فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۴، شماره ۴، صفحات ۲۳-۱۱
(زمستان ۹۷)

خصوصیات مورفوفیزیولوژیک، بیوشیمیایی، عملکرد و ترکیب اسانس چای‌کوهی جمع‌آوری شده از مرند، ایران

مریم پرتوی مرند، علیرضا طباطبایی رئیسی✉، شهرام باغبان سیروس

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران ✉ dr.tbtb@yahoo.com **(مسؤول مکاتبات)**

چکیده چای کوهی از تیره نعناع با خواص درمانی متعدد در مناطق مختلف ایران رویش دارد. در این پژوهش، نمونه‌های گیاهی از چای کوهی در اواخر بهار از سه منطقه ارلان، گلجار و نوجه‌ده‌شیخلر شهرستان مرند، جمع‌آوری و خصوصیات جغرافیایی رویشگاه ثبت شد. برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی مانند طول ساقه، وزن تر و خشک گیاه، محتوای کلروفیلa و b و کل و نیز میزان سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر و نیز عملکرد و ترکیبات اسانس و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن اندازه‌گیری شد. داده‌ها براساس طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. میزان منیزیم در گلجار، فسفر و طول ساقه در نوجه‌ده شیخلر، سدیم، وزن تر و میزان کلروفیلa، b در ارلان نسبت به دو منطقه دیگر بیشتر بود. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه نمونه‌ها یکسان بود. نمونه چای کوهی جمع‌آوری شده از ارلان نسبت به دو منطقه دیگر دارای سدیم بیشتری در اندام‌های گیاهی بود که می‌توان به بالا بودن میزان جرماکرین‌دی در این منطقه نسبت داد.

شناسه مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ پژوهش: ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۱

واژه‌های کلیدی

- اکوتیپ
- خواص آنتی‌اکسیدانی
- روغن گیاهی
- گیاهان دارویی

این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY - NC - ND انتشار یافته است.

DOI: 10.22034/AEJ.2018.545781

مقدمه گیاهان دارویی از منابع ارزشمندی هستند که شناخت و کشت و پرورش علمی آن‌ها می‌تواند نقش مهمی در سلامت جامعه داشته باشد. با توجه به تأثیر عوامل محیطی بر رشد گیاهان دارویی و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها، گیاهان دارویی از نظر اقتصادی زمانی مقرون به صرفه اند که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد.[۱۷]

با توجه به توان بالقوه کشور در زمینه تنوع گیاهان اسانس‌دار و دارویی، شناخت گونه‌های گیاهی و دستیابی به اطلاعات لازم در مورد محل‌های رویش و خصوصیات اکولوژیکی آن‌ها، گام‌های اساسی برای استفاده از اسانس‌های گیاهی و ترویج شیوه‌های اصولی بهره‌برداری از این گیاهان به شمار می‌روند.[۹] رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی در اکوسیستم‌ها، تحت تأثیر عوامل مختلف نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، محیط خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی می‌باشد.[۲۶]

چای کوهی[۱] بومی منطقه خاور میانه از جمله ایران، عراق، ترکیه، نیز ارمنستان و ترکمنستان می‌باشد.[۱۰] این گیاه با ارتفاع حدود ۲۵ سانتی‌متر با ساقه کرک‌دار و گل‌آذین پشم‌گونه دراز و خوش‌بو است. زمان گلدهی این گیاه از فروردین تا خرداد ماه می‌باشد.[۷]

از اسانس و عصاره این گیاه به عنوان ضدعفونی‌کننده[۲] و نیز در درمان بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود.[۱۳] این گیاه همچنین، دارای خاصیت ضددرد به ویژه دردهای مفصلی، سردرد و سرگیجه می‌باشد.[۲۲] میزان معطر و دارویی بودن این گیاه به نوع اقلیمی که در آن رشد و نمو می‌کند، بستگی دارد.[۲۱]

اسکالتس[۳] *و همکاران (۲۰۱۰)* با بررسی هشت گونه از جنس ***Stachys*** در یونان نشان دادند که هیدروکربن‌های سزکویی‌ترپنی[۴] بخش اصلی اسانس گونه‌های مورد مطالعه است.[۲۴] نتایج بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس چای کوهی مناطق آذربایجان و مازندران نشان داده که عمده‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده آن میرسین[۵]، جرماکرین‌دی[۶]، بتا پینن[۷]، آلفا پینن[۸] و کارون[۹] می‌باشد.[۲۵]

بررسی چای کوهی در رویشگاه‌های مشهد و شاهرود نشان داد که خصوصیات ریخت‌شناسی و میزان اسانس نمونه‌های گیاهی با هم اختلاف معنی‌داری دارند. چای کوهی نمونه برداری شده از شاهرود بیشترین میزان فنل کل و مشهد بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را دارا بودند. همچنین، بیشترین عملکرد و درصد اسانس مربوط به رویشگاه مشهد مشاهده شد که می‌توان به ارتفاع و بارندگی کمتر نسبت داد.[۱۴]

کارگر[۱۰] *و همکاران (۲۰۱۵)* با بررسی ارتباط ویژگی‌های عملکردی چای کوهی با برخی ویژگی‌های خاکی و توپوگرافی در حوضه آبخیز لاسم دریافتند که خصوصیات توپوگرافی بر ریخت‌شناسی و شاخص‌های رشد گیاه موثر نبود ولی ویژگی‌های خاکی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد داشت.[۱۲]

هدف از این پژوهش تعیین تنوع در خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی و ترکیبات اسانس چای کوهی نمونه‌برداری شده از سه منطقه موجود در روستاهای ارلان، گلجار و نوجه‌ده‌شیخلر شهرستان مرند، استان آذربایجان شرقی بود.

[1] *Stachys lavandulifolia* Vahl.
[2] antiseptic
[3] Skaltsa
[4] sesquiterpene
[5] mirssin
[6] germacrene D
[7] beta pinen
[8] alpha pinene
[9] carvone
[10] Kargar

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی

نمونه‌های گیاهی چای کوهی در بهار سال ۱۳۹۵ از سه رویشگاه طبیعی این گیاه شامل ارلان، گلجار و نوجه ده شیخلر شهرستان مرند واقع در ارتفاع ۲۰۰۰ تا ۲۰۵۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری و شناسایی شد.[۲۰]

مشخصات جغرافیای و اقلیمی رویشگاه‌ها از اداره هواشناسی شهرستان مرند تهیه شد (جدول ۱). نمونه‌ها شامل سرشاخه‌های گلدار بود که در سه تکرار از کرت‌هایی به ابعاد ۱ متر مربع برداشت و در سایه خشک گردیدند. صفات موروفولوژیک شامل ارتفاع ساقه گل‌دهنده، وزن تر و خشک ساقه، طول برگ در زمان گلدهی کامل گیاهان اندازه‌گیری و ثبت گردید.

همچنین، نمونه‌برداری از خاک رویشگاه‌ها از عمق ۳۰ – ۰ سانتی‌متری انجام و آزمون خاک در آزمایشگاه تجزیه خاک شهرستان مرند انجام گرفت (جدول ۲).[۱۵]

سنجش فسفر، منیزیم، کلسیم، سدیم

برای تهیه عصاره گیاهی ابتدا ۱ گرم از نمونه گیاهی در کوره الکتریکی به مدت ۲ روز خشک و سپس ۱۰ میلی‌لیتر از کلریدریک‌اسید نرمال به آن اضافه و حرارت داده شد. پس از خروج بخار، محلول به دست آمده در استوانه مدرج که در دهانه آن کاغذ صافی قرار داده شد صاف گردیده و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای اندازه‌گیری فسفر در نمونه‌های گیاهی ۱ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی تهیه شده در ۳ میلی‌لیتر معرف وانادات – مولیبدات[1] به آن اضافه و ۶ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده بعد از ۳۰

جدول ۱) اطلاعات جغرافیایی رویشگاه‌های نمونه‌برداری شده چای کوهی مرند، ایران

Table 1) Geographic characteristics of collection sites of wondwort from Marand, Iran

Location	altitude (m)	rain (mm)	longitude	latitude Rain
Arlan	2050	25.9	45° 55’ 75’’	38° 37’ 46’’
Goljar	2000	27.9	45° 72’ 44’’	36° 48’ 491’’
Nogedeh Sheikhler	2030	27.9	47° 10’ 30’’	36° 24’ 24”

جدول۲) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مناطق نمونه برداری شده، چای کوهی مرند ایران

Table 2) physical and chemical characteristics of collection site soil from Marand, Aran

Collection site	Soil texture	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	pH	OC (mg/g)	CEC (Meq/100g)	Mg (mg/g)	Ca (mg/g)	TVN (%)	EC (ds/m)	T.N (%)	P (mg/g)	K (ppm)
Goljar	Sandy loam	12	16	80	6.94	0.59	2.18	1.2	2.4	4.25	0.517	0.13	10	158
Noge deh Sheikhler	Sandy loam	18	24	64	6.75	1.5	22.42	1	3.6	2.25	0.639	0.11	12	219
Arlan	Sandy loam	12	30	58	6.98	1.29	18.02	1.4	3.4	2	0.843	0.05	5	311

[1] Vanadate- molybdate reagent

دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر، جذب نوری آن توسط دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری و با در دست داشتن وزن خشک نمونه‌های گیاهی و با استفاده از منحنی استاندارد مقدار فسفر بر حسب میلی‌گرم بر گرم محاسبه شد.[۴]

کلسیم به روش کمپلکسمتری[۱] اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی با ۲ میلی‌لیتر از سود ۲/۵ نرمال به همراه ۳۰ میلی‌گرم معرف ترکیب شد تا به رنگ قرمز درآید. سپس اتیل‌دی‌آمین تترا استیک‌اسید سدیم[۲] تا زمانی که رنگ محلول بنفش شود به آن اضافه گردید و مقدار مصرفی اتیل‌دی آمین تترا استیک اسید سدیم یادداشت شد.[۴]

به منظور تعیین میزان منیزیم از روش کمپلکسومتری استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی به همراه ۲ میلی‌لیتر معرف جهت تثبیت اسیدیته و ۳۰ میلی‌گرم اریوکروم سیاه[۳]ترکیب کرده تا به رنگ پوست‌پیازی درآید و تیتراسیون با اتیل دی آمین تترا استیک اسید[۴] آغاز شد و حجم اتیل دی آمین تترا استیک اسید مصرفی یادداشت گردید. نقطه پایان تیتراسیون رنگ محلول از رنگ ارغوانی به آبی تبدیل شد.[۴]

یک گرم از گیاه خشک شده با ۱۰ میلی‌لیتر کلریدریک‌اسید مخلوط و پس از عبور از کاغذ صافی، به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شده و با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری مقدار سدیم اندازه‌گیری شد.[۴]

تعیین عملکرد و ترکیبات اسانس گیاهی

برای تعیین عملکرد اسانس، از روش تقطیر با آب استفاده گردید. بدین منظور ۵۰۰ گرم از سرشاخه‌های گلدار خردشده توسط آسیاب به مدت ۴ ساعت با دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. پس از تعیین بازدهی اسانس بر اساس وزن خشک گیاه برای شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس سرشاخه گلدار چای کوهی از دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی[۵] استفاده به عمل آمد. گاز کروماتوگراف مجهز به ستون موئین[۶] به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بود. گاز حامل در مورد کلیه نمونه‌ها هلیوم و با نسبت جریان ۰/۷ میلی‌لیتر بر دقیقه و در آنالیز کلیه نمونه‌ها پتانسیل یونیزاسیون دستگاه برابر ۷۰ الکترون ولت، سرعت متوسط ۳۷ سانتی‌متر بر ثانیه و با فشار ۸/۷۶ و بیشترین درجه حرارت در زمان تزریق ۳۵۰ درجه سلسیوس بود. تمامی نمونه‌ها جهت تزریق به دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی به صورت محلول ۱٪ آماده شدند. برای تهیه این محلول ۱۰میکرولیتر اسانس کلیه نمونه‌ها ی تزریقی در ۱ میلی‌لیتر حلال حل و به مدت ۱۰-۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و سپس با حجم ۱ میکرولیتر به دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی تزریق شدند.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل

محتوای کلروفیل به روش *آرنون (۱۹۶۷)*اندازه‌گیری شد.[۱] به این ترتیب که از هر تکرار ۰/۱۶ گرم از جوان‌ترین برگ جدا و پس از اندازه‌گیری وزن تر آن برای استخراج کلروفیل در ظرف شیشه‌ای درب دار ۵ میلی‌لیتر استون قرار داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در یخچال در تاریکی نگهداری شد تا رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ استخراج و برگ کاملاً آبی‌رنگ شود. میزان جذب نوری عصاره‌های رنگیزه‌ای را در دو طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر برای تعیین غلظت کلروفیل اندازه‌گیری و بر

[1] complexometric
[2] $EDTAH_2\ Na_2$
[3] EriochromeBlack
[4] EDTA
[5] Agilent6890N, USA
[6] Agilent 190915-433, USA

اساس واحد میلی‌گرم بر لیتر با دستگاه طیف‌سنج نوری[1] اندازه‌گیری شد.

(A۶۴۵) ۲/۶۹ – (A۶۶۳) ۱۲/۷ =(میلی گرم بر گرم)کلروفیل a

(A۶۶۳) ۴/۶۸ - (A۶۴۵) ۲۲/۹ =(میلی گرم بر گرم)کلروفیل b

(A۶۶۳) ۸/۰۲ – (A۶۴۵) ۲۰/۲ =(میلی گرم بر گرم)کلروفیل کل

اندازه‌گیری میزان آنتی‌اکسیدان

برای اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ۱ گرم از ماده خشک گیاه با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ در داخل هاون سرد کوبیده شده و در لوله آزمایش ریخته و با فویل پوشاندخ شد و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی قرار داده شده و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰ انجام داده و ۰/۰۰۲ گرم از DPPH[2] به هر یک از عصاره‌ها اضافه شد بعد از قرار دادن لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نمونه‌ها را در طول موج ۵۱۷ نانومترتوسط دستگاه طیف‌سنج نوری قرائت شد و درصد مهار رادیکال آزاد توسط فرمول زیر به‌دست آمد.[۳]

$$\%I = \left(\frac{A0 - As}{A0}\right) \times 100$$

A_0: جذب کنترل (حاوی همه اجزای واکنشگر بدون نمونه) و A_s: جذب نمونه

صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم افزار SPSS ver.21 بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث نمونه‌های چای کوهی نمونه‌برداری شده از مناطق مختلف شهرستان مرند از لحاظ وزن خشک، وزن تر ، کلروفیلb، کلروفیل کل در سطح احتمال ۱٪ و طول ساقه و کلروفیل a در سطح ۵٪ و مقدار منیزیم و فسفر در سطح ۱٪ و سدیم در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم داشتند (جدول ۳). همچنین بین وزن تر و خشک بیشترین ضریب همبستگی مثبت در سطح احتمال ۱٪ به‌دست آمد (جدول ۴). همچنین ضریب همبستگی بین صفات طول ساقه با وزن خشک، کلروفیل کل با آنتی اکسیدان، سدیم با وزن خشک، سدیم با پتاسیم، وزن خشک با پتاسیم، منیزیم با کلروفیل کل در سطح احتمال ۵٪ مثبت و معنی‌دار بود. بین صفات وزن تر با منیزیم، وزن خشک با منیزیم، وزن خشک با کلسیم، طول ساقه با کلروفیل a، عرض برگ با کلروفیل b، عرض برگ با کلروفیل کل همبستگی معنی‌دار منفی در سطح احتمال ۵٪ حاصل شد که بیشترین همبستگی معنی‌دار منفی مربوط به صفات وزن خشک با منیزیم بود. بیشترین میزان ارتفاع گیاه از منطقه نوجه ده شیخلر و کمترین میزان از منطقه گلجار حاصل گردید (جدول ۵) که می‌توان این مقدار بالای ارتفاع را با توجه به میزان بالای بارندگی در این منطقه و اطلاعات حاصل از جدول تجزیه خاک ناشی از میزان پایین اسیدیته خاک، میزان بالای کلسیم و همچنین میزان نسبتاً بالای ازت همچنین بافت لوم شنی خاک دانست. در منطقه ارلان میزان وزن تر ساقه بالا بود و میزان ماده خشک نیز در همان منطقه بیشتر گردیده است که علت این امر را می‌توان در بالا بودن میزان عناصر خاک و بافت شنی لومی خاک این منطقه دانست. در پژوهشی که توسط *بلندر*[3] *(۱۹۹۵)* روی آویشن جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف، تفاوت‌های رویشگاهی مانند ارتفاع از سطح دریا، عرض جغرافیایی و میزان بارندگی و بافت خاک، موجب بروز

[1] Cecil2014, England
[2] diphenyl-1-picrylhydraz yl free radical
[3] Belander

تفاوت‌هایی بین صفات ارتفاع و وزن خشک گیاه و بازده اسانس می‌شود.[۲] *فیکجوری (۲۰۱۳)* در بررسی گل انگشتانه[1] در سه منطقه نشان داد که ارتفاع از سطح دریا در مازندران به طور معنی‌داری بر ارتفاع گیاه موثر بوده است.[۵] در مطالعه حاضر، منطقه نوجه ده شیخلر ارتفاع بالاتری از سطح دریا نسبت به منطقه گلجار دارد و می‌توان چنین نتیجه گرفت که رویش یا کاشت این گیاه در ارتفاع‌های بالاتر از سطح دریا می‌تواند باعث افزایش عملکرد شود. مقدار کلروفیل a و b به ترتیب برای اندازه‌گیری نمونه‌های جمع‌آوری شده در منطقه ارلان دارای مقادیر بیشتر از سایر مناطق است که با توجه به جدول تجزیه خاک علت این اختلاف را در میزان زیاد بودن منیزیم و بالا بودن مقدار مواد آلی در خاک این منطقه می‌توان دانست.

منیزیم به عنوان یک عنصر ضروری برای کلروفیل می‌باشد[۱۶] و بین کلروفیل کل و منیزیم همبستگی مثبت در سطح احتمال ۵٪ به‌دست آمده است. *قانعی و همکاران (۲۰۱۴)* دربررسی تنوع بیوشیمیایی ۲۵ جمعیت از گیاه نعناع گزارش کردند که بین جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر میزان کلروفیل a و b تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود،[۶] از طرفی بیان کردند که مواد آلی به علت اثرات سازنده‌ای که بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی دارند به عنوان یکی از ارگان باروری خاک شناخته شده و می‌تواند بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل تأثیر بگذارد. با توجه به بالا بودن میزان ماده آلی در خاک رویشگاه ارلان، بالاتر بودن میزان کلروفیل a و b در گیاهان این رویشگاه منطقی به نظر می‌رسد (جدول ۵). عمده‌ی ترکیبات رنگدانه‌های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی هستند.[۲۷] از اینرو نیتروژن می‌تواند تا حد زیادی منجر به افزایش مقدار آن‌ها در گیاه گردد. با توجه به بالا بودن میزان نیتروژن در خاک و جذب از خاک به وسیله ریشه گیاهان میزان تجمع نیتروژن در اندام هوایی و برگ گیاه افزایش می‌یابد. کمبود، نیتروژن با تسریع در پیری برگ و تولید رادیکال‌های آزاد باعث کاهش تولید کلروفیل می‌شود.[۲۲] احتمالاً بالا بودن نیتروژن خاک عامل افزایش کلروفیل کل در گیاهان جمعیت گلجار شده است. میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده از مناطق گلجار بیشتر از سایر مناطق بود که می‌توان ناشی از مقدار بالای ظرفیت تبادلی خاک، کلروفیل کل و مقادیر بالای منیزیم و کلسیم در این منطقه دانست. وابستگی میزان کاروتنوئید و کلروفیل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیمی دارد. مجموع کلروفیل a و b و کل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه خطی و مستقیمی را نشان می‌دهد. بیشترین میزان ترکیبات اسانس به‌دست آمده در منطقه ارلان (جدول ۶) جرماکرین‌دی[2]، پنتاکوزان[3]، در منطقه گلجار (جدول ۷) جرماکرین‌دی، آلفاپینن[4]، در منطقه نوجه ده شیخلر (جدول ۸) آلفاپینن، جرماکرین‌دی بود که بر این اساس بیشترین میزان جرماکرین‌دی در منطقه ارلان می‌باشد که دارای کمترین میانگین میزان بارش و بالاترین ارتفاع می‌باشد که می‌توان این اختلاف میزان را در ارتفاع بالا و میزان بالای ازت میزان بالای ظرفیت تبادل کاتیون خاک دانست.

[1] *Digitalis purpurea*

[2] Germacren D

[3] Pentacosane

[4] Alpha pinene

جدول۳) تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چای کوهی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهرستان مرند، ایران

Table 3) Analysis of variance of morpho-physiological and biochemical trait of woundworts samples collected from three collection sites of Marand, Iran

Sources of variation	df	Antioxidants	Dry weight	Fresh weight	Leaf width	Leaf length	Stem length	Chlorophyll b	Chlorophyll a	Total chlorophyll	Na	K	Ca	Mg	P
Location	2	8.344ns	326.054ns	143.933**	0.034ns	0.111ns	5.444*	2.583**	0.182*	0.932**	0.352*	4.688ns	1ns	0.948**	0.006**
Error	6	5.471	186.101	559.288	0.014	0.167	1.111	0.064	0.031	0.022	0.061	0.25	0.25	0.054	0.0001
CV(%)		2.73	6.56	6.34	18.93	15.97	0.167	22.55	22.96	16.46	19.11	16.67	16.67	4.81	9.63

ns، *،**به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪ ns, * and ** insignificant and significant at 5 and 1% probabilitylevel respectively

جدول ۴) همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی چای کوهی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهرستان مرند، ایران

Table 4) Correlation morphophysiological and biochemical trait of wondwort samples collected from three collection sites of Marand, Iran

Traits	P	Mg	Ca	K	Na	chlorophyll a	chlorophyll b	total chlorophyll	stem length	leaf length	leaf width	fresh weight	dry weight
Mg	-0.249ns												
Ca	-0.072ns	0.586ns											
K	-0.496ns	-0.352ns	-0.303ns										
Na	-0.255ns	0.42ns	-0.242ns	0.71*									
Chlorophyll a	-0.509ns	0.605ns	0.455ns	-0.155ns	-0.365ns								
Chlorophyll b	-0.351ns	0.095ns	-0.104ns	0.203ns	0.184ns	0.047ns							
Total chlorophyll	-0.501ns	0.778*	0.205ns	-0.337ns	-0.498ns	0.657ns	0.46ns						
Stem length	0.135ns	-0.607ns	-0.305ns	0.267ns	0.434ns	-0.724*	-0.147ns	-0.562ns					
Leaf length	-0.209ns	-0.80ns	-0.572ns	0.329ns	0.455ns	0.017ns	-0.166ns	0.009ns	0.178ns				
Leaf width	0.608ns	-0.518ns	-0.237ns	-0.05ns	0.209ns	-0.204ns	-0.72*	-0.704*	0.158ns	0.322ns			
Fresh weight	-0.463ns	-0.665*	-0.537ns	0.613ns	0.492ns	-0.241ns	0.162ns	-0.333ns	0.42ns	0.269ns	0.032ns		
Dry weight	0.188ns	-0.744*	-0.679*	0.737*	0.696*	-0.549ns	0.079ns	-0.547ns	0.734*	0.459ns	0.168ns	0.803**	
Antioxidants	-0.378ns	0.616ns	0.247ns	-0.115ns	-0.035ns	0.347ns	0.604ns	0.716*	-0.199ns	0.085ns	-0.61ns	-0.465ns	0.318ns

جدول۵) خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چای کوهی نمونه برداری شده از سه زرویشگاه در مرند، ایران مورد مطالعه

Table 5) Compare Average The values of biochemical and physiologic properties in the studied areas

Habitat name	P (mg/g)	Mg (mg/g)	Na (mg/g)	chlorophyll a (mg/g)	chlorophyll b (mg/g)	total chlorophyll (mg/g)	fresh weight (g)	length of stem (cm)
Goljar	0.22b	5.5a	0.9b	1a	1.1b	1.433a	304.3c	12.33c
NogedehSheikhler	0.25a	4.47b	1.4a	0.5b	0.1533c	0.323c	370b	15a
Erlan	0.17c	4.5b	1.5a	0.98ab	2.003a	0.873b	442.7a	14ab

جدول ۶) ترکیبات شناسایی شده در اسانس چای کوهی جمع آوری شده از منطقه ارلان، مرند، ایران

Table 6) Chemical compounds identified in woundworts essential oils collected from Erlan, Marand, Iran

Compounds	Retention time (min)	Compound Percent
Germacren D	22. 79	40. 5
Pentacosane	31. 64	7. 61
Naphthalene	17. 50	7. 5
Bisacolo(4. 4. 0) dec-1-ene	15. 57	6. 50
Delta cadinene	16. 12	6. 25
Beta Farnesene	14. 57	4. 19
Gamma cadinene	14.56	3. 93
Alpha pinene	14. 56	3. 23
Caryophyllene	13. 88	2. 68
Beta Gurjunene	13. 29	2. 10
Alpha Fenchene	13. 40	2. 3
Sabinene	6. 28	1. 94
Alpha Amorphene	14. 17	1. 93
Valencene	17. 38	1. 69
Phenylthio acetic	17. 66	1. 58
Beta pinene	5. 34	1. 43
AlphMurrolol	18. 87	1. 40
Alpha cadinol	18. 61	1. 39

عواملی که رشد، نمو و بیوسنتز ترکیبات اولیه و ثانویه را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهند، عوامـــل اکولوژیکی و ژنتیکی می‌باشند. اگرچه این ترکیبـات اساساً با هدایت فرآیـندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها به نحو بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند.[۲۳] چرا که محیط به عنوان مهم-ترین عامل مؤثر بر میزان بیان ژن‌های بیوسنتزکننده ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی مطرح می‌باشد تأثیر عوامل محیطی نظیر نور، آب، درجه حرارت و تغذیه بر عملکرد اسانس، به نوع اندام ذخیره کننده اسانس و ماهیت شیمیایی اسانس بستگی دارد.[۲۰] منطقه ارلان دارای کمترین میزان بازده اسانس به میزان ۰/۲٪ می‌باشد که می‌توان ناشی از میانگین بارش کم و میزان کم ازت خاک این منطقه دانست. منطقه نوجه ده شیخلر بیشترین درصد اسانس حاصل از تقطیر را داشته است که می‌توان ناشی از میزان بالای کلسیم طبق پژوهش‌های *امید بیگی (۱۹۹۸)*، خاک‌های حاوی ترکیبات کلسیم را برای افزایش بازده اسانس مطلوب معرفی کرده است.[۱۷] فسفر موجود در خاک منطقه نوجه ده شیخلر باعث افزایش درصد اسانس شده است. حضور عناصری نظیر فسفر در خاک برای تشکیل ترکیبات اسانس ضروری می‌باشد در نهایت بهبود

جدول ۷) ترکیبات شناسایی شده از اسانس چای کوهی جمع‌آوری شده از منطقه گلجار، مرند، ایران

Table 7) Chemical compounds identified in woundworts essential oils collected from Goljar, Marand, Iran

Compounds	Retention time (min)	Compound Percent
Germacrene D	15. 57	21. 94
Alpha pinene	4. 10	8. 11
SHexadecanoic acid	24. 6	6
Alpha cadinol	18. 87	5. 2
Beta pinen	5. 8	4. 70
Pentadicanon	22	4. 33
Tricyclene	5. 97	4. 22
Salvial	17. 65	4. 4
Alpha Zingiberene	14. 8	3. 89
Beta phyllandrene	5. 89	3. 84
Beta cadinene	16. 11	3. 67
Isophytol	26. 69	3. 35
Beta Faresene	14. 51	2. 90
Spathulenol	17. 35	2. 41
Alpha Copaene	12. 96	2. 40
Naphthalene	17. 49	2. 28
Alpha bisabolol	19. 37	2. 24
DEL، 3 carene	23. 86	1. 98
Beta bisabolene	15. 73	1. 94
Polegone	10. 7	1. 84
Alpha Terpineol	8. 95	1. 81
Dodecanoic acid	16. 98	1. 75
Valernone	19. 21	1. 37
Dinorlab-12-ene	22. 79	1. 35
Tetradecanoic acid	20. 72	1. 28
2-Pentadecanoic acid	28. 34	1. 13

عملکرد اسانس را در پی خواهد داشت.[۱۸] همچنین در مطالعه *قاسمی (۲۰۱۳)* روی اسانس گیاه چای کوهی در دو منطقه چها ر محال بختیاری و اصفهان انجام شده بود.[۷] آلفاپینن، جرماکرین دی و بتا فلاندرن به عنوان جز غالب اسانس شناخته شده است که از این نظر تا حدودی با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. اگرچه از نظر سایر ترکیبات مورد بررسی اختلافات قابل مشاهده‌ای، وجود دارد که این امر به منطقه جغرافیایی گیاه در آن رشد کرده و شرایط محیطی مربوط می‌شود. خاک رویشگاه گلجار با ارتفاع ۲۰۰۰ متر دارای مقادیر کمتری از ازت کل و فسفر قابل جذب نسبت به رویشگاه‌های دیگر بود که این امر می‌تواند دلیل بر کاهش درصد و عملکرد اسانس باشد. طبق پژوهش‌های *حبیبی و همکاران (۲۰۰۷)* چنانچه متوسط بارندگی بیشتر باشد و گیاه کمتر تحت تنش رطوبتی بازده اسانس بیشتری خواهد داشت.[۸] درمطالعه حاضر در جمعیت چای کوهی در منطقه نوجه ده شیخلر با میزان بارندگی بیشتر ترکیبات اسانس بیشتری داشته است که با نتایج این پژوهش هماهنگی دارد. کمترین میزان فسفر مربوط به منطقه ارلان است. علت این تفاوت را می‌توان علی‌رغم ایـــن

جدول ۸) ترکیبات شناسایی شده از اسانس چای کوهی جمع آوری شده از منطقه نوجه‌ده شیخلر، مرند، ایران

Table 8) Chemical compounds identified in woundworts essential oils collected from NogedehSheikhler, Marand, Iran

Compounds	Retention time (min)	Compound Percent
Alpha pinen	4. 60	9. 56
Germacrene D	15. 29	9. 10
Beta phyllanderen	6. 29	7. 8
Hexadecanoic acid	24. 7	6. 21
Beta myceren	5. 56	6. 10
Delta cadinene	18. 60	5. 73
Beta pinene	5. 35	4. 87
Gamma cadinene	15. 48	4. 5
Spathulenol	17. 37	3. 61
Dodecanal	13. 48	3. 16
Phthalic acid	22. 44	3. 11
Phyllandrene	5. 79	3. 5
Alpha terpineol	9. 13	2. 61
Salvial	17. 65	2. 51
Beta Secqui	14. 56	2. 48
Delta caren	5. 91	2. 20
Alpha Cadinol	18. 89	2. 18
Tetradecan	20. 78	2. 18
DOdecanoic acid	17. 9	2. 9
Gamma terpinen	6. 76	2. 6
Alpha copaene	13	1. 82
Valernon	19. 22	1. 79
Ocimene	6. 36	1. 76
Alpha bisabolol	19. 37	1. 75
Octanedioic acid	26. 38	1. 62
Pentadecanon	22. 1	1. 47
Beta cobaben	14. 4	1. 16
Sabinene	5. 25	1. 15
Alpha bisabolene	16. 46	1. 4

که میزان فسفر در خاک این منطقه از میزان بالاتری نسبت به سایر مناطق برخوردار است اما میزان بارندگی کم و میزان کم ازت که رابطه تحریکی با فسفر دارد دانست. در رابطه با میزان منیزیم، کمترین میزان مربوط به نوجه‌ده‌شیخلر می‌باشد که می‌تواند ناشی از میزان بالای کلسیم و میزان پایین منیزیم که تابع روابط بازدارندگی عناصر و کاهش جذب منیزیم در اثر میزان بالای کلسیم دانست. نتایج پژوهش‌های *رمزی و همکاران (۲۰۰۸)* نشان می‌دهد میزان عناصر پرمصرف از قبیل منیزیم در گیاه بیشتر از خاک می‌باشد،[۱۸]

همچنین در خاک نیز میزان این عنصر در منطقه گلجار نسبت به منطقه نوجه ده شیخلر بیشتر بوده و با تعیین میزان منیزیم در چای کوهی میزان این عنصر در گیاه بیشتر از خاک می‌باشد که علت این امر، در قابلیت جذب بیشتر این عنصر توسط خاک در منطقه مورد نظر می‌باشد. در این میان منطقه گلجار دارای بالاترین میزان کلسیم در بافت گیاهی می‌باشد که می‌توان ناشی از میزان بالای بارندگی، ارتفاع پایین، میزان پا یین فسفر و پتاسیم دانست. میزان پتاسیم موجود در بافت گیاهی در سه منطقه بیشترین میزان مربوط به منطقه ارلان می‌باشد که می‌توان ناشی از میزان بالای پتاسیم خاک این منطقه دانست. بیشترین میزان سدیم موجود در بافت گیاهی سه منطقه ارلان، گلجار و نوجه‌ده‌شیخلر مربوط به ارلان می‌باشد که می‌تواند این تفاوت ناشی از میزان پایین بارش و میزان بالای هدایت الکتریکی خاک در بین رویشگاه‌ها دانست.

نتیجه‌گیری کلی ارتفاع گیاه در منطقه نوجه ده شیخلر بیشتر از مناطق ارلان و گلجار بود که به دلیل بارندگی و میزان بالای کلسیم خاک این منطقه می‌باشد. میزان اسانس و غلظت آن در منطقه نوجه ده شیخلر بیشتر می‌باشد که به علت کلسیم بیشتر خاک این منطقه و میزان بالای کربن خاک نسبت داد. چنانچه هدف به‌دست آوردن ترکیب جرماکرین دی که یک ترکیب ضد میکروبی است، باشد منطقه ارلان مناسب می‌باشد و اگر ترکیب آلفا پینن که یک ترکیب ضد التهابی است، منطقه نوجه ده شیخلر مناسب است و شاخص‌ترین ترکیب در منطقه ارلان و گلجار جرماکرین‌دی و نوجه‌ده‌شیخلر ترکیب آلفا پینن بیشترین درصد ترکیبات را داشتند.

References

1. Arnon DI (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24(1): 1-15.
2. Belander A (1995) Population structure of the *Thymus vulgaris* (Labiatea) in Southern France. Evolution Biology 10:157-174.
3. Burits M, Bucar F (2000) Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotheraphy Research 14: 328–323.
4. Davies KW, Bates JD, Miller RF (2005) Vegetation characteristics across part of the wyoming big sagebrush alliance. Rangeland Ecology and Management 59: 567–576.
5. Fikjori M (2013) Investigating the effect of altitude from sea level on morphological characteristics of *Digital nervosa*. Proceedings of the Third National Conference on Medicinal Plant. Amol, Iran. [in Persian]
6. Ghani A, Nemati SH, Azizi M, Saharkhiz MJ, 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. [in Persian with English abstract]
7. Ghasemi Pirbalouti A, Mohammadi M (2013) Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 3(2): 123-128.

8. Habibi H, Mazaheri F, Hosseini M, Chaychi N, Tabatabaei F (2006) Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss) Taleghan region. Journal of Research and Development in Agriculture and Horticulture 73:1-10. [in Persian with English abstract]
9. Hasany J (2004) Investigation of ecological characteristics of two aromatic genus (*Thymus* and *Ziziphora*) in Kurdistan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 20(1): 1-17. [in Persian with English abstract]
10. Hedge I, Rechinger KH (1982) Flora Iranica Akademiche Druck-u Verlagsanstalt. Graz: Austria 150: 360-365.
11. Hosseini Mazinani M, Tajali A, Gandomkar A, Roshandelpour A (2013) Variability in chemical constituent of the essential oil of two species of Stachys genus from Iran. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5(22): 2773-2776. [in Persian with English abstract]
12. Kargar M, Jafarian Z, Tamartash R, Alavi SJ (2015) Investigating the relationship between functional characteristics of *Stachys lavandulifolia* Vahl. with some soil and topographic properties in Angemar rangeland. Lasem watershed. Journal of Rangeland 8(4):342-350. [in Persian with English abstract]
13. Kartsev VG, Stepanislenko NN, Auelbekov SA (1994) Chemical composition and pharmacological properties the genus stachys. Chemistry of Natural Compounds 30:645-654.
14. khorasaninejad S, Chorley S, Hemmati KH, Kashefi B (2016) Study of morphological, antioxidant and essential oil content of *Stachys lavandulifolia* Vahl. in the habitats of the provinces of Semnan, Khorasan. Journal of Plant Physiology 41(11): 52-41. [in Persian with English abstract]
15. Malekoty MJ, Farmer P, Karmin N (2008) The Method Community For the Detection and Development of Fertilizer for Sustainable Agriculture. Publication of Tarbiat Modarres University: Tehran. [in Persian]
16. Marschner H (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed, Academic Press: London.
17. Omidbaigi R (1998) Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants, Vol two. Tarrahan-e Nashr Publication:Tehran. [in Persian]
18. Remzi L, Sümer A, Yasemin K (2008) Determination of some micro and macro elements of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Plants after addition of olive oil solid waste to soil. Proceedings of International Meeting on Soil Fertility Land Management and Agroclimatology. İzmir, Turkey.
19. Rezvani-Moghadam P, Amin Ghafuri A, Bakhshaei SA, Jaafari L (2013) Effects of biological and manure fertilizers on some quantitative characters and essential oil of savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology 5(2): 105-112**.** [in Persian with English abstract]
20. Rechinger KH, Hedge I (1982) Iranica Akamiche Druk Verlagsanstalt. Graz: Austria 360-365.
21. Sajjadi I, Amiri H (2007) Chemical constituents of the essential oils of different stages of the growth of *Stachys lavandulifolia* Vahl. from Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 10(16): 2784-2786.
22. Schutz M, Fangmeir E (2001) Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution 114: 187-194.
23. Semnani M, Akbarzadeh K (2006) Essential oils composition of *Stachys byzantine*, *S. inflata*, *S. lavandofolia* vahl and *S.laxa* from Iran. Journal of Flavor and Fragrance 21:300-303.
24. Skaltsa HD, Mavrommati A, Costantidis T (2010) A chemotaxonomic investigation of volatile constituents in *Stachys* subsect. Swainsonianeae. Journal of Algal Biomass and Bioproducts 57(2): 235-244.
25. Shafizadeh F (2002) Medicinal plants of Lorestan province. Hayian puplisher: Tehran. [in Persian with English abstract]
26. Soltanipour MA (2004) The phenology of medicine species of *Salvia mirzayanii* in several elevation regions of Hormozgan province. Journal of Pazhohesh and Sazandegi 17(4):94-103. [in Persian with English abstract]
27. Zgallai H, Steppe K, Lemeur R (2006) Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti oxidative enzymes in Tomato plants. Journal of Integrative Plant Biology 48(6): 679-685.

Morpho-physiological, biochemical, yield and composition of essential oils of woundwort collected from Marand, Iran

Agroecology Journal
Vol. 14 No 4 (11-23)
(winter 2019)

Maryam Partovi Marand, Alireza Tabatabei Raisi✉, Shahram Baghban Siros
Department of Agriculture, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran
✉ dr.tbtb@yahoo.com **(corresponding author)**

Received: 11 March 2018 **Accepted:** 11 January 2019

Abstract Woundwort **(***Stachys Lavandofolia* Vahl.) is a lamiaceous plant growing frequently in Iran. Woundwort samples were collected from three habitats including Erelan, Golajar and Nojehdeh Sheikhlar located in Marand, Iran in late spring and their geographical characteristics were recorded. Some morphological and physiological traits such as stem length, plant fresh and dry weight, chlorophyll a,b and total chlorophull content, and biochemical characteristics including Na, K, Ca, Mg and P content and also yield and essential oils yield and composition were measured. Obtained data were analyzed based on completely randomized design. The amount of Mg in Goljar, stem length in Nojedeh Sheikhlar, Na and fresh weight and chlorophyll a and b content in Erlan were in maximum value. Anti-oxidan activity was the same in all habitats. Wounworts collected from Erlanhad more Na content comparing other habitats which can be related to higher germacren D in plant tissues collected from this region.

Keywords
- antioxidant activity
- ecotype
- medicinal plants
- *Stachys lavandofolia*

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

DOI: 10.22034/AEJ.2018.545781