

## بررسی فیتوشیمیایی اسانس گیاه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

مرجان علی بخشی\*<sup>۱</sup>، سیده‌خدیجه مهدوی<sup>۲</sup>، جلال محمودی<sup>۳</sup> و حسن قلیچ‌نیا<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، گروه مرتعداری، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه منابع طبیعی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

<sup>۴</sup> عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۴

### چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه دارویی سنبله بادکنکی (*Stachys inflata* L.)، سرشاخه‌های گلدار گیاه در اوایل خردادماه سال ۱۳۹۱ از سه رویشگاه مختلف استان مازندران جمع‌آوری و سپس در سایه خشک گردیدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) به مدت ۴ ساعت انجام شد. ترکیب‌های شیمیایی اسانس-ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی گازی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. بازده تولید اسانس سرشاخه‌های گلدار در رویشگاه‌های مختلف از ۱,۳ تا ۲,۹ درصد بر حسب وزن سرشاخه‌های خشک گیاه متغیر بود و به ترتیب مواد موثره: ژرماکرن-دی (از ۸,۷ تا ۱۶,۹٪) و بی سیکلو ژرماکرن (از ۱۱,۲ تا ۱۶,۶٪) در هر سه رویشگاه از بیشترین میزان در اسانس برخوردار بودند که این تفاوت می‌تواند ناشی از شرایط مختلف اکولوژیکی مناطق مورد مطالعه باشد.

**واژگان کلیدی:** اسانس، ترکیب‌های شیمیایی، رویشگاه‌های مختلف استان مازندران، سنبله بادکنکی

مختلف کشور می‌روید ( Omidbaigh, 1999; Ghelichnia, 2000). گونه *Stachys inflata* در طب سنتی به "پولک" یا "گل ارغوان" مشهور است. عصاره‌های گرفته شده از سرشاخه‌های گیاه در طب سنتی ایران در عفونت، آسم، روماتولوژی و دیگر اختلالات التهابی بکار می‌رود (Maghol, 1992). سمنازی و سعیدی (۲۰۰۶) در بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه *Stachys inflata* یافتند که ترکیب‌های اصلی موجود در این گونه عبارتند از: هگزادکانیک اسید (۹،۱٪)، ژرمارکن-د (۸،۹٪)، آلفا-پینن (۵،۸٪) و برای سیکلو ژرمارکن (۵،۱٪). بررسی‌های صورت گرفته به وسیله Skaltsa و همکران (۲۰۰۳) در مورد آنالیز اسانس هشت گونه از گیاهان جنس *Stachys* در یونان مشخص شد که هیدروکربن‌های سزکوئی‌ترین بخش اصلی اسانس کلیه گونه‌های مورد مطالعه را تشکیل می‌دهند (Nabizadehasl et al., 2010). در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس دو کموتیپ گونه سنبله ارغوانی در رویشگاه‌های مختلف به این نتیجه رسیدند که بازده اسانس برای نمونه‌های دماند-فیروزکوه و تبریز-زنجان به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۱۴ درصد وزنی-وزنی به دست آمد و تعداد ۴۷ ترکیب از کل ترکیبات برای جمعیت دماند-فیروزکوه شناسایی شد که معادل ۸۴/۹۸ درصد است و تعداد ۳۷ ترکیب نیز از کل ترکیبات برای جمعیت تبریز-زنجان شناسایی شد که معادل ۷۶/۱۶ درصد است. ترکیبات عمده در اسانس جمعیت (دماند-فیروزکوه) اسپاتونلول (۱۰/۸۳٪)، هگزادکانول (۷/۲۰٪) و ژرمارکن-دی (۷/۱۵٪) بودند و در جمعیت جمع‌آوری شده از تبریز-زنجان مواد موثره ساینین (۱۳/۲۵٪)، بتا-پینن (۶/۳۱٪) و ژرمارکن-دی (۵/۳٪) گزارش شده است. لذا با توجه به تفاوت کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس در رویشگاه‌های مختلف، این تحقیق با هدف بررسی و

طبیعت منبع غنی از ترکیب‌های دارویی می‌باشد که بخشی از آنها در گیاهان نهفته‌اند. امروزه در کشورهای در حال توسعه به دلیل بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماری‌ها و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کارخانه‌های مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیب‌های فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت در حال انجام می‌باشد ( Bagherzadeh, 1999). عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها و امثال آنها می‌گردد (Omidbaigh, 1995). به‌طور کلی اقلیم از مجموعه فاکتورهای ادافیکی (خاکی) و کلیماتیکی (آب و هوایی) تشکیل شده است که باید به نقش و تأثیر هر یک از آنها بر رشد و نمو، عملکرد و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی توجه داشت (Omidbaigh, 2010). گیاهان اسانس‌دار بخشی از گیاهان دارویی بوده که به لحاظ داشتن ترکیب‌های معطر از سایر گونه‌ها، متمایز می‌گردند. اکثر گیاهان این تیره معطرند و مورد چرای دام واقع نمی‌شوند، بنابراین ارزش علوفه‌ای بسیار کمی دارند و وجود بعضی از گیاهان این تیره در مراتع بیانگر سیر قهقرائی و تخریب مراتع می‌باشد (Moghadam, 1998). جنس *Stachys* متعلق به تیره نعنا عبا حدود ۳۰۰ گونه در سراسر جهان رویشی وسیع و اثرات درمانی متعددی را در بر می‌گیرد. بیشترین پراکندگی این گیاه در اروپا و آمریکای شمالی می‌باشد. در آسیای میانه، آسیای جنوب شرقی همچنین خاورمیانه، گونه‌های متعددی از این گیاه دیده می‌شود ( Seber Amoli et al., 2004). این جنس در ایران ۳۴ گونه دارد که ۱۴ گونه آن انحصاری ایران است و به طور پراکنده در نقاط

شناسایی ترکیبات اسانس گونه مورد مطالعه در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

##### الف) خصوصیات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

موقعیت جغرافیایی و وضعیت منطقه بلده: بین موقعیت جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۶ دقیقه طول شرقی و ۳۶ درجه و ۴۷ دقیقه عرض شمالی قرار گرفته است. بارندگی در این منطقه از ۲۵۰ میلی‌متر تا ۷۰۰ میلی‌متر متغیر است. میانگین حداقل دما ۱۱/۱ درجه سانتی‌گراد و حداکثر دما ۲۰/۵ درجه سانتی‌گراد است. همچنین براساس روش آمپرژ، این منطقه دارای اقلیم خشک و سرد می‌باشد. ارتفاع بلده از سطح دریا ۹۱۵ متر و شیب منطقه ۱۶٪ و نمونه‌برداری از شیب جنوبی آن انجام شده است، همچنین بر اساس مشاهدات صحرائی، بوته‌های سنبله‌ای بادکنکی در منطقه بلده بلندتر و سبز تر و برگها بزرگتر و طول ساقه‌های گلدار بیشتر و رنگ گل‌ها بنفش تیره بوده و همچنین تراکم بوته‌ها در این منطقه بیشتر از مناطق واوسر و برنت می‌باشد.

##### موقعیت جغرافیایی و وضعیت منطقه واوسر:

روستای واوسر شمالی‌ترین منطقه استان سمنان در موقعیت جغرافیایی ۳۶ درجه و ۵ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و در موقعیت ۵۳ درجه و ۳۳ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار مبدا «گرینویچ» قرار گرفته است. در ارتفاعات پایین، متوسط مجموع بارندگی سالانه ۸۳۰ میلی‌متر و در ارتفاعات بالا ۷۵۰ میلی‌متر است. بر اساس روش آمپرژ اقلیم منطقه واوسر نیمه مرطوب سرد می‌باشد. خاک منطقه دارای بافت سبک یا نسبتاً سنگین بوده و میزان ماده آلی کم تا متوسط می‌باشد. ارتفاع واوسر از سطح دریا ۹۱۹ متر و شیب منطقه ۳۸٪ و نمونه‌برداری از شیب غربی آن انجام شده است.

موقعیت جغرافیایی و وضعیت منطقه برنت: روستای برنت در بخش مرکزی استان مازندران در دامنه شمالی کوه‌های البرز مرکزی در بین عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۹ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۲۳ دقیقه نیمکره شمالی و در بین طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۳۹ دقیقه تا ۵۳ درجه و ۱۴ دقیقه نیمکره شرقی واقع شده است. اقلیم این منطقه معتدل سرد کوهستانی می‌باشد. متوسط بارندگی سالانه آن ۶۷۰ میلی‌متر می‌باشد. خاک این منطقه دارای بافت سیلتی لومی است. عمق خاک از کم عمق تا نیمه عمیق متغیر است. این روستا از شمال به شهرستان قائمشهر، از جنوب به سلسله جبال البرز و فیروزکوه، از شرق به شهرستان ساری و از غرب به شهرستان بابل محدود می‌شود. ارتفاع برنت از سطح دریا ۱۲۷۳ متر و شیب منطقه ۲٪ و نمونه‌برداری از شیب جنوبی آن انجام شده است.

**نمونه برداری:** برای جمع‌آوری اطلاعات مورد نیاز در تحقیق حاضر، بعد از بازدیدهای مقدماتی و استفاده از نقشه توپوگرافی مقیاس ۱:۵۰۰۰۰ سه منطقه واوسر، بلده و برنت، با توجه به غنی بودن از این گیاه ارزشمند جهت مشاهده و بررسی، انتخاب شد. با توجه به حضور و فراوانی گونه مورد مطالعه در هر رویشگاه، توده معرف انتخاب شد. نمونه برداری از سرشاخه‌های گلدار گونه *Stachys inflata* در اوایل خردادماه در داخل توده‌های معرف هر منطقه هنگامی که گیاه در مرحله فنولوژیکی حداکثر گلدهی (Azarnivand et al., 2010) بود از سه نقطه به روش تصادفی (Azarnivand et al., 2010) انجام شد سپس اندامهای هوایی برداشت شده در هر منطقه با هم مخلوط شد و نمونه‌ها در داخل پاکت ریخته و روی هر پاکت اطلاعات کامل محل برداشت گیاه، ثبت شد. **بررسی خاک شناسی:** به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و ارتباط آن با کمیت و کیفیت اسانس گیاه در هنگام برداشت مواد گیاهی، از

خرد شد و ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده پس از توزین جهت استخراج اسانس به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر (Maleki et al., 2001) اسانس گیری شد.

#### روش های تجزیه دستگاهی

**دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC):** گاز کروماتوگراف شیمادزو سری 9A ساخت کشور ژاپن، دارای ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرونو با نام تجارتي -5 DB بود. برنامه ریزی حرارتي ستون از دمای اولیه ۶۰ درجه سانتیگراد شروع شده و در هر دقیقه ۳ درجه سانتیگراد به آن افزوده میشد تا به دمای ۲۱۰ درجه سانتیگراد می رسید. سپس دما با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه افزایش یافته و در دمای ۲۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۸/۵ دقیقه متوقف می شد. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتیگراد و درجه حرارت آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. آشکارساز مورد استفاده در دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع FID (آشکارسازی و نیزاسیون شعله‌ای) بود که از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شد و فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی متر مربع تنظیم شد.

**دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS):** از گاز کروماتوگرافواریان ۳۴۰۰ متصل شده به طیف سنج جرمی ( Saturn II, GC/MS) استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرونو بود. برنامه ریزی حرارتي از ۵۰ تا ۲۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد و درجه حرارت ترانسفر لاین ۲۶۰ درجه سانتیگراد با استفاده از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل

هر نقطه برداشت گیاه در هر منطقه، خاک پای ریشه توده گیاهی نیز از عمق ۰-۳۰ سانتی متری (Azarnivand et al., 2010) جمع آوری شد. نمونه خاکها برای انجام آزمایش های خاک شناسی به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه های پس از خشک شدن در هوای آزاد، ابتدا توسط هاون چینی کوبیده و کلوخه های آن خرد و سپس از الک دو میلی متری (Jafari Haghighi, 2003) عبور داده شد و برای انجام آزمایشات آماده شد و تجزیه های آزمایشگاهی به شرح زیر انجام شد:

**کربن آلی:** با استفاده از روش والکی بلاک بر پایه اکسیداسیون مواد آلی انجام شد.

**بافت خاک:** با استفاده از روش هیدرومتری که معمولترین روش جهت تعیین بافت خاک است و به دلیل استفاده از هیدرومتر بایکاس به این نام خوانده می شود، انجام شد.

**برای اندازه گیری ازت:** از روش کجدال در سه مرحله هضم و تقطیر و تیتراسیون استفاده شد. مقدار فسفر: مقدار (برحسب ppm) با دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شد.

**پتاسیم:** از روش استات آمونیوم بدین صورت که از عصاره گیری با استات آمونیوم یک مولار با pH برابر ۷ استفاده شد.

**pH یا اسیدیته:** بر اساس تهیه عصاره اشباع به روش پتانسیومتری و با استفاده از دستگاه pH متر تعیین شد. هدایت الکتریکی نیز با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی در نمونه های عصاره گیری شده اندازه گیری شد (Jafari Haghighi, 2003).

**روش استخراج اسانس:** سرشاخه های گلدار گیاه جمع آوری در سایه خشک و در دمای مناسب در پاکت های کاغذی نگه داری و جهت تعیین بازده و آنالیز مواد موثره اسانس گیاه به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ماده گیاهی خشک شده توسط آسیاب برقی

مورد استفاده قرار گرفته است. سرعت گاز هلیم ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه، دتکتور تله یونی (Ion trap)، انرژی و نیز آسیون معادل ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن برابر یک ثانیه و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۰۰ بوده است.

شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کوتاس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها صورت گرفت و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های صورت گرفته با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیرمنحنی آن در طیف کروماتوگرام بدست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کوتاس منتشر شده، مقایسه گردید (Flamini et al., 2004; Skaltsa et al., 2003).

رویشگاه برنت ۹۹/۶ درصد از اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند. عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گیاه (همانطور که در جدول (۳) مشخص شده است در سه منطقه عبارت بودند از: شش ترکیب ژرمارکن-دی (۱۶/۹ درصد)، بایسیکلو ژرمارکن (۱۶/۶ درصد)، آلفا-پینن (۱۱/۳ درصد)، بتا-فلاندر (۹/۸٪)، بایسیکلو من (۶/۶٪) و بتا-پینن (۵/۶٪) از رویشگاه بلده؛ چهار ترکیب ژرمارکن-دی (۸/۷٪)، بایسیکلو ژرمارکن (۱۱/۲٪)، آلفا-پینن (۴/۵٪) و اسپاتولنول (۳/۱٪) از رویشگاه واوسر و سه ترکیب ژرمارکن-دی (۱۶/۱٪)، بایسیکلو ژرمارکن (۱۶/۲٪) و بایسیکلو من (۱۵/۷٪) از رویشگاه برنت بوده و سایر ترکیب‌ها کمتر از ۲/۲۹ درصد اجزای اسانس را تشکیل می‌دهند. مقایسه درصد ترکیب‌های مشترک موجود در اسانس سه منطقه نیز در جدول (۴) آورده شده است.

#### بحث

در جدول ۱ به‌طور اجمالی شرایط رویشگاهی این گونه در ۳ رویشگاه مورد مطالعه نشان داده شده است تا به‌طور واضح‌تری رویشگاه‌های مختلف این گونه با هم مقایسه شود. با توجه به جدول فوق‌الذکر: گونه مورد مطالعه در ارتفاعی بین ۹۰۰ تا ۱۳۰۰ متر از سطح دریا پراکنش دارد. این گونه در شیب‌های جنوبی و غربی گسترش دارد. در خاک‌های شنی لومی با اسیدیته بین ۶/۵ تا ۷ و هدایت الکتریکی بین ۰/۴۵ تا ۰/۷۵ گسترش دارد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده، از میان سه رویشگاه طبیعی، رویشگاه بلده بیشترین درصد بازده اسانس (۲/۹٪) را دارد. این رویشگاه در ارتفاع کمتری از سطح دریا (۹۱۵ متر) نسبت به دو رویشگاه واوسر (۹۱۹ متر) و برنت (۱۲۷۳ متر) قرار دارد. با توجه به این که هر سه منطقه در یک زمان نمونه‌برداری

#### نتایج

نتایج حاصل از آنالیز ترکیب‌های خاک سه رویشگاه در جدول (۱) آورده شده است. بازده متوسط تولید اسانس توسط سرشاخه‌های گلدار گیاه *Stachys inflata* در هر منطقه بر حسب وزن اسانس در ۱۰۰ گرم سرشاخه خشک در هر تکرار، به‌ترتیب ۲/۹ درصد (رویشگاه بلده)، ۱/۳ درصد (رویشگاه برنت)، ۱/۵ درصد (رویشگاه واوسر) تعیین گردید. در مجموع در اسانس بلده، واوسر و برنت به‌ترتیب ۳۴، ۳۲ و ۳۳ ترکیب شناسایی شد که در جدول (۲) آورده شده‌اند، همچنین نمودار کروماتوگراف اسانس هر سه رویشگاه در شکل‌های ۲ تا ۴ آورده شده است. ترکیب‌های شناسایی شده از رویشگاه بلده ۹۶/۷ درصد، از رویشگاه واوسر ۹۵/۶ درصد و از

β-pinene و germacrene D نیز نتایج حاصل از مطالعات (Semnani saidi., 2006) بر روی گونه *Stachys inflata* نشان داد که از نظر اجزای تشکیل دهنده اسانس، ژرماکرن-دی و باسیکلوزرماکرن از اجزای عمده اسانس مناطق مورد مطالعه بوده که با اجزای عمده اسانس نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش (جدول ۳)، مطابقت دارد.

ژرماکرن یک کلاس از هیدروکربن‌های آلی فرار، به‌طور خاص، ترپن‌ها هستند. ژرماکرن معمولاً در تعدادی از گونه‌های گیاهی با خواص ضد میکروبی و حشره‌کشی را ایفا می‌کنند. دو مولکول برجسته شامل دی ژرماکرن و ژرماکرن هستند. همچنین ژرماکرن دی نقش یک پیش ماده را در سزکوئی ترپن‌های مختلف بازی می‌کند (Bülöw, König, 2000; Telascrea et al., 2007).

آلفا-پینن جزء دسته موثرترین‌های دوحلقه‌ای که در صنعت اسانس به‌عنوان ترکیبات پایه‌ای اترهای روغنی به‌شمار می‌آید. اگر چه در دهه ۸۰ میلادی قرن گذشته سنتز شیمیائی آلفا-پینن با موفقیت صورت گرفته است اما طبیعی بود ناینمونوترپن با خواص ویژه بیشتر مورد نیاز صنعت اسانس می‌باشد. آلفا-پینن ایزومری که در واکنش‌های متعددی از قبیل ایزومریزاسیون، اکسیداسیون، هیدراسیون، استیلاسیون و غیره به کار می‌رود و در تهیه ترپن‌های زیادی مانند اوسیمن، ترپینولن، ترپین هیدرات، ترپینولو کامفور مورد استفاده قرار می‌گیرند. ترکیبی که در ساخت فرآورده‌های صنعتی فراوانی از قبیل صابون، آرم، عطر، بخور، پاک‌آنده‌ها، چسب، داروهای ضد عفونی‌کننده، حشره‌کش‌ها، چرم و حلال‌ها و... بکار می‌رود (Jokarkashi et al., 2005). آلفا پینن با فرمول  $C_{10}H_{16}$  در طبیعت به‌صورت ایزومرهای مختلف وجود دارد. آلفا-پینن در آب نامحلول و در الکل، کلروفرم‌اتر محلول است. آلفا-پینن خالص را

صورت گرفته است. تفاوت در نوع و درصد اجزای متشکله اسانس می‌تواند ناشی از تاثیر عوامل مختلف اکولوژیک مثل بارندگی، نوع خاک و ارتفاع از سطح دریا باشد. تاثیر عواملی نظیر ارتفاع و اقلیم سبب شده که در رویشگاه بلده گونه مذکور دارای برگ‌های بزرگتر و متراکم و تعداد گل‌های بیشتری نسبت به دو رویشگاه دیگر داشته باشد. در نتیجه کمیت و کیفیت اسانس افزایش یافته است که با نتایج Corticchiato, et al., 1998; Jayman and Rezai, 2006 مطابقت دارد. از لحاظ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، تفاوت‌هایی هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی با یکدیگر دارند، به‌طوری‌که در نمونه اسانس بلده میزائژرماکرن-دی (۱۶/۹) و بی سیکلوژرماکرن (۱۶/۶) بیشتر از دو منطقه دیگر به‌ترتیب و اوسر (۸/۷ و ۱۱/۲) و برنت (۱۶/۱ و ۱۶/۲) بوده است، همچنین میزان آلفاپینن در رویشگاه بلده (۱۱/۳) و در و اوسر ۴/۵٪ می‌باشد این در حالی است که این ترکیب در رویشگاه برنت دیده نشده است. همچنین ترکیب بی سیکلولومن در رویشگاه برنت با ۱۵/۷٪ وجود داشته در حالی که در دو رویشگاه دیگر وجود نداشت (جدول ۲ و ۳). Rezazadeh و همکاران (۲۰۰۶) روی ترکیبات عمده گونه *S. Athorecalyx* مطالعه انجام دادند که ترکیبات عمده آن را  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, linalool,  $\alpha$ -terpinol است. Moshefi و همکاران (۲۰۰۹) روی ترکیبات گونه *S. acerosa* بررسی انجام دادند که ترکیبات عمده آن شامل *cis*-chrysanthenyl acetate,  $\beta$ -caryophyllene, oxide caryophyllen, linalool (-)-spathulenol, caryophyllen oxide است (Nabizadehasl et al., 2010). ترکیبات عمده در اسانس جمعیت (دماوند-فیروزکوه) *spathulenol*, *hexadecanol* و *germacrene* بودند و در جمعیت جمع‌آوری شده از تبریز-زنجان *sabinene*,

تحقیقات Simon (۱۹۹۲) بر روی ریحان نشان داد که رطوبت پائین بر مقدار اسانس گیاهان فوق تأثیر مثبت دارد. با توجه به اینکه رشد و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و آروماتیک تحت تأثیر عوامل محیطی می‌باشند و اسانس گیاهان در نتیجه تغذیه Stutte, 2006; Street et al., 2009 تحت تأثیر قرار می‌گیرد به نظر می‌رسد که تفاوت‌های مشاهده شده گیاهان دو منطقه به علت تفاوت قابل ملاحظه عناصر در خاک و اندام‌های مختلف گیاه است. در رویشگاه بلده، همچنین بیشترین مقدار فسفر و کربن آلی در خاک وجود دارد و اختلاف قابل ملاحظه‌ای با دو رویشگاه دیگر دارد (جدول ۱). در نتیجه می‌توان مقادیر بالای فسفر و کربن آلی را نیز در کنار دیگر عوامل نامبرده به عنوان عوامل تأثیر گذار در زیاد شدن درصد بازده اسانس مؤثر دانست.

#### نتیجه‌گیری نهایی

کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی و بازده اسانس گیاه در سه رویشگاه متفاوت می‌باشد. نوسانات شدید کمیت و کیفیت ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس ناشی از تفاوت‌ها بوم‌شناختی (اکولوژیک: طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم، خاک و غیره) بوده و شرایط متفاوت اقلیمی و اداپتیکی مسیرهای متابولیسمی و بیوسنتز مواد موثره را تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شوند.

می‌توان با تقطیر روغن‌های ترپانتین تهیه کرد. این ترکیب باعث افزایش عطر و بودر تولیدات صنعتی می‌شود.

بی سیکلوژرماکرون با فرمول  $C_{15}H_{24}$  اسم آنزیمی با نام سیستمی (2E,6E)-farnesyl-diphosphate bicyclogermacrene-forming diphosphate-lyase است (Crocoll et al., 2010). اولین بار در سال ۱۹۶۹ از اسانس گیاه به نام *Citrans junos* استخراج و از آن موقع به بعد به عنوان یک ترکیب در سایر گیاهان شناسایی شد. این ماده همچنین در ساخت سایر سزکوئی ترپن‌ها که شامل دی متیل سیکلو ترپن است به کار می‌رود (John Gregory, 1987).

با توجه به اینکه تمام شرایط انتخاب نمونه‌ها، خشک شدن، استخراج اسانس و شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس برای نمونه‌های هر سه رویشگاه یکسان در نظر گرفته شد، تفاوت موجود در نوع و درصد اجزای متشکل‌ها اسانس می‌تواند ناشی از تغییرات ژنتیکی یا غیر ژنتیکی در پاسخ به تفاوت‌های محیطی اکوسیستم رویشگاه‌ها از قبیل ترکیب شیمیایی خاک و عوامل فیزیوگرافیک باشد. ارتفاع از سطح دریا تأثیر معکوس بر کمیت (بازده اسانس) و کیفیت (تعداد ترکیبات) رویشگاه دارد. ارتفاع منطقه و اوسر و برنت بیشتر از بلده بوده در نتیجه میزان بارندگی و رطوبت در این دو منطقه بیشتر شده و در نتیجه رطوبت تأثیر معکوس بر بازده اسانس این گیاه دارد. در مطالعه‌ای که توسط Diamantoglou و Rhizopoulou (۱۹۹۱) انجام گردید شرایط با رطوبت پایین بر میزان اسانس مرزنجوش افزوده است.

جدول ۱: نتایج مطالعات خاکشناسی خاک پای گونه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

رویشگاه	وزن (گرم)	هدایت الکتریکی ds/m	درصد										
			اسیدیته	کربنات کلسیم	نیتروژن	ماده آلی	کربن آلی	شن	سیلت	رس	بافت شنی لومی	فسفر	پتاسیم
واوسر	۱۰۰۰	۰/۷۴	۷/۰۹	۱	۰/۰۰۵	۱/۰۹	۰/۶۳	۶۷	۱۷	۱۶	شنی لومی	۱۳	۷۵۸/۱
بلده	۱۰۰۰	۰/۴۷	۷/۲۲	۲	۰/۱۷	۳/۶۹	۲/۱۴	۶۱	۲۱	۱۸	شنی لومی	۱۴/۷	۱۴۷
برنت	۱۰۰۰	۰/۴۶	۰/۵۴	۲	۰/۰۳	۰/۶۶	۰/۳۹	۶۳	۱۹	۱۸	شنی لومی	۴/۷	۶۹/۳

جدول ۲: معرفی و مقایسه ترکیب‌های متشکله اسانس گونه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	برنت (%)	واوسر (%)	بلده (%)
۱	$\alpha$ -thujene	۱۰۸۵	۲/۶	۲/۸	۰/۹
۲	$\alpha$ -pinene	۹۳۴	۱/۳	۴/۵	۱۱/۳
۳	sabinene	۹۷۱	۱/۲	۲/۵	۲/۸
۴	$\beta$ - pinene	۹۷۵	۱/۱	۱/۹	۵/۶
۵	myrcene	۹۸۷	۲/۱	۲/۲	۲/۲
۶	$\alpha$ -phellandrene	۱۰۰۳	۱/۵	۲/۸	۱/۳
۷	3-carene	۱۰۰۹	۱/۵	۱/۹	۲
۸	$\alpha$ -terpinene	۱۰۱۵	۲/۲	۲/۷	۰/۴
۹	o-cymene	۱۰۱۹	-	۲/۳	-
۱۰	p- cymene	۱۰۲۳	۱/۶	۲/۲	۰/۷
۱۱	$\beta$ -phellandrene	۱۰۲۷	۲/۴	۲/۳	۹/۸
۱۲	1,8-cineole	۱۰۳۰	۱/۹	۲/۲	۲/۱
۱۳	(Z)- $\beta$ - ocimene	۱۰۳۶	۲/۷	۲/۸	۱/۸
۱۴	(E)- $\beta$ -ocimene	۱۰۴۵	۱/۱	-	-
۱۵	$\gamma$ -terpinene	۱۰۵۸	۲/۸	۲/۷	۲/۷
۱۶	cis-sabinene hydrate	۱۰۶۴	۰/۹	۲/۱	۲/۱
۱۷	terpinolene	۹۲۶	-	۲/۸	۲/۸
۱۸	linalool	۱۴۹۴	۱/۸	۱/۶	۱/۶
۱۹	nonanal	۱۱۰۱	۱/۵	-	۰/۱
۲۰	allo-ocimene	۱۱۲۶	۱/۳	-	-
۲۱	terpinen-4-ol	۱۱۷۵	۱/۱	۲/۶	۰/۷
۲۲	$\alpha$ -terpineol	۱۱۸۸	۲/۱	۲/۷	۲
۲۳	bornyl acetate	۱۲۸۳	-	۲/۵	-
۲۴	bicycloelemene	۱۳۳۳	۱۵/۷	۲/۳	۶/۶
۲۵	$\alpha$ -cubebene	۱۳۴۷	-	۲/۴	۰/۱
۲۶	$\alpha$ -copaene	۱۳۷۲	۰/۹	۲/۸	۱/۱



ادامه جدول ۲: معرفی و مقایسه ترکیب‌های متشکله اسانس گونه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	برنت (%)	واوسر (%)	بلده (%)
۲۷	$\beta$ - cubebene	۱۳۸۶	-	-	۰/۱
۲۸	$\beta$ -elemene	۱۳۸۸	۱/۸	-	۱/۱
۲۹	$\beta$ -gurjunene	۱۴۲۷	۱/۲	۲/۸	۰/۵
۳۰	allo-aromadendrene	۱۴۵۸	۱/۹	۲/۲	۰/۱
۳۱	germacrene-D	۱۴۷۹	۱/۶	۸/۷	۱/۶
۳۲	bicyclogermacrene	۱۰۹۷	۱/۲	۷	۱/۶
۳۳	$\gamma$ -cadinene	۱۶۵۰	۱/۲	-	-
۳۴	$\delta$ -cadinene	۱۵۲۲	۱/۶	۱/۹	۱/۴
۳۵	spathulenol	۱۵۷۵	۱/۹	۳/۱	۲/۲
۳۶	caryophyllene oxide	۱۵۸۰	۲/۱	-	۰/۵
۳۷	isospathulenol	۱۶۳۲	۱/۶	۲/۸	۱
۳۸	$\beta$ -eudesmol	۱۶۴۶	-	۲/۷	۰/۱
۳۹	$\alpha$ -cadinol	۱۵۱۱	۲/۴	۲/۶	۰/۱
	مجموع		۹۹/۶	۹۵/۶	۹۶/۷
	بازده اسانس		۱/۳	۱/۵	۲/۹

جدول ۳: ترکیب‌های عمده اسانس گونه *Stachys inflata* در هر رویشگاه در استان مازندران

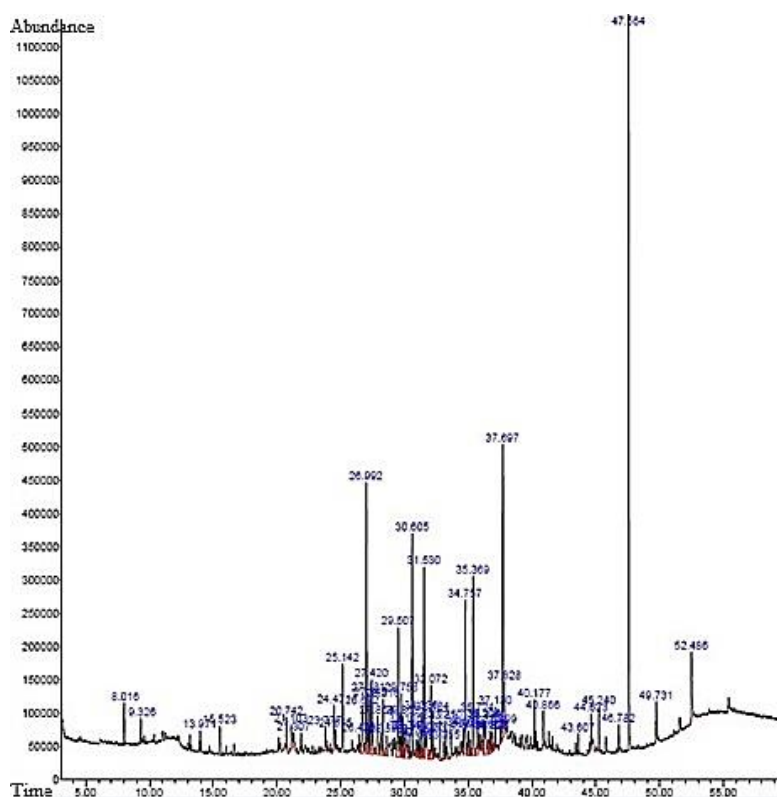
برنت (۱۲۷۳ متر از سطح دریا)		واوسر (۹۱۹ متر از سطح دریا)		بلده (۹۱۵ متر از سطح دریا)	
شاخص بازداری (%)	نام ترکیب	شاخص بازداری (%)	نام ترکیب	شاخص بازداری (%)	نام ترکیب
۱۶/۲	bicyclogermacrene	۱۱/۲	bicyclogermacrene	۱۶/۹	germacrene-D
۱۶/۱	germacrene-D	۸/۷	germacrene-D	۱۶/۶	bicyclogermacrene
۱۵/۷	bicycloelemene	۴/۵	$\alpha$ -pinene	۱۱/۳	$\alpha$ -pinene
-	-	۳/۱	spathulenol	۹/۸	$\beta$ -phellandrene
-	-	-	-	۶/۶	bicycloelemene
-	-	-	-	۵/۶	$\beta$ - pinene

جدول ۴: مقایسه کمی ترکیب‌های مشترک اسانس گیاه سنبله‌ای بادکنکی در سه رویشگاه مورد مطالعه در استان مازندران

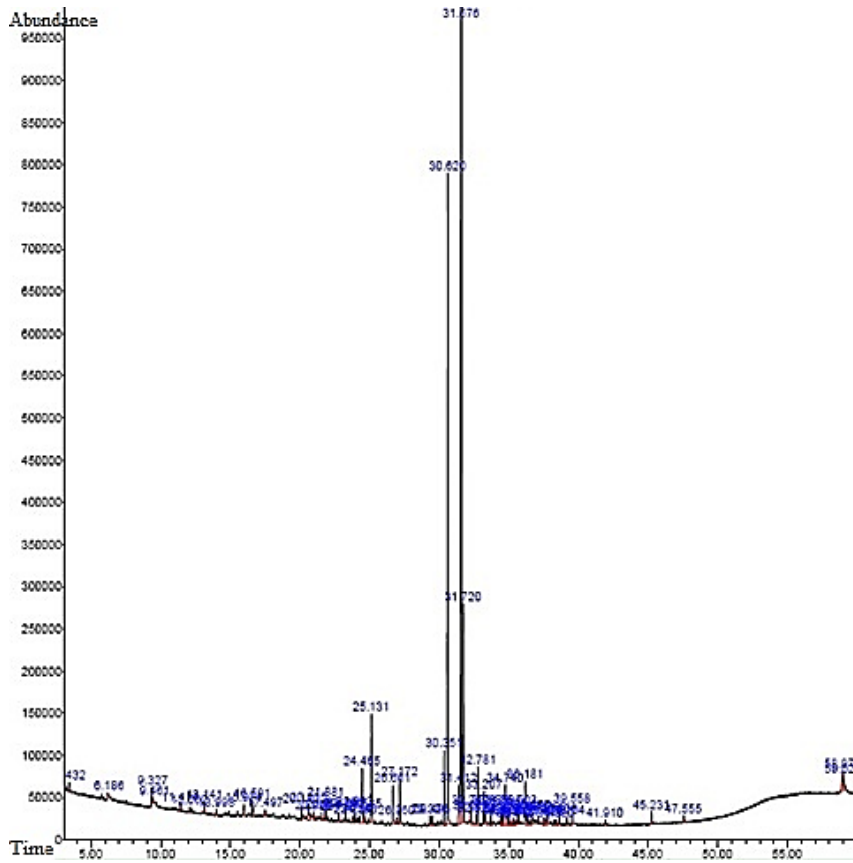
ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	برنت (%)	واوسر (%)	بلده (%)
۱	$\alpha$ -thujene	۱۳۷۲	۲/۶	۲/۸	۰/۹
۲	$\alpha$ -pinene	۹۳۴	۱/۳	۴/۵	۱۱/۳
۳	sabinene	۹۷۱	۱/۲	۲/۵	۲/۸
۴	$\beta$ - pinene	۹۷۵	۱/۱	۱/۹	۵/۶
۵	myrcene	۹۸۷	۲/۱	۲/۲	۲/۲
۶	$\alpha$ -phellandrene	۱۰۰۳	۱/۵	۲/۸	۱/۳
۷	3-carene	۱۰۰۹	۱/۵	۱/۹	۲
۸	$\alpha$ -terpinene	۱۰۱۵	۲/۲	۲/۷	۰/۴

ادامه جدول ۴: مقایسه کمی ترکیب‌های مشترک اسانس گیاه سنبله‌ای بادکنکی در سه رویشگاه مورد مطالعه در استان مازندران

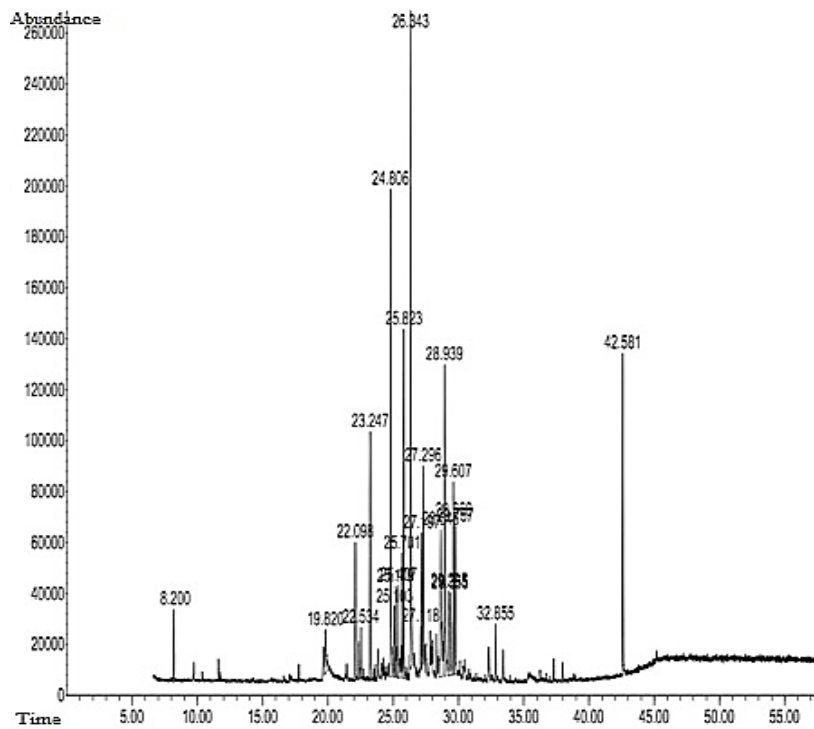
۹	p- cymene	۱۰۲۳	۱/۶	۲/۲	۰/۷
۱۰	$\beta$ -phellandrene	۱۰۲۷	۲/۷	۲/۳	۹/۸
۱۱	1,8-cineole	۱۰۳۰	۱/۹	۲/۲	۲/۱
۱۲	(Z)- $\beta$ - Ocimene	۱۰۳۶	۲/۷	۲/۸	۱/۸
۱۳	$\gamma$ -terpinene	۱۰۵۸	۲/۸	۲/۷	۱/۲
۱۴	linalool	۱۰۹۷	۱/۸	۱/۶	۲/۱
۱۵	terpinen-4-ol	۱۱۷۵	۱/۱	۲/۶	۰/۷
۱۶	$\alpha$ -terpineol	۱۱۸۸	۲/۱	۲/۷	۲
۱۷	bicycloelemene	۱۳۳۳	۱۵/۷	۲/۳	۶/۶
۱۸	$\alpha$ -copaene	۹۲۶	۰/۹	۲/۸	۱/۱
۱۹	$\beta$ -gurjunene	۱۴۲۷	۱/۲	۲/۸	۰/۵
۲۰	allo-aromadendrene	۱۶۵۰	۱/۹	۲/۲	۰/۱
۲۱	germacrene-D	۱۴۷۹	۱۶/۱	۸/۷	۱۶/۹
۲۲	bicyclogermacrene	۱۴۹۴	۱۶/۲	۱۱/۲	۱۶/۶
۲۳	$\delta$ - cadinene	۱۵۲۲	۱/۶	۱/۹	۱/۴
۲۴	spathulenol	۱۵۷۵	۱/۹	۳/۱	۲/۲
۲۵	isospathulenol	۱۶۳۲	۱/۶	۲/۸	۱
۲۶	$\alpha$ -cadinol	۱۴۵۸	۲/۴	۲/۶	۰/۱



شکل ۱: نمودار کروماتوگراف اسانس *Stachys inflata* در رویشگاه بلده



شکل ۲: نمودار کروماتوگراف اسانس *Stachys inflata* در رویشگاه واوسر



شکل ۳: نمودار کروماتوگراف اسانس *Stachys inflata* در رویشگاه برنت

12. Maghol, M. 1992. Medical Plants of Isfahan and Chaharmahal o Bakhtiari Province. Proceeding of First Congress of Traditional Medicine. Tehran. 216-230.
13. Maleki, N., Garjani, A., Nazemiyeh, H., Nilfouroushan, N., Eftekhari Sadat, A.T., Allameh, Z. and Hasannia, N. 2001. Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rates. Journal of Ethnopharmacology, 75:213-218.
14. Moghadam, M.R. 1998. Rangeland and range management. Publication, University Tehran. 450 p.
15. Moshefi, M.H., Mofidi, A., Mehrabani, M.N., and Mehrabani, M. 2009. Examination of component and its effect antibacterial essential oil *Stachys acerosa* Boiss. plant. Journal of medicinal plant. 33:108-115.
16. Nabizahedasl, S., Majizi, A., and Jabarimoghadam, N. 2010. Examination of chemical component two cecotype *Stachys inflata* Benth in two different habitat. Journal of bio science. 5(1):31-38.
17. Omidbaygi, R. 1995. Approaches of production and processing of medicinal plants. Publication Fekre roz. (1):283 p.
18. Omidbaygi, R. 2010. Production and processing of medicinal plants. Publication, Astane Ghodse Razavi. (1): 347 p.
19. Omidbeigi, R. 1999. Study of Wild Comomiles of Iran and Compare with Cultivated Types. Tarbiat Modares Journal of Agricultural Sciences. 1:73-90.
20. Rezazadeh, Sh.A., Pirhamedani, M., Hajiakhondi, A., Yazdani, D., Jamshidi, A.M., and Taghizadeh, M. 2006. Examination of component of essential oil *Stachys athorecalyx* C. Koch. in Aresbaran region. Journal of medicinal plant. Year. 18:56-62.
21. Rhizophoulou, S., and Diamantoglou, S. 1991. Water stress induced diurnal variation in leaf water relation stomatal conductance, soluble, sugar, lipids and essential oil content of *Origanum majoranal*. J. of Horticultural Science, 66: 119-125.
22. Telascra, M., de Araújo, C.C., Marques, M.O.M., Facanali, R. and de Moraes, P.L.R. 2007. Cavalheiro, A.J. Essential oil leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. Biochem. Syst. Ecol. 35: 22-232.
23. Saber Amoli, S., Naseri, A., Rahmani, G.H., and Kalirad, A. 2004. Medical Plants of Kerman Province. Journal of Research in Medical and Essence Plants of Iran. 20(4):487- 532.
1. Azarnivand, H., Gham Arbani, M., Sefidkon, F., and Tavili, A. 2010. Examination if effect of characteristic of ecology (soil, elevation) on quantity and quality essential oil flower and leaf *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium*. Journal of researches medicinal and aromatic plant Iran. 25(4):556-571.
2. Bagherzadeh, K., and Pakravan, M. 1999. Introduction of medical and industrial plants of Isfahan province. Proceeding of First Congress of Traditional Medicine. Tehran. Pp: 78-89.
3. Bülow, N., and König, W.A. 2000. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: Investigation of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. Phytochemistry, 55:141-168.
4. Corticchiato, M., Tomi, F., Bernardini, A.F. and Casanova, J. 1998. Composition and intraspecific variability of essential oil from *Thymus herbabarona* Bois. Biochemical Systematics and Ecology, 26: 915-932.
5. Crocoll, C., Asbach, J., Novak, J., Gershenzon, J. and Degenhardt, J. 2010. "Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis". Plant Mol. Biol. 73:587-603.
6. Flamini, G., Luigicioni, P., Morelli, I. and Maccioni, S. 2004. Phytochemical typologies in some population of *Myrtus communis* L. on caprionepromontory (East Liguria, Italy). Food Chemistry, 85: 599-604.
7. Ghelichnia, H. 2000. Study of Distribution and Ecology of 36 Species of Essenced Medical Plants of Mazandaran Province. Proceeding of First Congress of Traditional Medicine. Tehran. 101- 112.
8. Jaymand, K. and Rezaei, M.B. 2006. Essential oils, distillation apparatuses, test methods of essential oils and retention indices in essential oil analysis. Iranian Society of Medicinal Plants.
9. Jafari, Gh. 2003. Methods of analysis of soil, sampling and important analysis physical and chemical with emphasis on principal theory and applied. Publication Nedayr Zohi. 236p.
10. Jokarkashi, F., Foladi, J. and Bayat, M. 2005. Biotransformation,  $\beta$ -pinene to  $\alpha$ -pinene by biocatalytor. Proceeding of fourth of national conference biotechnology of the Islamic Republic of Iran. Kerman.
11. John E.M., and Gregory K.B. 1987. Synthesis of macrocyclic terpenoid hydrocarbons by intramolecular carbonyl coupling: bicyclgermacrene, lepidozene, and casbene. Journal Organic. Chemistry, 52(22):4885-4893.

27. Skaltsa, H.D., Demetzos, C., Lazari, D., and Sokovic, M. 2003. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochem.* 64:743-52.
28. Street, R.A., Kulkarni, M.G., Stirk, W.A., Southway, C., Abdillahi, H.S., Chinsamy, M. and Staden, J.V. 2009. Effect of cadmium uptake and accumulation on growth and antibacterial activity of *Merwillaplumbea*-An extensively used medicinal plant in South Africa. *South African Journal of Botany*, 75(3):611-616.
29. Stutte, G.W. 2006. Process and product: recirculating hydroponics and bioactive compounds in a controlled environment. *Hort. Science*, 41(3):526-530.
24. Semnani, M., and Saidi, M. 2006. Examination and comparison of effect anti microbe extractions of methanol some species (*Stachys*, *Phlomis*). *Journal of University medical science of Mazandaran*. 57:57-66.
25. Shahrokhi, N. 1996. Quality control methods for substrates of medical plants medicines. Iranian Academic Center of Education of Shahid Beheshti University press. 287 p.
26. Simon, J.E., Reiss – Bubenheim, D., Joly, R. and Charles, D. 1992. Water stress induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4:71-75.