجه رسیدند که عصاره‌های متانولی *Ph. Btuguieri* در پایداری روغن آفتاب گردان موثر است. ژانگ و وانگ (Zhang and Wang, 2009) ترکیب فنولیک و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی عصاره‌های استونی و متانولی برگ‌های دو گونه (*Phlomis megalautha* و *Phlomis umbrosa*) و همچنین پنج ترکیب فنولیک خالص (پروتوکاتچین، کلروژنیک، بنزوئیک، اسید رزمارینیک و روتین) را از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی مورد مطالعه قرار دادند. دوگونه مورد بررسی قادر به مهار سیستم DPPH ورادیکال‌های آزاد سوپر اکسید ممانعت از اکسیداسیون اسید لینولئیک، فعالیت به عنوان عامل کاهنده و قادر به کاهش تخریب DNA پلاسمید توسط رادیکالهای هیدروکسیل بودند. ترکیبات فنولیک اصلی شناخته شده پروکاتچین، کلروژنیک، کافئیک، اسید رزماریک واپی کاتچین بودند . بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات خالص وآنالیز همبستگی نشان داد که پروکاتچین واسید رزمارینیک بیشترین ارتباط را در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های Phlomis مورد بررسی، دارند.

نتیجه‌گیری نهایی

در حال حاضر با توجه به تاثیر تنش‌های اکولوژیکی در تنوع گونه ای مناطق و از طرفی نقش آن عوامل در تغییرات کمی و کیفی مواد موثره دارویی، لزوم انجام تحقیقات بنیادی به منظور معرفی نیازهای اکولوژیکی و فیتوشیمیایی آن گیاهان، بیش از پیش ضروری می‌باشد که بسیار مورد توجه پژوهشگران و مسئولان سازمان جهانی بهداشت قرار گرفته است (Mazandarani et al., 2012). امروزه مشخص شده

که پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان دارویی خودرو به دلیل فعالیت جاروب کنندگی یا کلاته کردن در حذف رادیکال آزاد، از اهمیت خاصی در امر تغذیه و سلامت انسان بر خوردارند (Ebrahimabadi et al., 2010).

استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم، اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آنهاست، زیرا وجود ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی درگیاه می‌گردد. حضور عناصر رویشی ایران – تورانی و درصد بالای همی کریپتوفیت‌ها نیز دلیل بر سازگاری بیشتر این گیاهان در منطقه است. همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان داد عصاره سرشاخه‌های هوایی گیاه گوش بره بنفش نیش دار به علت کثرت سنتز متابولیت‌های فنلی و فلاونوییدی از بیشترین عملکرد آنتی اکسیدانی برخوردار بود و یک رابطه مثبت و معنی‌دار میان مواد موثره و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه وجود دارد و این موضوع در تایید و مستند سازی علمی یافته‌های اتنوفارماکولوژیکی این تحقیق که فقط از سرشاخه‌های گیاه در طب سنتی منطقه به عنوان ضد نفخ در درمان بیماری‌های گوارشی استفاده می کنند، قابل بحث است. لذا با توجه به اهمیت اکوسیستم منطقه، امید است کوشش‌های جدی تری در جهت حفظ این سرمایه ملی انجام گیرد.

References

1. Aburjai, T., Darwish, R.M. and Al-Khalil, S. 2001. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Pseudomonas aeruginosa.* Journal Ethnopharmacol, 76 (1): 39-44.
2. Amor, I.L., Boubaker, B., Sgaier, J., Skandrani, M.B., Bhouri, I., Neffati, W., Kilani, A., Bouhlel, S., Ghedira, I. and Chekir-Ghedira, K. 2009. Phytochemistry and biological activities of Phlomis species. Journal Ethnopharmacol, 125: 183-202.
3. Akhlaghi, H. and Motevalizadeh Kakh'ky, A. 2010. Volatile Constituents of *Phlomis cancellata* Bge. A Labiate Herb Indigenous in Iran. Journal Essent. Oil Res, 13(5):134-137.
4. Archibold, O.W. 1995. Ecology of world vegetation. Chapman and Hall Inc., London.509p.
5. Baser, K.H.C. 1992. Turkish rose oil. Perf. Flav. 17:45–52.
6. Bodeker, G. 2000. Traditional health system: valuing biodiversity for human health and well-being. In Cultural and Spiritual Values in Biodiversity, (ed.) DarrellA. Posey, pp. 261–284.
7. Brauch, Z. 2005. Vegetation environmental relationships and classification of the seasonal savannas in Venezuela. Journal of flora, 200:49-64.
8. Chew, K.K., Ng, S.Y. and Thoo, Y.Y. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant activity of *Centella asiatica* extracts. International Food Research Journal, 18: 571-578.
9. Darwish, R.M., Aburjai, T. and Al-Khalil, S. 2002. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*. Journal Ethnopharmacol, 79 (3): 359-364.
10. Delnavazi, M.R., Baba-ali, F., Soufiabadi, S., Sherafatmand, M., Ghahremani, F., Tavakoli, S. and Yassa, N. 2014. Essential oil composition, antioxidant activity and total phenolic Content of Some Lamiaceae Taxa Growing in Northwest of Iran. Pharmaceutical sciences. 20(1), 22-28.
11. Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z., Kashi, F.J., Mazoochi, A. and Batooli, H. 2010. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth. From Iran. Food Chemistry, 119: 452-458.
12. Famiglietti, J.S., Rudnicki, J.W. and Rodell, M., 1998. Variability in surface moisture content along a hill slope transect: Rattlesnake Hill, Texas. Journal of Hydrology, 210: 259-281.

13. Firuzi, O., Miri, R., Asadollahi, M., Eslami, S. and Jassebi, A.R., 2013. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven *Salvia species* from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 12 (4): 801-810.
14. Harvala, C., Couladis, M. and Tanimanidis, A. 2000 Essential oil of Phlomis lanata growing in Greece: Chemical composition and antimicrobial activity. Planta Med, 66(7): 670-672.
15. Jafari Haghighi, M. 2003. Methods of soil analyze- physical and chemical sampling and analysis. published by Nedaye Zoha, 236 p.
16. Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, Sh., Fathi, F. and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medic Plant, 9(34) 177-183.
17. Khalilzadeh, M.A., Tajbakhsh, M. and Rineh, A. 2008 Study of the essential oils composition of leaves and flowers of two subspecies *Phlomis herba-venti* (*Pungens* and *Lenkoranica*) from Iran. Journal Essent Oil Res, 20: 46-48.
18. Khanavi, M., Mannan Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A. and Oveisi, M.R. 2009. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. African Journal of Biotechnology, 8 (6): 1143-1147.
19. Konyalıoglu, S. and Karamenderes, C. 2004. Screening of total flavonoid, phenol contents and antioxidant capacities of *Achillea* L. species growing in Turkey. Acta Pharm Turcica, 46: 163–170.
20. Kyriakopolou, I., Magiatis, P., Skaltsounis, A.L. and Aligiannis, N. 2001.A new phenylethanoid glycoside with free radical scavenging and antimicrobial activities from Phlomis samia. Journal Natural Products, 64 (8): 1095-1097.
21. Limem-Ben Amor, I. and Boubaker, J. 2009. Phytochemistry and biological activities of *Phlomis species* Journal of Ethno pharmacology, 125:183-202.
22. Maharik, N., Elgengaihi, S. and Taha, H. 2009. Anthocyanin production in callus cultures of *Crataegus sinaisa* Boiss. International Journal of Academic Research, 1(1): 30-34.
23. Mashhadian, N.V. and Rakhshandeh, H. 2005. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeroginosa* and *C. albicans*. Pakistan Journal Medical Sci., 21(1):47–52.
24. Mazandarani, M. and Khormali, A. 2015. Autecology, ethnopharmacology, total phenol and flavonoids and antioxidant activity of *Ditrichia graveolens* (L.)Greuter. In different extraction from Bandargaz region. Ecophytochemical Journal, 6 (2):69-78.
25. Mazandarani1, M., Mirdeilami, S.Z. and Pessarakli, M. 2013. Essential oil composition and antibacterial activity of *Achillea millefolium* L. from different regions in North east of Iran. Journal of Medicinal Plants Research, 7(16):1063-1069.
26. Mazandarani, M., Majidi, Z., Zarghami-Moghaddam, P., Abrudi, M., Bayat, H. and Hemmati, H. 2012. Essential oil composition, total phenol, flavonoid, anthocyanin and antioxidant activities in different parts of *Artemisia annua* L. in two localities (North of Iran.). Journal of Medicinal plants and By-product, 1:1-12.
27. Morteza-Semnani K, Saeedi M. and Shahani, S. 2006. Antioxidant activity of the methanolic extracts of some species of *Phlomis* and *Stachys* on sunflower oil. African Journal of Biotechnology, 5(24): 2428- 2432.
28. Morteza-Semnani, K., Akbarzadeh, M. and Changizi, S.h. 2006. Essential oils composition of *Stachys byzantina*, *S. inflata, S. lavandulifolia* and *S. laxa* from Iran. Flavour Fragrnace Journal, 21(2): 300-303.
29. Morteza-Semnani, K., Azadbakht, M. and Goodarzi, A. 2004. The essential oils composition of Phlomis herba-venti L. leaves and flowers of Iranian origin. Flavour Fragrnace Journal, 19: 29–31.
30. Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Coflkun, M. and Yildirim, A. 2004. Antioxidant

activity and total phenolic compounds amount of some Asteraceae species. Turkish Journal Pharmacology Science, 1 (3): 203-216.
31. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5 (11): 1142-1145.
32. Rechinger. K.H. and Hedge, I.C. 1982. Flora Iranica. Akademisch Druck-und Verlagsanstalt. Graz, Austria, 150: 360-361.
33. Ristic, M.D., Duleti, S., Knezevi, J. and Marine, P.D. 2000. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Laminaceae). Phytotherapy Research, 14(4): 267-271.
34. Shaidai Karkaj, E. 2011. Carbon sequestration potential redox species of Agropyron elongatum and Atriplex lentiformis (Case Study: Chaparqoymeh the Gonbad). MSc thesis range. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 85 P.
35. Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A. and Vanden–Berghe, D. 1999. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. Journal of Ethno pharmacology, 65: 71–77.
36. Song, A., Liu, S., Shi, Z. and Dong, L. 2006. Quantitative classification and ordination of subalpine meadow in wolong Nature Reserve. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao, 17(7): 1174-8.
37. Sun, J., Li, X., Wang, X. and Li, Z. 2009. Latitudinal changes in species diversity of permafrost wetland plant communities in Great Xing'an Mountain valleys of Northeast China. Acta Ecological Sinica, 29: 272-277.
38. Tatian, M.R. 2000. Geological Society of Plant summer rangeland thousand acres Behshahr.Msc thesis. Mazandaran University. 128p.
39. Yuan, R. and Lin, Y. 2000. Traditional Chinese Medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. Pharmacology and Therapeutics, 86: 191–198.
40. Zhang, Y. and Wang, Z. 2009. Phenolic composition and antioxidant activities of two Phlomis species: A correlation study. Comptes Rendus Biologies Journal, 332:816-826.