Eco–phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University
Gorgan Branch
Iranian Society
of Medical Plants

Investigation of effective compounds and antioxidant properties of five cultivar of *Humulus Lupulus* L. in different regions of Golestan province

Mostafa Hamidi[1], Saeed Navabpoor[1*], Mohsen Fathi Sadabadi[2]

[1] Plant Breeding and Biotechnology Group, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, Email: s.navabpour@gau.ac.ir

[2] Cotton Research Institute, Gorgan, Iran

Article type:
Research article

Article history
Received: 23-01-2023
Revised: 06-03-2023
Accepted: 11-03-2023

Keywords
Content of phenolic
Ecological conditions
Essential oil
Gas chromatograph
Genetic factors

Abstract

To investigate the effect of the environment on phenolic and flavonoid contents and antioxidant and phytochemical properties of essential oils in five cultivars of hop, in four regions of Golestan province (Gorgan, Aliabad, Galikesh, and Azadshahr), an experiment was conducted as randomized complete block design with three replications during 2021-2022. Fruit extracts were prepared by soaking method using acetone solvent and the phenolic and flavonoid contents and the antioxidant properties were determined via Folin-Ciocalteu, aluminum chloride colorimetric, and DPPH method, respectively. Extraction of essential oils from fruit and identification of the compounds in the essential oil were carried out by water distillation method (Clevenger machine) and a gas chromatograph connected to a mass spectrometer (GC/MS), respectively. Overall, 32 compounds were identified, including Beta-acid, Alpha-acid, Co-humulone, total oil, Caryophyllene, Humulene, and Myrcene compounds, as the main components of the essential oil. Cascade cultivar in Gorgan region had the highest rate of phenolic and flavonoid contents as well as antioxidant activity, which can be related to the climatic conditions of the region and the higher potential of this cultivar. Also, all cultivars in Gorgan region had the highest content of secondary metabolites than others. Among the cultivated cultivars, Cascade and then Centennial had the highest content of secondary metabolites in all cultivation areas. Therefore, in order to achieve higher secondary metabolites, cultivation of Cascade in Gorgan region is recommended. On the other hand, Nugget in Galicash had the lowest content of secondary metabolites, which can be related to its lower potential in production of secondary metabolites and the climatic conditions of Galicash region which is located at a higher altitude and has a negative effect on the production of secondary metabolites. Therefore, considering the effect of different environmental conditions on the medicinal compounds of the species, it is recommended to evaluate the effect of the other factors, including the soil of the habitats.

Cite this article as: Hamidi, M., Navabpoor, S., Fathi Sadabadi, M. (2023). Investigation of effective compounds and antioxidant properties of five cultivar of hops (*Humulus Lupulus* L.) in different regions of Golestan province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 11(2): 1-20.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi:10.30495/ejmp.2023.1978424.1717 Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.2.1.4

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

بررسی فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی پنج رقم از گیاه دارویی *Humulus Lupulus* L. در مناطق مختلف استان گلستان

مصطفی حمیدی[۱]، سعید نواب‌پور[۱*]، محسن فتحی سعدآبادی[۲]

[۱] گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان، ایران، رایانامه: s.navabpour@gau.ac.ir
[۲] مؤسسه تحقیقات پنبه، گرگان، ایران

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدان
اسانس
ترکیبات فنولی
رقم های رازک
گلستان

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محیط بر میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، خواص آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات فیتوشیمیایی اسانس پنج رقم گیاه رازک (*Humulus Lupulus* L.) در چهار منطقه استان گلستان (گرگان، علی‌آباد، گالیکش و آزادشهر)، آزمایشی به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام شد. تهیه عصاره میوه به روش خیساندن با استفاده از حلال استون انجام و محتوای فنولی و فلاونوئیدی به‌ترتیب با روش‌های معرف فولین- سیوکالتیو و رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش ۲و۲-دی‌فنیل ۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) سنجیده شد. اسانس‌گیری میوه به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) و شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس با کروماتوگراف گازی متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. درمجموع ۳۲ ترکیب شامل ترکیبات بتا-اسید، آلفا-اسید، کو-هومولون، محتوای روغن، کاریوفیلن، هومولون و مایرسن عمده‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها بودند. رقم کسکید[۱] در منطقه گرگان از نظر محتوای فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌ترین میزان را داشت که می‌تواند به شرایط آب و هوایی منطقه و پتانسیل بالاتر این رقم در تولید ترکیبات ثانویه مرتبط باشد. همچنین تمامی رقم‌ها در منطقه گرگان، دارای محتوی ترکیبات ثانویه بالاتری نسبت به سایر مناطق بودند. از بین رقم‌های کشت شده نیز در ابتدا رقم کسکید و سپس سنتنیال[۲] در تمامی مناطق کشت، بیشترین مقدار را داشتند. بنابراین برای دستیابی به ترکیبات ثانویه بیش‌تر، می‌توان کشت رقم کسکید را در منطقه گرگان توصیه نمود. از طرفی رقم ناگت[۳] در گالیکش کم‌ترین میزان ترکیبات ثانویه را داشت که می‌تواند به پتانسیل پایین‌تر این رقم در تولید ترکیبات ثانویه و شرایط آب و هوایی منطقه گالیکش مرتبط باشد که دارای ارتفاع بیش‌تر بوده و روی تولید محتوی ترکیبات ثانویه اثر منفی دارد. بنابراین، با توجه به تأثیر شرایط مختلف اکولوژیکی بر ترکیبات دارویی گونه‌های مختلف رازک، توصیه می‌شود تأثیر سایر عوامل مانند نوع خاک رویشگاه نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

استناد: حمیدی، مصطفی؛ نواب‌پور، سعید؛ فتحی سعدآباد، محسن. (۱۴۰۲). بررسی فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی پنج رقم از گیاه دارویی *Humulus Lupulus* L. در مناطق مختلف استان گلستان. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۱ (۲)، ۲۰-۱.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi:10.30495/ejmp.2023.1978424.1717
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.2.1.4

[1] Cascade
[2] Centennial
[3] Nugget

مقدمه

امروزه با توجه به عدم موفقیت داروهای شیمیایی در درمان قطعی بسیاری از بیماری‌ها، کاربرد گیاهان دارویی در بسیاری از جوامع و فرهنگ‌ها به‌منظور پیشگیری و درمان بیماری، جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده است. به‌طوری که حدود ۸۰ درصد از جمعیت کشورهای در حال توسعه از فرآورده‌های گیاهان دارویی استفاده می‌کنند (Abdollahi et al., 2019). رازک از راسته گل‌سرخ‌سانان (Rosales) و تیره شاهدانگان (Cannabaceae) و سرده‌ی رازک‌ها (*Humulus*)، گیاهی دوپایه، علفی بالارونده، یکساله یا با وجود ساقه‌های زیرزمینی چندساله می‌باشد. ارتفاع ساقه‌ها ۳ تا ٦ متر و در برخی ارقام تا ۱۲ متر می‌باشد (Mozafarian, 2018). برگ‌ها متقابل، دمبرگ‌دار، به‌عرض ٦ تا ۱۲ سانتی‌متر، دندانه اره‌ای درشت، تقریباً دایره‌ای، یا تخم مرغی، عمیقا ۳ تا ۷ لوبه می‌باشند. پانیکول گل‌های نر به قطر ۷۵ تا ۱۰۰ میلیمتر و قطر گل‌ها ۵ میلی‌متر می‌باشد. میوه گیاه رازک از پهلو رشد کننده و دارای نوک کند هستند (Mozafarian, 2018). صرف نظر از ارقام مختلف، رازک به‌طور کلی گیاهی روز کوتاه بوده که در شرایطی که ساعات روشنایی روز کمتر باشد گل می‌دهد (Krebs, 2019). به‌طورکلی طول روز تابعی از طول جغرافیایی بوده که برای رازک طول جغرافیایی مناسب ۳۵ درجه تا ۵۵ درجه شمالی یا جنوبی از خط استوا است (Dodds, 2017). پراکنش جغرافیایی رازک در ایران در گرگان، مازندران، گیلان و آذربایجان شرقی گزارش شده است (Mozafarian,2018). انواع ترکیبات موجود در تقریباً تمام قسمت‌های گیاه رازک برای درمان یا پیشگیری چندین بیماری و اختلالات متابولیک، از بی‌خوابی تا علائم یائسگی و همچنین چاقی و حتی سرطان استفاده می‌شوند (Rossini et al., 2021). با توجه به این موضوع تحقیق بر روی گیاهان دارویی از جمله رازک با توجه به گرایش جهانی به طب طبیعی، از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است و دیدگاه‌های جالب جدیدی را برای این گسترش تحقیقات روی این گیاهان را باعث می‌شود (Rossini et al., 2021). میوه رازک، دارای ترکیبات شیمیایی مفید و متفاوتی هستند که مهم‌ترین آن‌ها آنتی اکسیدان‌ها و عمدتاً پلی فنول‌ها هستند. دراقع، بیشتر فواید سلامتی از سه جزء اصلی رازک شامل پلی فنول‌ها، اسیدهای تلخ و اسانس ناشی می‌شود (Abiko et al., 2022; Zugravu et al., 2022). تقریباً تمام قسمت‌های گیاه سرشار از این ترکیبات فعال زیستی مانند اسیدهای تلخ و فلاونوئیدها هستند که دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد باکتری، ضد آلرژی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی، محافظت از قلب، ضد التهاب، ضد سرطان و ضد ویروس قوی هستند (Rossini et al., 2021; Astray et al., 2020). فنول‌ها یکی از بزرگ‌ترین گروه‌های ترکیبات ثانویه در گیاهان هستند که معمولاً در پاسخ به تنش محیطی ایجاد می‌شوند. این ترکیب‌ها از هسته‌های آروماتیک و یک یا چند گروه OH ساخته شده‌اند و به فنل‌های ساده، فنولیک اسیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، تانن‌های متراکم، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها تقسیم می‌شوند (Saboura et al., 2014) و به‌دلیل وجود گروه هیدروکسیل در ساختار و خصوصیات ردوکس‌شان از طریق دادن هیدروژن یا الکترون به گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن سبب تولید ترکیب‌های پایدار فنوکسیل و خنثی سازی گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن هستند (Zargoosh et al., 2019). فلاونوئیدها گروه دیگری از ترکیبات پلی فنلی هستند که تقریباً در همه گیاهان وجود دارند. این ترکیبات پلی‌فنلی با وزن مولکولی کم،

دارای اسکلت دی‌فنیل‌پروپان با تفاوت‌هایی در حلقه پیران مرکزی، گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانوی هستند که تقریبا نیمی از حدود ۸۰۰۰ فنول‌های شناسایی شده را تشکیل می‌دهد (Khalili and Ebrahimzadeh, 2015) و معمولاً در ٦ زیر گروه اصلی فلاونول‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاونون‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانیدین‌ها طبقه‌بندی می‌شوند (Mazaraie et al., 2020). تعداد و موقعیت گروه‌های OH–فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Saboura et al., 2014) و به دلیل دارا بودن قابلیت دادن هیدروژن یا الکترون به گونه‌های فعال (اکسیژن و نیتروژن) و رادیکال‌های آزاد دارای نقش احیاکننده، شلاته کننده فلزات و خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی هستند (Safi et al., 2016). رادیکال‌های آزاد (ROS) و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن، مولکول‌هایی بدون پوسته‌ی الکترونی کامل هستند که به طور طبیعی در بدن موجودات زنده تولید می‌گردند اما زمانی که تولید این رادیکال‌ها بیش از حد باشد سوبستراها از جمله غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در معرض اکسیداسیون قرار می‌گیرند. در این حالت تخریب DNA و پروتئین اتفاق می‌افتد (Mazaraie et al., 2020) و در نتیجه برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن، ترکیبات آنتی‌اکسیدانت نیاز است (Fazeli-Nasab et al., 2017). تمامی متابولیت‌های ثانویه و مواد مؤثره اولیه اگرچه در درجه اول با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آن‌ها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. عوامل محیطیِ محل رویش از طریق تأثیر بر مقدار کلی مواد مؤثره، عناصر تشکیل‌دهنده آن‌ها و رشد گیاهان دارویی، سبب تغییراتی در مقدار و کیفیت مواد موثره نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و اسانس‌ها می‌گردد (Mohammadnejad Ganji et al., 2017). مطالعات زیادی در ایران و جهان در مورد تأثیر عوامل اقلیمی بر کمیت و کیفیت ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه رازک انجام شده است. به عنوان مثال Marceddu و همکاران (۲۰۲۰) تفاوت معنی‌دار در عملکرد میوه‌های رازک را در ارتباط با محیط‌های مختلف گزارش کردند. همچنین تفاوت آماری معنی‌داری در محتوای آلفا اسیدهای ارقام مختلف رازک تحت شرایط آب و هوایی متفاوت گزارش شد که با توجه به منشأ زادآوری ارقام متفاوت بود و ارقام با منشا آب و هوای گرم در مناطق نیمه خشک ژرم پلاسم‌های آمریکایی محتوی آلفا اسید بیشتر داشتند و ارقام پرورشی غالب در شرایط آب وهوایی اروپا به دماهای ملایم عادت کرده‌اند (Donner et al., 2020). با توجه به اینکه گیاه دارویی رازک در نواحی مختلف ایران و نیز در استان‌های گیلان، مازندران و گلستان به صورت خودرو رویش دارند، توسط برخی کشاورزان در برخی نقاط نیز به صورت پراکنده کشت می‌شود. اما اطلاعات چندانی در خصوص بهترین رقم برای کشت در منطقه بر اساس عوامل اقلیمی و اکوتیپ‌های آنها در دسترس نیست (Hosseini et al., 2018). پژوهش در زمینه تنوع مواد مؤثره و ترکیبات رقم‌های مختلف رازک نه تنها به دلیل شکافی که از لحاظ اطلاعات علمی در این زمینه وجود دارد، بلکه به دلیل فواید و خاصیت‌های مواد موجود در گیاه که می‌تواند در زمینه‌های مختلف دارویی، میکروبی و در تولید سایر محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد گام مهمی برای انتخاب نوع رقم مناسب با توجه به شرایط اقلیمی هر منطقه می‌باشد (Vazquez-Araujo et al., 2013). توجه به اهمیت دارویی گیاه رازک و نیز با توجه به رشد این گیاه به‌صورت خودرو در

استان گلستان، به‌نظر می‌رسد امکان زراعت این گیاه در استان، با درصد ماده موثره قابل قبول فراهم باشد. تحقیق در زمینه مواد موثره و ترکیبات اکوتیپ‌های مختلف رازک نه تنها به‌دلیل شکافی که از لحاظ اطلاعات علمی در این زمینه وجود دارد، بلکه به دلیل فواید و خاصیت‌های مواد موجود در گیاه که می‌تواند در زمینه‌های مختلف دارویی، میکروبی و در تولید سایر محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، گام مهمی برای انتخاب نوع رقم مناسب با توجه به شرایط اقلیمی هر منطقه می‌باشد (Vazquez-Araujo et al., 2013). در این پژوهش نیز سعی شده از طریق بررسی صفات فیتوشیمیایی اکوتیپ‌های گیاه رازک، بهترین اکوتیپ برای کشت در استان گلستان مورد بررسی و معرفی شود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور تهیه نمونه‌های گیاهی مورد نیاز در این پژوهش، پنج رقم گیاه دارویی رازک (کسکید[1]، سنتنیال[2]، چینوک[3]، کریستال[4] و ناگت[5]) از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تهیه و در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مناطق مختلف استان گلستان (گرگان، علی‌آباد، آزادشهر و گالیکش) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کشت و بعد از رسیدگی محصول، میوه آن‌ها به منظور بررسی ترکیبات مختلف برداشت گردید. جدول (۱)، محل آزادسازی ارقام و سال تولید را به همراه مرجع علمی معتبر شناسائی کننده ارقام را نشان می‌دهد.

تهیه عصاره رازک: به منظور تهیه عصاره و حفظ ماده مؤثره رازک، میوه گیاه به مدت ۴۸ ساعت در محیط تاریک و خنک، خشک و سپس مقدار ۱۰ گرم از میوه با آسیاب پودر و با استفاده از حلال استون و سیستم سوکسله به‌مدت ۳ ساعت عصاره‌گیری انجام شد و عصاره بدست آمده بعد از تغلیظ در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Salanta et al., 2015; Aberl and Coelhan, 2012).

تعیین محتوی کل ترکیبات فنولی: ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۲۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو به مدت ۵ دقیقه با یکدیگر توسط همزن مخلوط شدند. سپس ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد با غلظت ۷۵ گرم در لیتر به محلول اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل بلانک (متانول) اندازه گیری گردید. مقادیر فنول تام در نمونه عصاره‌های گیاهی بر حسب منحنی استاندارد گالیک اسید (میلی‌گرم در گرم عصاره) شکل (۱) بیان شد (Ordone et al., 2008).

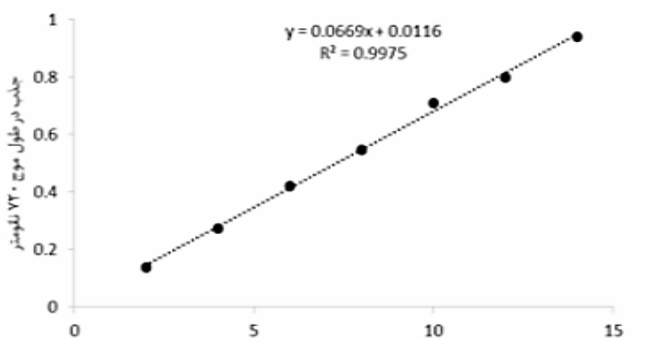
1. Cascade
2. Centennial
3. Chinook
4. Crystal
5. Nugget

جدول ۱: محل آزادسازی ارقام و سال تولید (Woodske, 2012; Acosta-Rangel et al., 2021)

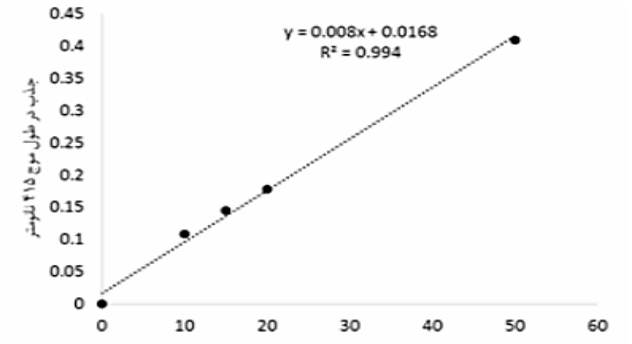
ردیف	نام رقم	محل آزادسازی	سال آزادسازی
۱	کسکید	USA	۱۹۷۲
۲	سنتنیال	USA	۱۹۹۰
۳	چینوک	USA	۱۹۸۵
٤	کریستال	USA	۱۹۹۳
٥	ناگت	USA	۱۹۸۲

جدول ۲: مشخصات مناطق مورد مطالعه

ردیف	نام شهرستان‌ها	ارتفاع	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۱	گرگان	۹۰	۳٦°۸۷′	٥٤°٥۹′
۲	علی‌آباد	۱۳٤	۳٦°۹۰′	٥٤°۸٦′
۳	آزادشهر	۲۰٤	۳۷°۰٥′	٥٥°۲۰′
٤	گالیکش	۳۷۹	۳۷°۳۸′	٥٥°۷۰′



شکل ۱: منحنی استاندارد گالیک اسید جهت اندازه گیری مقادیر فنول



شکل ۲: منحنی استاندارد کوئرستین جهت اندازه گیری مقادیر فلاونوئید

تعیین محتوای فلاونوئیدی عصاره: میزان محتوای فلاونوئید نمونه عصاره‌های گیاهی با روش رنگ سنجی ارزیابی شد (Chang et al., 2002). طبق این روش، در لوله آزمایش ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در

دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصل در طول موج ٤١٥ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد و میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد (شکل ۲) بر اساس میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره بدست آمد.

تعیین فعالیت آنتی رادیکالی به روش DPPH: (Burits and Bucar, 2000).

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی مقدار ٤٠ میلی‌گرم عصاره وزن و در ۲۵ سی سی متانول حل گردید. بدین ترتیب مقدار ۱ سی سی از این محلول را برداشته و با DPPH (با غلظت ۰/۱میلی مول) به حجم ٤ سی سی رسانده و بعد از مدت زمان ٦٠ دقیقه در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٥١٧ نانومتر قرائت شدند.

$$Sc\ (\%) = [(Ao-As)/A0] \times 100$$

Ao= جذب کنترل (حاوی تمامی واکنش‌گرها به غیر از نمونه آزمایش)

As= جذب نمونه آزمایش.

Sc% =بیانگر مقداری از عصاره که قادر به جذب درصدی از رادیکال آزاد می‌باشد.

استخراج اسانس رازک: اسانس رازک از میوه این گیاه و با استفاده از روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) استحصال شد. بدین منظور ابتدا ٥٠ گرم از نمونه آسیاب شده در مقدار مورد نیاز حلال آبی پخش و به مدت ۳ ساعت توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری انجام شد. اسانس تهیه شده بعد از خشک شدن به منظور تعیین کمی و کیفی ترکیبات بوسیله آنالیز GC-MS مورد و ارزیابی قرار گرفتند (Rostaei et al., 2018). برای شناسایی ترکیبات از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف سنج جرمی (MS/GC) مدل شیمادزو مجهز به ستون مویینه (طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵میکرومتر) با دمایی ٦٠ تا ۲۷۵ و همراه با افزایش تدریجی ٥ درجه در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲٦٥ درجه به‌مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. گاز هلیوم و دمای تزریق ۲۳۰ درجه سانتیگراد بود. بعد از تزریق اسانس به دستگاه و مشاهده طیف کروماتوگرام که حضور تعداد زیادی از ترکیبات را نشان می‌داد، با استفاده از زمان بازداری(Rt)، طیف جرمی، مقایسه با ترکیبات موجود در کتابخانه اطلاعات کامپیوتری، شناسایی ترکیبات اسانس و تعیین درصد کمی در آن‌ها انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه واریانس داده‌های طرح در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح پنج درصد استفاده شد.

نتایج

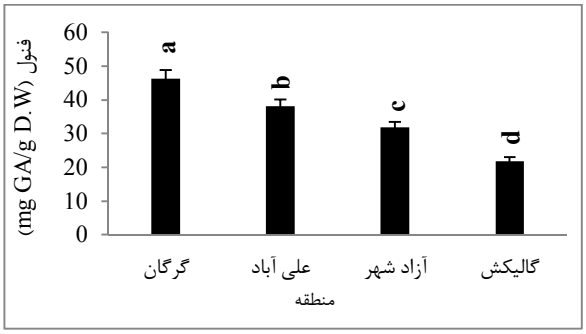
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم، مناطق مختلف و همچنین اثر متقابل رقم و مناطق برای مقدار کل ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و مهار رادیکال‌های آزاد، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳).

مقدار ترکیبات فنلی: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار ترکیبات فنلی به‌ترتیب مربوط به شهرستان گرگان و شهرستان گالیکش با میانگین ٤٦/٤٧ و ۲۱/۸٦ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم نمونه خشک بود (شکل B-۳). نتایج مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنلی گیاهان حاصل از مناطق مختلف (شکل A-۳) نشان می‌دهد که رقم کشت شده تأثیر معناداری بر مقدار ترکیبات فنلی دارد. به‌طوری که در بین رقم‌های مورد بررسی، بیشترین (mg GA/g D.W ۳۹/۱۹) و کم‌ترین (۳۱/۰۲ mg GA/g D.W) مقدار ترکیبات فنلی به‌ترتیب مربوط به رقم Cascade و Nugget بود.

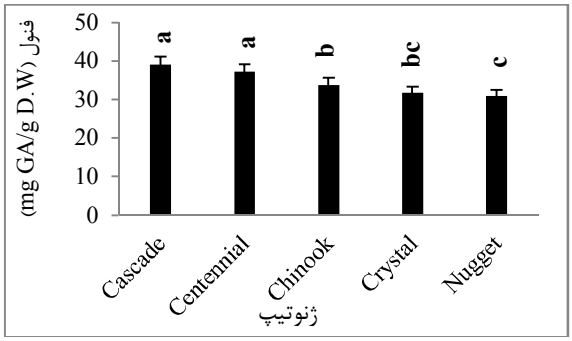
جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) خصوصیات فیتوشیمیایی میوه رقم‌های گیاه رازک در پنج منطقه رشدی مختلف استان گلستان

منابع تغییرات	درجه آزادی	فنول	فلاونوئید	فعالیت آنتی اکسیدانی
بلوک داخل منطقه	۸	٤۲/۳٦**	٥/۱۸^{ns}	۰/۱۳۳^{ns}
رقم	٤	۱٤۸/٥٤۷**	٤٦/٥۳۰**	۳/۹۰۷**
منطقه	۳	۱٦۱۸/٤۰٦**	٤۳٦/٤٦۸**	٥۸/٦**
رقم × منطقه	۱۲	۱۷/٦٦٤**	۱۱/٦۹۱**	۰/٦۰۸**
اشتباه	۳۲	۰/٥۹۲	٤/۱٦	۰/۰۸۱
ضریب تغییرات		۲/۲۲	۱۰/۷۲	٤/۸٤

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد.

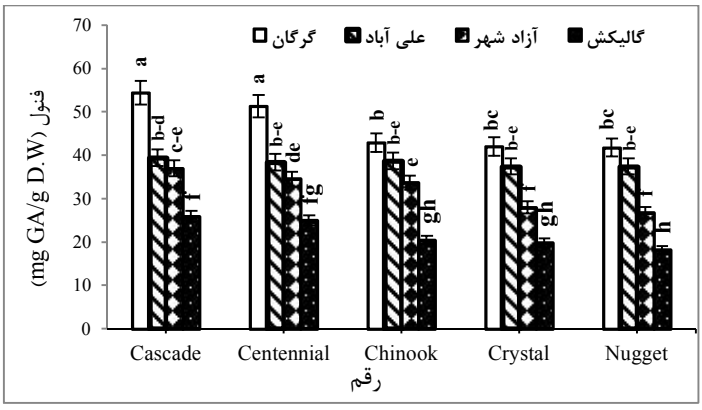


شکل A-۳: مقایسه میزان تغییرات ترکیبات فنولی رازک در مناطق مورد بررسی



شکل B-۳: مقایسه میزان تغییرات ترکیبات فنولی رازک در ارقام مورد بررسی

در ارزیابی اثر متقابل رقم و مناطق اکولوژیکی بر مقدار ترکیبات فنول نیز مشخص شد که رقم کسکید منطقه گرگان (میانگین ٥٤/٤٤ میلی‌گرم اسید گالیک به گرم نمونه خشک) و رقم ناگت منطقه گالیکش (میانگین ۱۸/۲۱ میلی‌گرم اسیدگالیک به گرم نمونه خشک) به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار ترکیبات فنولی را به خود اختصاص دادند (شکل ٤).

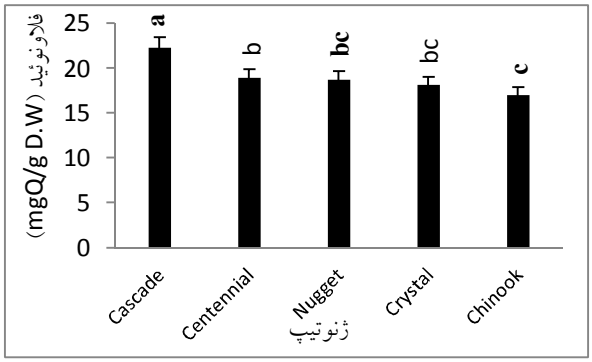


شکل ٤: اثر متقابل رقم و منطقه بر میزان تغییرات ترکیبات فنولی گیاه رازک

ترکیبات فلاونوئیدی: اثر مناطق انتخابی در مقدار ترکیب‌های فلاونوئیدی در سطح احتمال یک درصد مؤثر و معنی‌دار بود، به‌طوری‌که شهرستان گرگان با میانگین ۲٦/٦۷ (میلی‌گرم معادل کوئرستین

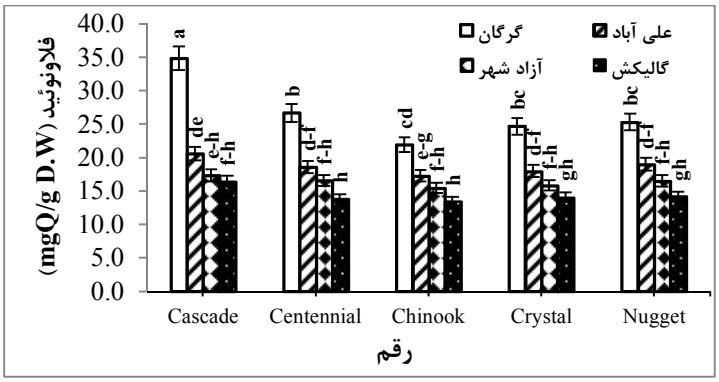
به گرم نمونه خشک) بیش‌ترین مقدار ترکیب‌های فلاونوئیدی را نسبت به سایر شهرستان‌ها داشت و کم‌ترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با میانگین ۱٤/۳۹ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک هم مربوط به شهرستان گالیکش بوده است (شکل A-۵). نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان فلاونوئید در رقم‌های مورد مطالعه در دامنه ۱۷/۰۳ تا ۲۲/۲۹ (میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک) متغییر بود به‌طوری‌که در این میان رقم‌های چینوک و کسکید به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین میزان را دارا بودند (شکل B-۵).

شکل A-۵: مقایسه میزان تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی رازک در مناطق مورد بررسی



شکل B-۵: مقایسه میزان تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی رازک در ارقام مورد بررسی

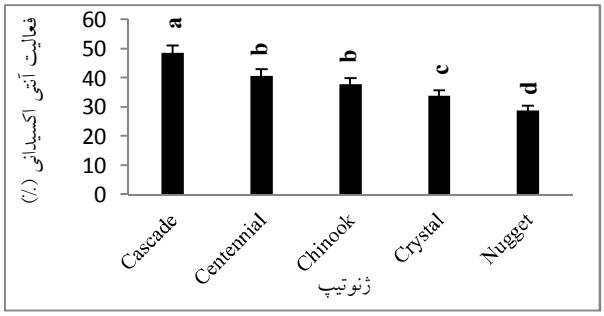
بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل منطقه و رقم (شکل ٦) رقم کسکید منطقه گرگان با میانگین ۳٤/۸ (میلی‌گرم کوئرستین به گرم نمونه خشک) و رقم چینوک شهرستان گالیکش با میانگین ۱۳/٤٦ (میلی‌گرم کوئرستین به گرم نمونه خشک) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی را به خود اختصاص دادند.



شکل ٦: اثر متقابل رقم و منطقه بر میزان تغییرات ترکیبات فنولی گیاه رازک

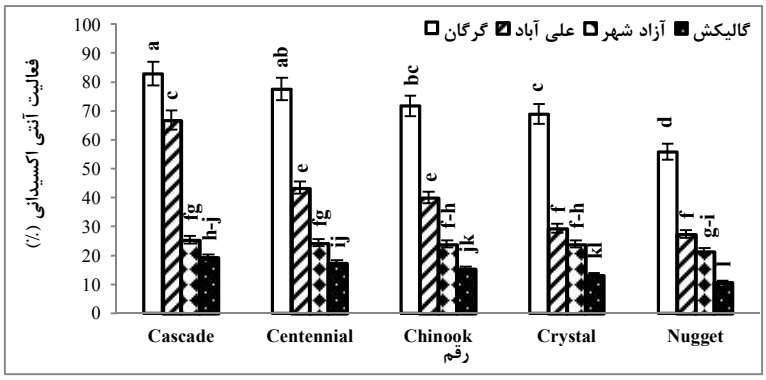
میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بیشترین و کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌ترتیب شهرستان گرگان و شهرستان گالیکش با میانگین ٤۸/٦۳ و ۲۸/۸۷ درصد به خود اختصاص دادند (شکل A-۷). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان حاصل از مناطق مختلف در شکل B-۷ نشان داد که نوع رقم مورد استفاده تأثیر معناداری بر میزان به دام اندام رادیکال‌های آزاد دارد به طوری که در بین رقم‌های مورد بررسی، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد به ترتیب مربوط به رقم‌های کسکید و ناگت بود.

شکل A-۷: مقایسه میزان تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی رازک در مناطق مورد بررسی



شکل B-۷: مقایسه میزان تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی رازک در ارقام مورد بررسی

در ارزیابی اثر متقابل رقم و مناطق اکولوژیکی در مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز مشخص شد که رقم کسکید شهرستان گرگان با (میانگین ۸۲/۹٤٪) و رقم ناگت شهرستان گالیکش (میانگین ۱۰/۸۱٪) به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص دادند (شکل ۸).



شکل ۸: اثر متقابل رقم و منطقه بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی رازک

ترکیبات اسانس: با بررسی طیف‌های GC/MS، اندیس‌های بازداری و طیف‌های جرمی اجسام ردیابی شده و مقایسه آن‌ها با مراجع و ترکیبات استاندارد ۷ ترکیب اصلی و عمده در اسانس رقم‌های مورد بررسی شناسایی شد؛ از این رو بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشخص شد که اثر رقم، مناطق مختلف و همچنین اثر متقابل رقم و مناطق مورد مطالعه برای مقدار کل ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ٤).

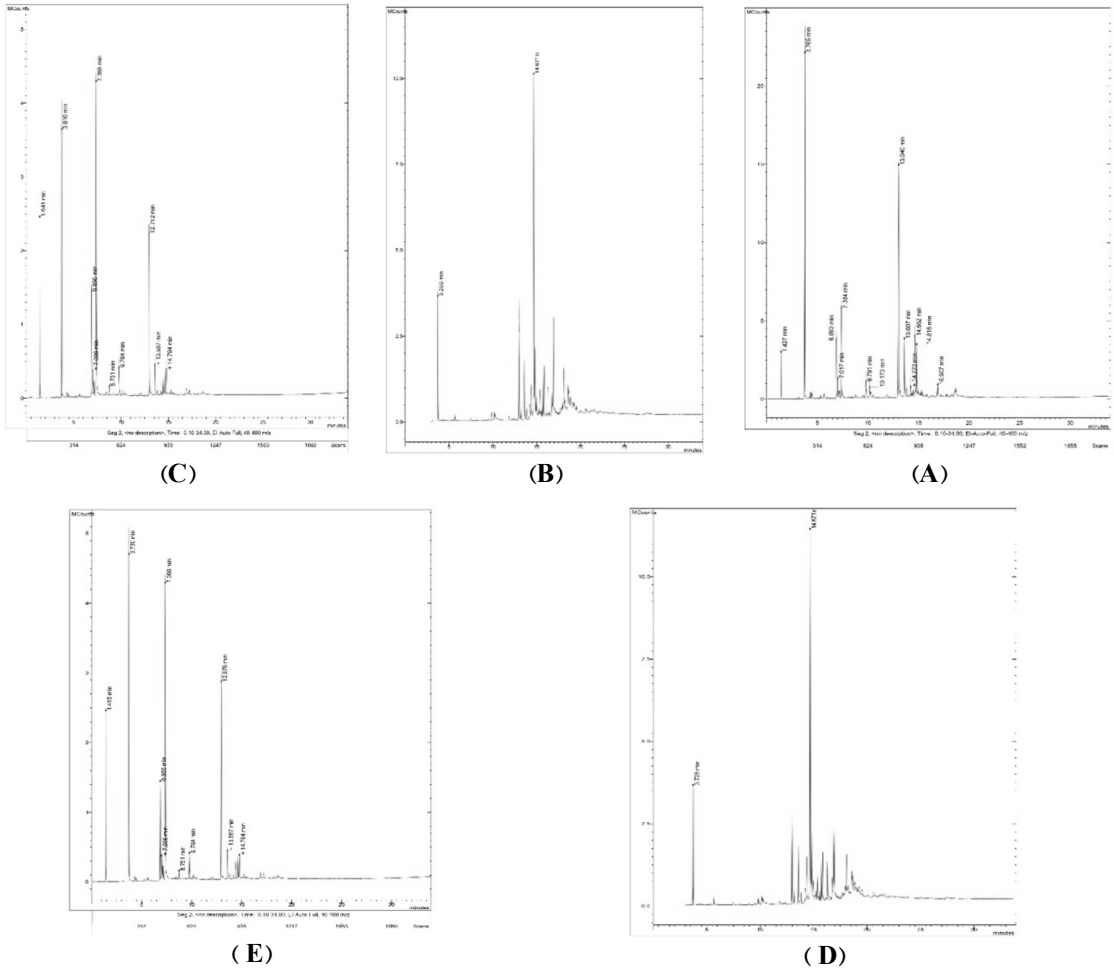
بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ٦) مشخص شد که ۷ ترکیب اصلی شناسایی شده در اسانس ۹۵، ۹۵، ۹۱، ۹۱ و ۹۱ درصد به‌ترتیب در رقم‌های کسکید[1]، چینوک[2]، سنتنیال[3]، کریستال[4] و ناگت[5] از مجموع اجزای اسانس (شامل بتا- اسید[6]، آلفا- اسید[7]، کو- همولون[8]، درصد روغن کل[9]، کاریوفیلن[10]، هومولن[11] و میرسین[12]) را تشکیل می‌دادند و با مقایسه درصد هفت ترکیب اصلی مشخص شد که در بین رقم‌های مورد بررسی، ماده

1. Cascade
2. Chinook
3. Centennial
4. Crystal
5. Nugget
6. Beta- acid
7. Alfaa- acid
8. Co-humulone
9. Total oil
10. Caryophyllene
11. Humulene
12. Myrcene

میرسین بیشترین جز اسانس را تشکیل می‌داد در حالی کم‌ترین جز اسانس در بین هفت ترکیب اصلی، در رقم کسکید مربوط به ترکیب کاریوفیلن، در رقم سنتنیال و چینوک مربوط به ترکیب بتا- اسید و در رقم‌های کریستال و ناگت مربوط به ماده کو- هومولون بود. در حالی که با مقایسه مناطق مختلف مشخص شد که این هفت ترکیب در مناطق گرگان، علی‌آباد ۹۹، آزادشهر و گالیکش به‌ترتیب ۹۱ و ۸۰ درصد اصلی‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس بودند و با مقایسه میزان درصد هفت ترکیب اصلی در بین هر چهار مناطق مشخص گردید که بیش‌ترین درصد اسانس مربوط مربوط به ترکیب میرسین بود در حالی کم‌ترین درصد ترکیبات در منطقه گالیکش مربوط به ترکیب درصد روغن کل و سه در منطقه علی‌آباد، آزادشهر و گرگان مربوط به‌ترکیب بتا- اسید بود. براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و منطقه جدول ٦ مشخص شد که بیشترین درصد بتا- اسید و آلفا- اسید مربوط به رقم ناگت و بیشترین درصد هومولن و کاریوفیلن مربوط به رقم چینوک کشت شده در منطقه گرگان بود در حالی که بیشرین درصد درصد روغن کل مربوط به رقم ناگت کشت در منطقه آزادشهر می‌باشد همچنین کو- همولون و میرسین به ترتیب مربوط به رقم‌های کسکید و کریستال منطقه گرگان بود.

جدول ٤: مقایسه کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس میوه رقم‌های مختلف گیاه رازک

ردیف	نام ترکیبات	RT	کسکید	سنتنیال	چینوک	کریستال	ناگت
۱	β-pinene	3.72	0.9	0.56	0.51	0.42	0.78
۲	myrcene	4.07	3.34	2.41	1.96	2.36	7.71
۳	beta.-myrcene	4.48	4.51	2	2	3.98	6.56
٤	3-methylbutyl ester of isobutyric acid	4.66	0.24	2.16	0.9	0.21	1
٥	(+-)alpha-limonene	5.11	0.4	1.28	1	0.12	1
٦	colupulone	6.36	10.76	8.76	7.88	16.11	6.77
۷	(e)-.beta.-ocimene	5.56	0.15	1.67	1.87	0.76	1.21
۸	lupulone	5.83	9.15	12.48	8.31	10.45	7.41
۹	adlupulone	6.47	25.67	21.1	13.23	24.78	17.14
۱۰	methyl 6-methyl meptanoate	6.48	0.21	۱,۸۱	۰,۹	۰,۳۴	۱,۱۱
۱۱	beta-nonanone	6.64	0	1.98	0.29	0.23	1.32
۱۲	linalool	6.77	0.19	2.21	2.26	1.11	2.17
۱۳	undecanone	11.65	0.21	2	0.87	0.24	0.9
١٤	4-decenoic acid methyl ester (z)	12	0	1.78	1.21	0.16	1.12
١٥	2,6-farnesol (cis trans) 13	13.48	0	2.23	1.65	0.11	2
١٦	Alpha-copaene	13.59	0.09	2.21	0.45	1.76	2.16
۱۷	geranyl acetate	13.9	0.2	0.17	0.9	0.33	0.11
۱۸	β-cariophyllene	14.71	11.1	5.41	7.78	1.11	4.23
۱۹	alpha-trans-bergamotene	15.1	0.23	0.9	0.45	0.09	0.11
۲۰	alpha-caryophyllene	15.55	9.11	4.39	5.82	1.6	3.4
۲۱	ß-farnesene	15.67	0.71	1.15	0.66	0.47	0.54
۲۲	geranyl propionate	16.11	1	1.87	1.35	0.18	0.56
۲۳	germacrene a 1	16.26	0.44	1.93	1.31	0.39	0.46
٢٤	co-humulene	26.12	5.66	7.6	10.8	7.3	10.66
٢٥	humulene	33.34	7.1	1.67	13.54	5.92	8.56
٢٦	adhumulone	33.84	3.64	3.27	3.1	10.47	2.01
٢٧	total		95	95	91	91	91



شکل ۹: کروماتوگرام آنالیز مواد موثره اسانس میوه ارقام مختلف گیاه دارویی رازک.

A: رقم کسکید؛ B: رقم سنتنیال؛ C: رقم چینوک؛ D: رقم کریستال؛ E: رقم ناگت

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس ترکیبات اسانس برخی ارقام گیاه رازک در پنج منطقه رشدی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	بتا -اسید درصد	آلفا -اسید درصد	کو-هومولون درصد	روغن‌کل درصد	کاریوفیلن درصد	هومولون درصد	میریسن درصد
بلوک داخل منطقه	۸	۰/۰۲۸**	۰/۱۳۱^{ns}	۰/۰۲۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۱٤**	۰/۰٥٤**	۰/۰٤۱**
رقم	٤	۲/۸۷**	٤/۳۸**	۱۳/۸۱**	۰/۱۹**	۲/۰٤**	٤/۱۷**	٤/۳۲**
منطقه	۳	۰/۹٥۲**	۰/٥۲**	۱/۲٤**	۹/۰۱**	۰/٤۷**	۱/٦۸**	۱/٥۷**
رقم × منطقه	۱۲	۰/۱٥**	۰/٤۲**	۰/۰٥۸**	۰/٤٤**	۰/۰۱**	۰/۰٦**	۰/۱۳**
اشتباه	۳۲	۰/۰۱٥	۰/۰٥۱	۰/۰۰٦	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰٤	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات		٥/۳۰	۷/٥۷	۲/۷۷	٤/٥٤	۱/۳٥	۱/٥۷	۱/٤۳

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری، اختلاف معنی‌داری در سطح ٥ و ۱ درصد.

جدول ٦: نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم × منطقه بر میزان ترکیبات اصلی اسانس گیاه رازک

ارقام	منطقه	میریسن درصد	هومولون درصد	کاریوفیلن درصد	روغن‌کل درصد	کو-هومولن درصد	آلفا -اسید درصد	بتا -اسید درصد
Cascade	گرگان	۷/۳۲vcd	۷/۰۸e	۱۹/۲a	۱/٤۳ n	٥/٦٥ gh	۱٦/۳٥e	b٤٥/٥۸
	علی‌آباد	٦/٥٤de	٥/٥۸٥e-g	۱۸a	۹/۲٦ g	٥/۱۸ i	۱٥/۳٦e	٤٤/۳٥c
	آزادشهر	٥/٦۲۳ef	٥/٥٤e-g	۱٦b	۸/۹۹ h	٤/٦۱ j	۱۲/٥٤f	۳۹/٥۹de
	گالیکش	٤/٤۱٤g-i	٤/٥۲fg	۱۳/٥c	۸/۸٥ i	٤/۳۲ j	۹/٤۷g	۳٦/٥۱ g
Centennial	گرگان	٤/٤۱۷g-i	۱/٦۷٥cd	۹/۷۱de	۲/٤۱ l	۷/٥۹ e	۱٦/۳٦e	٤۲/۳٤c
	علی‌آباد	٤/۲٥۳g-i	۱۰/۰۳d	۸/۹٦e	۱۰/۲٤ c	٦/٥۲ f	۱٥/٥۲e	٤۱/٤۷ d
	آزادشهر	۳/۷٥h-j	۹/٦۳d	۸/۷۹e	۹/۸٤ e	٥/۸۳ g	۱۲/٥٦f	۳۹/۷٦ de
	گالیکش	۳/٦۱vij	۱۱/٦۲b-d	۸/٤٦ef	۹/٦۱ f	٥/۳۲ hi	۱۰/٦۲g	۳٦/۲٦f
Chinook	گرگان	۳/۹٦g-j	۱۳/٥۳a-c	۱۳/٥۹c	۲/۲۳ h	۱۰/۷۸ a	۲۷/٤٤ a	۲۹/٤۲gh
	علی‌آباد	۳/۸۳vh-j	۱۲/۷a-d	۱۲/۲۱c	۹/۸۳ e	۱۰/٤۷ ab	۲٦/٤٥a	۲۸/۲٥hi
	آزادشهر	۳/۳۷۳j	۱۲/۷۳a-d	۱۰/٥٥d	۹/۳۲ g	۱۰/۲٦ b	۲۳/۷۷b	۲۷/٥hi
	گالیکش	۳/۱٥۳j	٤/۳g	۹/٥۳de	۸/۸٥ i	۹/٤۳ c	۱۹/٤d	۲٦/٥۲i
Crystal	گرگان	٦/۳۲۳de	٥/۹۲e-g	۲/۷۳j	۲/۲ m	۷/۳۱ e	۲۳/٦۹b	a٥۱/۳٤
	علی‌آباد	٥/٦٤۳ef	٥/۲۱e-g	۲/۱۱k	۱۰/۰۱ d	٦/٥۲ f	۲۳/۰٥b	٤٥/٥٦c
	آزادشهر	٤/۸٥۳fg	٤/۳٥g	۱/٥۳l	۹/۸٥ e	٥/٥۷ gh	۲۲/٥۱bc	۳۸/٦۲e
	گالیکش	٤/٦۱۳gh	۷/٤٥ef	۰/۳۳m	۹/۷٥ e	٤/٤۷ j	۲۱/٤۸c	۳۱/٥۸g
Nugget	گرگان	۱٤/۲٥۳a	۱٥/٥۳a	۷/٦۲f	۲/۷۷٦ j	۱۰/٦۳ ab	۲۱/۲۳c	۳۱/۳۲g
	علی‌آباد	۱۲/٥۹۳b	۱٤/٤۷ab	٦/۲۷g	۲/٦٤٤ k	۹/٦۷ c	۱۸/٥۹d	۳۰/٥٥g
	آزادشهر	۸/۲۹۳c	۱۳/٦a-c	٤/٥۳h	۱۰/٥۳۲ a	۸/٦۲ d	۱٥/٥۳e	۲۷/٥۲hi
	گالیکش	٥/٦۱ef	۱۲/٥۳a-d	۳/٥٤i	۱۰/٤۲۳ b	۷/٥۱ e	۱۳/۳۰f	۲٤/۳۹j

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

جدول ۷: نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای رقم و منطقه بر میزان ترکیبات اصلی گیاه رازک

تیمارها	میریسن درصد	هومولون درصد	کاریوفیلن درصد	روغن‌کل درصد	کوهومولون درصد	آلفا -اسید درصد	بتا- اسید درصد
ارقام							
Cascade	٥/۹۷b	٥/٦۸c	۱٦/٦۷a	۷/۱۳d	٤/۹٤e	۱۳/٤۳d	٤۱/٥۰a
Centennial	٤/۰۰۹c	۱۰/٤۹b	۸/۹۸c	۸/۰۲ a	٦/۳۱c	۱۳/۷٦d	۳۹/۹٦b
Chinook	۳/٥۸c	۱۰/۸۱b	۱۱/٤۷b	۷/٥٦c	۱۰/۲۳a	۲٤/۲٦a	۲۷/۹۲c
Crystal	٥/۳٥b	٥/۷۳c	۱/۷۱e	۷/۹٥b	٥/۹۷d	۲۲/٦۸b	٤۱/۷۸ a
Nugget	۱۰/۱۸a	۱٤/۰۳a	٥/٤۹d	٦/٥۹e	۹/۱۱b	۱۷/۱٦c	۲۸/٤٤ c
منطقه							
گرگان	۷/۲٥a	۱۰/٥٤a	۱۰/٥۷a	۲/۲۱d	۸/۳۹a	۲۱/۰۱a	٤۰/۰۰۸a
علی‌آباد	٦/٥۷ a	۹/٦ab	۹/٥۱b	۸/٤c	۷/٦۷b	۱۹/۷۹a	۳۸/۰٤a
آزادشهر	٥/۱۷b	۹/۱۷ab	۸/۲۸c	۹/۷a	٦/۹۸c	۱۷/۳۸b	۳٤/٦b
گالیکش	٤/۲۸c	۸/۰۸b	۷/۱d	۹/٤۹b	٦/۲۱d	۱٤/۸٥c	۳۱/۰٥c

حروف مشابه در هر ستون نشاندهنده تفاوت غیرمعنیدار بین آنهاست

بحث

بر اساس نظر محققین، تولید ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی اگر چه تحت کنترل عوامل ژنتیکی است؛ عوامل اقلیمی و تنش‌های محیطی نیز تأثیر قابل توجهی بر سنتز این ترکیبات دارند (Arvin and Arianfar et al., 2018; Firouzeh, 2021). به طور معمول معیارهای اصلی در پژوهش‌های مربوط به ارزیابی تأثیر منطقه جغرافیایی کشت بر عملکرد کمی و کیفی محصولات، بارندگی و دما است که هر دو تابعی از عامل ارتفاع می‌باشند (Molaie et al., 2015). مک کینون و همکاران (۲۰۲۰) نیز طی بررسی تأثیر شرایط محیطی بر محتوای آلفا اسیدهای رازک، مهم‌ترین فاکتورهای آب و هوایی که بر محتوای آلفا اسید یا به طور غیرمستقیم کیفیت و ارزش تجاری رازک تأثیر می‌گذارد را در چهار دسته ویژگی‌های دمایی، بارندگی، آفتاب و رطوبت نسبی موجود در هوا مرتبط دانستند و گزارش کردند که تمامی این عوامل متأثر از ارتفاع می‌باشد (MacKinnon et al., 2020). ایشان همچنین گزارش کردند که متغییرهای دما و آفتاب رابطه مثبت و بارندگی و رطوبت نسبی همبستگی منفی با کیفیت و محتوی ترکیبات ثانویه موجود در گیاه رازک داشتند (MacKinnon et al., 2020). براساس نتایج پژوهش حاضر نیز مشخص شد که بین رقم‌ها و رویشگاه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از لحاظ خواص آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. به‌طوری‌که براساس شکل (۸) بیش‌ترین خواص آنتی اکسیدانی مربوط به رقم کسکید در منطقه گرگان بود و رقم سنتنیال، چینوک، کریستال و ناگت به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. با توجه به یافته‌های این پژوهش و استناد به جدول (۲) و همچنین از آنجاییکه ارتفاع، رابطه مستقیمی با میزان بارندگی و رابطه عکس با دما دارد (Molaie et al., 2015)، می‌توان گفت یکی از دلایل برتری گیاهان رشد یافته در منطقه گرگان ممکن است به دلیل گرم و آفتابی بودن منطقه گرگان و دمای بالا و بارندگی کم‌تر این منطقه باشد که با تأثیر بر افزایش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی سبب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان رشد یافته در این منطقه می‌شود که مطابق با یافته‌های Donner و همکاران (۲۰۲۰) می‌باشد که مشاهده کردند ارقام رشد یافته در مناطق نیمه خشک آمریکا محتوی آلفا اسید بالاتری نسبت به ارقام پرورش یافته در شرایط آب وهوایی اروپا با دماهای پایین‌تر داشتند (Donner et al., 2020). Mohammadnejad Ganji و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای، کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر عامل بوم‌شناختی ارتفاع از سطح دریا عنوان کردند و گزارش کردند با وجود اختلاف در میزان بازده و ترکیبات اسانس، عوامل محیطی (ارتفاع از سطح دریا و غیره) نیز مانند عوامل ژنتیکی می‌تواند بر تولید و مقادیر ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان دارویی مؤثر واقع شود. طبق نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر (شکل‌های ۳ تا ۸) نیز مشخص شد که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و اجزای اصلی اسانس رقم‌های مورد بررسی گیاه رازک تحت تاثیر شرایط محیطی مختلف ناشی از تغییر ارتفاع محل رویش قرار گرفته و گویا یک رابطه و همبستگی منفی بین میزان ترکیبات مورد بررسی و ارتفاع از سطح دریا وجود دارد، به طوری که با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان ترکیبات فوق کاهش نشان دادند (جدول ۲)؛ به نحوی که بیشترین میزان این ترکیبات در منطقه شهرستان گرگان که دارای کم‌ترین میزان ارتفاع بود مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های مطالعه Mazaraie و Fahmideh (۲۰۲۰) هم‌راستا است. این محققین بیان کردند، گیاهانی که در ارتفاع پایین‌تر رشد می‌کنند، بالاترین میزان فنول و فلاونوئید را دارند. از این رو براساس پژوهش‌های

Arianfar و همکاران (۲۰۱۸) به نظر می‌رسد که کاهش ارتفاع با افزایش دما، کاهش شدت نور و کاهش شدت وزش باد همراه است. این تغییرات همراه با افزایش درجه حرارت بر مقدار رطوبت هوا و خاک تأثیر گذاشته و منجر به افزایش میزان فنول و فلاونوئیدی در ارتفاعات پایین‌تر می‌شود. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ارتفاع رویشگاه، یکی از عوامل کلیدی بر میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی اکوتیپ‌های گیاه رازک است. بر اساس نظر محققین گرچه تولید این ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاهان دارویی تحت کنترل عوامل ژنتیکی است، تأثیر عوامل محیطی در تولید مواد موثره گیاهان دارویی بسیار پیچیده و مبهم است و ارتفاع رویشگاه می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر سنتز این ترکیبات داشته باشد (Khoshsokhan et al., 2015; Khormali et al., 2020).

Mafakheri و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که طیف وسیعی از تنوع در ژرم پلاسم رازک ایران وجود دارد که برای اکثر اجزای عملکرد در ارقام مختلف رازک متفاوت است. بنابراین با توجه به تنوع ژنتیکی بالا برای صفات مختلف زراعی در بین جمعیت‌های بومی رازک، به ویژه از نظر عملکرد و اجزای عملکرد، پتانسیل اصلاح ارقام برای عملکرد گل، ویژگی‌های رشد و سایر ویژگی‌های کیفی وجود دارد (Mafakheri et al., 2020). در مطالعه‌ای که توسط Lyu و همکارانش در سال ۲۰۲۲ بر روی خواص آنتی اکسیدانی ۹ رقم رازک از جمله رقم کسکید انجام شد نتایج نشان داد که رقم کسکید در بین سایر رقم‌ها از خواص آنتی اکسیدانی بالایی برخودار بود که با یافته‌های این تحقیق هم راستا است. این تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رقم کسکید با سایر رقم‌های فوق الذکر بر اساس نظر Lee و همکاران (۲۰۱۲) ممکن است ناشی از تفاوت در میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در آن باشد به طوری که با افزایش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود (Khalili and Ebrahimzadeh, 2015)؛ از طرفی، نتایج آزمایشات کشت رازک در محیط‌های نیمه خشک نشان دهنده تنوع بالای عملکرد و ویژگی‌های بیومتریک ارقام مختلف رازک بود به طوریکه تفاوت معنی‌داری در عملکرد میوه‌ها با توجه به رقم مشاهده شد (Marceddu et al., 2020). در پژوهش ایشان واریته چینوک بهتر از سایر ژنوتیپ‌ها عمل کرد که دلیل آن‌را به زودرس‌تر بودن واریته چینوک مرتبط دانستند. از این رو، به نظر می‌رسد بهترین ژنوتیپ، ژنوتیپی با کوتاه‌ترین مرحله رویشی و در مقابل طولانی‌ترین مرحله زایشی باشد (Marceddu et al., 2020). همچنین ایشان گزارش دادند عملکرد میوه‌ها به طور متوسط در ارتباط با محیط‌های مختلف می‌باشد و تنوع بالای بازیابی شده با توجه به فاکتورهای زراعی آزمایش شده گواه بر این است که شرایط محیطی و مدیریتی کشت، بر میزان عملکرد و مواد ثانویه ارقام مختلف تأثیر متفاوتی دارد. به طوریکه محیط کشت تأثیر بیشتری بر دسته‌های معطر میوه‌های چینوک نسبت به گونه‌های کسکید داشت (Marceddu et al., 2020). به عبارت دیگر، میزان این ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بسته به شرایط محیطی رویشگاه یا ارقام رازک متغییر است (Lyu et al., 2022).

نتایج حاصل از بررسی کمی و کیفی اجزای ترکیبات ثانویه چهار رویشگاه مورد بررسی (جداول ۵ تا ۱۰) نشان داد که مناطق مورد مطالعه در داشتن ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و هفت ترکیب اصلی اسانس مشابه بوده اما بین چهار رویشگاه مورد مطالعه دارای تشابهات و اختلافات کمی و کیفی زیادی می‌باشند. به طوری‌که منطقه گرگان دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و

هفت ترکیب اصلی اسانس نسبت به مناطق آزادشهر، علی آباد و گالیکش است که این تفاوت به احتمال زیاد ممکن است ناشی از ارتفاع متفاوت در مناطق مورد مطالعه باشد که خود بر میزان بارندگی و دما و در نهایت میزان این ترکیبات موثر بوده است. در اکثر مطالعات بر نقش رویشگاه به عنوان عامل تاثیر گذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه تأکید شده است. مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند و میزان تشکیل مواد موثره تاثیرگذار باشد. مکانیسم تاثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه به درستی روشن نیست، اما این مطلب تایید شده است که محیط از طریق تأثیری که در فرآیند تولید متابولیت‌ها و نیز آنزیم‌های مرتبط با آن دارد، در نوع و شدت واکنش‌های شیمیایی موثر است (Najjar Firozjaee et al., 2014). در پژوهشی به منظور توصیف اکوتیپ رازک وحشی، ترکیب اسانس با استفاده از تجزیه و تحلیل GC-MS مورد بررسی قرار گرفت. در اسانس اکوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش، ۲۹ جزء شناسایی شد که حدود ۹۸ درصد از کل اسانس را تشکیل داد. ۹۳ درصد از اجزای اصلی را سسکوی ترپن‌ها شامل آلفا- هومولن (۳۷ درصد)، بتا- کاریوفیلون (١٤ درصد)، آلفا-سلینین (۹ درصد) بتا- سیلینین (٦ درصد) و مونوترپن‌ها شامل ۲۷ درصد بتا- میرسن، تشکیل می‌دادند (Paventi et al., 2020). با مقایسه اجزای تشکیل‌دهنده اسانس رقم‌های رازک در چهار رویشگاه مورد مطالعه مشخص شد که تمام مناطق و رقم‌ها در داشتن ۷ ترکیب اصلی کو- هومولون، هومولون، آلفا- اسید و بتا- اسید، کاریوفیلن، همولون و میرسین باهم مشابه هستند اما دارای اختلافات کمی و کیفی زیادی می‌باشند که این تفاوت بین جمعیت‌ها از لحاظ اجزای اسانس، می‌تواند ناشی از عوامل محیطی و نوع رقم باشد (Rajabi et al., 2014). طی بررسی میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی پنج رقم گیاه رازک در کشور لیتوانی توسط Stanius و همکاران (۲۰۲۲) و مطالعه میزان ترکیبات ثانویه فنول و فلاونوئیدی سه رقم گیاه رازک توسط Kobus-Cisowska و همکاران (۲۰۱۹) مشاهده شد که بین رقم‌های مورد مطالعه از لحاظ ترکیبات مورد بررسی اختلاف معناداری وجود دارد و این تفاوت در میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی دارد. طی بررسی اجزای اصلی اسانس ده رقم گیاه رازک، مشاهده شد کو- هومولون، هومولون، آلفا- اسید و بتا- اسید جز اجزای اصلی ترکیبات اسانس ده رقم مورد بررسی می‌باشند (Arruda et al., 2021) که با یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر این که کو- هومولون، هومولون، آلفا- اسید و بتا- اسید جز ترکیبات اصلی رقم‌های کسکید، سنتنیال، چینوک، کریستال و ناگت می‌باشند، هم‌راستا است. در مطالعه‌ای که توسط Lyu و همکارانش در سال ۲۰۲۲ بر روی ۹ رقم گیاه رازک به منظور شناسایی برخی ترکیبات اصلی اسانس انجام شد، مشاهده شد که ترکیباتی چون هومولون و کو- هومولون جز ترکیبات اصلی شناسایی شده در اسانس رقم‌های مورد بررسی است که با نتایج این مطالعه هم‌راستا است. به منظور شناسایی ترکیبات اصلی اسانس، Almeida و همکارانش (۲۰۲۰) گزارش کردند که ترکیباتی چون کاریوفیلن، میرسین و هومولون جز ترکیبات اصلی اسانس گیاه رازک می‌باشند که تأییدی بر نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. تغییرات ارتفاع و پستی و بلندی‌ها از این جهت که می‌توانند بر درجه حرارت و مقدار رطوبت تأثیر مستقیم داشته باشند، به احتمال زیاد بر روی میزان اسانس رقم‌های رازک نیز موثر بوده‌اند. همچنین ارتفاع، به طور غیرمستقیم رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از اثر آن بر مقدار بارندگی، رطوبت نسبی و همچنین درجه حرارت ناشی می‌شود، بنابراین

تولید کمی و کیفی پوشش گیاهی و اسانس نیز به تبعیت آن تغییر خواهد کرد و نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ارتفاع در خصوص میزان ترکیبات تشکیل دهنده اسانس اثرات متفاوتی دارد. برای توضیح دلیل این مغایرت، نمی‌توان فقط عامل ارتفاع را بر بازده اسانس گونه‌های دارویی موثر دانست، بلکه عواملی از قبیل شیب، جهت شیب، نوع خاک، درصد و تراکم پوشش گیاهی و سایر شرایط اقلیمی نیز می‌تواند در این مورد دخیل باشد (Arianfar et al., 2018). نکته قابل توجه در نتایج بدست آمده، تفاوت در مقدار نوع ترکیبات سازنده اسانس در پنج رقم مورد بررسی در چهار ارتفاع متفاوت است. در پژوهش‌هایی که بر پنج ژنوتیپ گیاه رازک توسط Iglesias و همکاران (۲۰۲۰)، چهار ژنوتیپ گیاه رازک توسط Yan و همکاران (۲۰۱۸) و بر هشت رقم گیاه رازک توسط Maliar و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد، نتایج نشان داد که تفاوت‌های بارزی بین رقم‌های مختلف از نظر میزان کمیت و کیفیت اسانس و ترکیبات تشکیل دهنده آن وجود دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

از آنجایی که ژنتیک و محیط از عوامل مهم و تأثیرگذار در کمیت و کیفیت مواد مؤثره در گیاهان دارویی محسوب می‌شوند، با شناسایی تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی مختلف بر روی میزان عملکرد کمی و مقادیر ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی، می‌توان جهت تولید مقدار و نوع متابولیت‌های خاص برنامه‌ریزی لازم را انجام داد. در این پژوهش، طی بررسی نوع و میزان ترکیبات تشکیل دهنده اسانس ارقام مختلف گیاه دارویی رازک، مجموعاً ۳۲ ترکیب شناسایی شد که ترکیبات بتا- اسید، آلفا- اسید، کو- هومولون، محتوای روغن، کاریوفیلن، هومولون و مایرسن عمده‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس رقم‌های مورد بررسی در مناطق کشت شده بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که رقم کسکید در منطقه گرگان، از نظر محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌ترین میزان را داشت که می‌تواند به شرایط آب و هوایی منطقه و پتانسیل بالاتر این رقم در تولید ترکیبات ثانویه مرتبط باشد. همچنین نتایج نشان داد که تمامی رقم‌ها در منطقه گرگان، دارای محتوی ترکیبات ثانویه بالاتری نسبت به سایر مناطق کشت بودند که به ارتفاع پایین‌تر و به عبارت دیگر، دمای بیش‌تر و بارندگی کم‌تر در منطقه کشت شده درگرگان مرتبط بود. از بین رقم‌های کشت شده نیز در ابتدا رقم کسکید و سپس سنتنیال در تمامی مناطق کشت شده بیش‌ترین مقدار را داشتند. بنابراین برای دستیابی به ترکیبات ثانویه بیش‌تر، می‌توان کشت رقم کسکید را در منطقه گرگان توصیه نمود. از طرفی رقم ناگت در منطقه گالیکش با کم‌ترین میزان ترکیبات ثانویه بدست آمد که می‌تواند به پتانسیل پایین‌تر این رقم در تولید ترکیبات ثانویه و شرایط آب و هوایی (دمای کم‌تر و بارندگی بیش‌تر) منطقه گالیکش مرتبط باشد که دارای ارتفاع بیش‌تر بوده و روی تولید محتوی ترکیبات آنتی اکسیدان اثر منفی دارد. بنابراین، با توجه به اهمیت تأثیر شرایط مختلف اکولوژیکی بر ترکیبات دارویی گونه‌های مختلف رازک، توصیه می‌شود تأثیر سایر عوامل مانند نوع خاک رویشگاه و سایر شرایط اقلیمی نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری و مساعدت‌های جهاد دانشگاهی واحد استان گلستان در جهت پیشبرد مراحل پژوهش و تأمین وسایل و امکانات لازم برای این پروژه، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Abdollahi, E., Khodaparast, M., Kiashi, F. and Hoormand, M. 2019. Role of medicinal herbs in the development of renal adverse effects: a review study. Journal of medicinal plants. 18:(4), 23-48.

Aberl, A., and Coelhan, M. 2012. Determination of volatile compounds in different Hop varieties by headspace-trap GC/MS in comparison with conventional hop essential oil analysis. Journal of agricultural and food chemistry. 60 (11): 2785- 2792.

Abiko, Y., Paudel, D. and Uehara, O. 2022. Hops components and oral health. Journal of Functional Foods. 92: 105035.

Acosta-Rangel, A., Rechcigl, J., Bollin, S., Deng, Z. and Agehara, S. 2021. Hop (*'Humulus lupulus'* L.) phenology, growth, and yield under subtropical climatic conditions: Effects of cultivars and crop management. Australian Journal of Crop Science. 15(5): 764-772.

Almeida, A.d.R., Maciel, M.V.d.O.B., Machado, M.H., Bazzo, G.C., de Armas, R.D., Vitorino, V.B., Vitali, L., Block, J.M. and Barreto, P.L.M. 2020. Bioactive compounds and antioxidant activities of brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. Journal of Food Science Technology. 55, 340–347.

Arianfar, M., Akbarinodehi, D., Hemati, K. and Rostampoor, M. 2018. Effects of altitude and aspect on efficiency of producing essence and phytochemical properties of *Artemisia aucheri* Boiss and *Artemisia sieberi* Besser in South Khorasan rangelands. Journal of Rangeland. 3(12): 281-294.

Arruda, T. R., Pinheiro, P. F., Silva, P. I. and Bernardes, P. C. 2021. A new perspective of a well-recognized raw material: phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities and α-and β-acids profile of brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. LWT, 141, 110905.

Arvin, P. and Firouzeh, R. 2021. Study of phenolic and flavonoid compounds and essential oil content of medicinal plant of *proveskia abrotanoides* karel in three natural habitats of Raz and Jargalan County. Plant Process and Function. 11(47): 82-69.

Astray, G., Gullón, P., Gullón, B., Munekata, P. E. and Lorenzo, J. M. 2020. *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules. Applied Sciences. 10(15): 5074.

Babakhanzadeh Sajirani, E., Mousavizadeh, S.J. and Mozafari, KH. 2016. Phytochemical and antioxidant activity of *Elaeagnus angustifolia* L. fruits in different regions of Shahrood. Eco-phytochemical Journal of medicinal plants. 4(4): 62-73.

Blumenthal, M., Goldberg, A. and Brinckmann, J. 2000. Herbal medicine. expanded commission E monographs. USA: Integrative medicine communications; 2000.

Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil.– Phytopathology. 14: 323-328.

Chang, Y.L., Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J. and Lee, C.Y. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Food Chemistry. 50(13): 3713-3717.

Dodds, K. 2017. Hops. A guide for new growers. NSW Department of Primary Industries. Australian Government.

Donner, P., Pokorný, J., Ježek, J., Krofta, K., Patzak, J. and Pulkrábek, J. 2020. Influence of weather conditions, irrigation and plant age on yield and alpha-acids content of Czech hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars. Plant, Soil and Environment. 66(1): 41-46.

Fazeli-Nasab, B., Rahnama, M. and Mazaraie, A. 2017. Correlation between antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. Mazandaran University of Medical Sciences. 27(149): 63-78.

Ghanbari, A., Moradi, H., Akbarzadeh, M. and Mohammadnejad Ganji, S. M. 2017. Quantity and quality of secondary metabolites in lavender plant under the influence of ecological factors. Nova Biologica Reperta. 4(2): 166-172.

Hakkinen, S.H. and Torronen, A.R. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. Food Research Internation. 33: 517-24.

Hosseini, S.S., Nadjafi, F., Asareh, M.H. and Rezadoost, H. 2018. Morphological and yield related traits, essential oil and oil production of different landraces of black cumin (*Nigella sativa*) in Iran. Scientia Horticulturae. 233, 1-8.

Iglesias, A., Mitton, G., Szawarski, N., Cooleyc, H., Ramos, F., Meroi Arcerito, F., Brasescoab, C., Ramirez, C., Gendeab, L., Eguaras, M., Fanovich, A. and Maggi, M. 2020. Essential oils from *Humulus lupulus* as novel control agents against Varroa destructor. Industrial Crops and Products, 158:113043.

Khalili, M. and Ebrahimzadeh, M.A. 2014. a review on antioxidants and some of their common evaluation methods. Mazandaran University of Medical Sciences. 24(120): 188-208.

Khormali, A., Savadkohi, F., Oskoueiyan, R., Mehregan, I. and Mousavizadeh, S.J. 2020. Multivariate analysis of *asparagus* Antioxidant Properties in Relation to Environmental Factors. Journal of Vegetables Sciences. 4(7): 99-113.

Khoshsokhan, F., Babalar, M., Pourmeidani, A. and Fatahi, M.R. 2015. Antioxidant activity, total phenolics and oil content of some *thymus kotschyanus* and *thymus daenensis* populations. Plant products technology (Agricultural research). 15(1): 153-162.

Kobus-Cisowska, J., Szymanowska-Powałowska, D., Szczepaniak, O., Kmiecik, D., Przeor, M., Gramza-Michałowska, A., Cielecka-Piontek, J., Smuga-Kogut, M. and Szulc, P. 2019. Composition and in vitro effects of cultivars of *Humulus lupulus* L. hops on cholinesterase activity and microbial growth. Nutrients. 11 (6): 1377.

Krebs, C. 2019. Hops: A viable alternative crop for the Central/Southern Plains Crops and Soils. 52(4):4-6.

Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S. and Kim, J.H. 2012. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. Life Sciences, 73: 167-179.

Lyu, J. I., Ryu, J., Seo, K. S., Kang, K. Y., Park, S. H., Ha, T. H., Ahn, J. W. and Kang, S. Y. 2022. Comparative study on phenolic compounds and antioxidant activities of hop (*Humulus lupulus* L.) Strobile Extracts. Plants. 11(1), 135.

MacKinnon, D., Pavlovic, V., Ceh, B., Naglic, B. and Pavlovic, M. 2020. The impact of weather conditions on alpha-acid content in hop (*Humulus lupulus* L.) cv. Aurora. Plant, Soil and Environment. 66(10): 519-525.

Mafakheri, M., Kordrostami, M., Rahimi, M. and Matthews, P. D. 2020. Evaluating genetic diversity and structure of a wild hop (*Humulus lupulus* L.) germplasm using morphological and molecular characteristics. Euphytica. 216: 1-19.

Maliar, T., Nemecek, P., Urgeova, E., Maliarova, M., Nesvadba, V., Krofta, K., Vulganova, K., Kroslak, E. and Kraic, J. 2017. Secondary metabolites, antioxidant and anti-proteinase activities of methanolic extracts from cones of hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars. Chemical Papers. 71(1), 41-48.

Marceddu, R., Carrubba, A. and Sarno, M. 2020. Cultivation trials of hop (*Humulus lupulus* L.) in semi-arid environments. Heliyon. 6(10): e05114.

Mazaraie, A. and Fahmideh, L. 2020. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity of three widely-used medicinal plant in natural habitats of Fars province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 8(1): 90-105.

Mohammadnejad Ganji, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A. and Akbarzadeh, M. 2017. Quantity and quality of secondary metabolites in lavender plant under the influence of ecological factors. Nova Biologica Reperta. 4: 166-172.

Molaie, M., Ardavan, M., Safidi, K., Bahrami, B. and Hashemi Majd, K. 2015. Ecological factors affecting the distribution of *Artemisia aucheri* Boiss. in the southeastern part of Sabalan. Scientific Journal of Rangeland. 11(2): 139-151.

Mozaffarian, V. 2018. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Farhang Moasser publishing. Tehran. 114-115.

Najjar Firozjaee, M., Hemmati, KH. And Khorasaninejhad, S., Daraei Garmakhany, A. and Bagherifard, A. 2014. Effect of altitude on morphological and biochemical characteristics of nettle (*Urtica Dioica* L.) plant in mazandaran and golestan provinces. Journal of plant environmental physiology. 9(3): 1-11.

Ordone, A.A.L., Gomez, J.D. and Vattuone, M.A. 2008. Antioxidant activities of *sechium edule* swartz extracts. Food Chemistry. 97: 452-458.

Paventi, G., de Acutis, L., De Cristofaro, A., Pistillo, M., Germinara, G. S. and Rotundo, G. 2020. Biological activity of *Humulus lupulus* (L.) essential oil and its main components against *Sitophilus granarius* (L.). Biomolecules. 10(8): 1108.

Rajabi, Z., Ebrahimi, M., Farajpour, M., Mirza, M. and Ramshini, H. 2014. Compositions and yield variation of essential oils among and within nine *Salvia* species from various areas of Iran. Industrial Crops and Products. 61: 233 - 239.

Rossini, F., Virga, G., Loreti, P., Iacuzzi, N., Ruggeri, R. and Provenzano, M.E. 2021. Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the Mediterranean region of Europe: Challenges and opportunities of their cultivation. Agriculture. 11(6): 484.

Rostaei, M., Fallah, S., Lorigooini, Z. and Surki, A.A. 2018. Crop productivity and chemical compositions of black Cumin essential oil in sole crop and intercropped with soybean under contrasting fertilization. Industrial Crops and Products. 125, 622-629.

Saboura, A., Ahmadi, A., Zeynali, A. and Parsa, M. 2014. Comparison between the contents of phenolic and flavonoid compounds and aerial part antioxidant activity in *Scutellaria pinnatifida* in two northIranian populations. Journal of medicinal plant and By-products. 13(3): 249-266.

Safi, Z., Saeidi, K., Lorigooini, Z. and Shirmardi, H. A. 2016. Evaluation of total phenols and antioxidant activity of mullein (*Verbascum songaricum*) ecotypes. Journal of Shahrekord University medicinal Science. 17 (6): 68-75.

Salanta, L., Tofana, M., Socaci, S., Mudura, E., Pop, C., Pop, A. and Farcas, A. 2015. Evaluation and comparison of aroma volatile compounds in hop varieties grown in romania. Romanian Biotechnological Letters. 20(6): 11049.

Stanius, Z., Dudėnas, M., Kaskoniene, V., Stankevicius, M., Skrzydlewska, E., Drevinskas, T., Ragazinskienė, O., Obelevicius, K. and Maruska, A. 2022. Analysis of the leaves and cones of Lithuanian Hops (*Humulus lupulus* L.) varieties by chromatographic and spectrophotometric methods. Molecules. 27(9), 2705.

Vazquez Araujo, L., Rodriguez Solana, R., Cortes Dieguez, S. M. and Dominguez, J. M. 2013. Use of hydrodistillation and headspace solid-phase microextraction to characterize the volatile composition of different hop cultivars. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93, 2568-2574.

Woodske, D. 2012. Hop variety handbook. Createspace Independent Publishing Platform. 26-69.

Yan, D., Wong, Y.F., Tedone, L., Shellie, R.A., Marriott, P.J., Whittock, S.P. and Koutoulis, A. 2018. Chemotyping of new hop (*Humulus lupulus* L.) genotypes using comprehensive two-dimensional gas chromatography with quadrupole accurate mass time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1536, 110-121.

Zargoosh, Z., Ghavam, M. and Tavili, A. 2019. Comparison of antioxidant and total Phenol of *scropholaria striata* Boiss. In different weather conditions of Ilam province. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 32(4): 759-768.

Zarinkamar, F. and Tajik, S. 2017. Evaluation of antioxidant activity and phenolic content from saffron organs (*Crocus sativus* L.). 8(2): 160-170.

Zugravu, C.A., Bohiltea, R.E., Salmen, T., Pogurschi, E. and Otelea, M.R. 2022. Antioxidants in Hops: bioavailability, health effects and perspectives for new products. antioxidants. 11(2): 241.