نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دوازدهم، شماره ۴۷، پاییز ۱۳۹۶ / صفحات: ۱۳-۱

اثر ارتفاع بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های مختلف گیاه آقطی (*Sambucus ebulus* L.) در سه شهر در استان گلستان

زهرا کاغذلو[۱]، خدایار همتی[۲]، سارا خراسانی‌نژاد[۲]*

[۱]گروه گیاهان دارویی، مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی بهاران، گرگان، ایران.

[۲]گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۳ تاریخ پذیرش:۹۶/۸/۱۶

چکیده

به‌منظور بررسی اثر ارتفاع و مکان رویش بر برخی از صفات بیوشیمیایی آقطی، از سه منطقه استان گلستان (رامیان، توسکستان گرگان و مینودشت) و از سه ارتفاع (بیشتر از ۱٤۰۰ متر)، (بین ٦۰۰ تا ۷۰۰ متر) و (کمتر از ۳۰۰ متر) نمونه‌های برگ، گل و میوه گیاه آقطی در سه تکرار در سال ۱۳۹٤ جمع‌آوری گردید. صفات بیوشیمیایی شامل فنل‌کل، فلاونوئیدکل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش استاندارد شیمیایی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج آزمایش حاکی از آن بود سه عامل ارتفاع، منطقه و اندام دارای اثرات معنی‌داری بر خصوصیات بیوشیمیایی مورد بررسی بودند به‌طوری‌که اثر متقابل منطقه و ارتفاع روی میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر متقابل منطقه و اندام روی میزان فلاونوئیدکل در سطح احتمال ۱ درصد و روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۵ درصد و اثر متقابل ارتفاع و اندام روی میزان فنل‌کل و فلاونوئیدکل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل منطقه، ارتفاع و اندام روی میزان فنل‌کل در سطح احتمال ۱درصد و روی میزان فلاونوئیدکل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. به طوری‌که بیش‌ترین میزان فنل‌کل در توسکستان در ارتفاع کم و اندام برگ مشاهده شد و کم‌ترین میزان آن در مینودشت در ارتفاع متوسط در اندام گل بود. همچنین بیش‌ترین میزان فلاونوئیدکل در منطقه مینودشت در ارتفاع کم و اندام گل و کم‌ترین میزان آن در منطقه توسکستان در ارتفاع متوسط در اندام میوه مشاهده شد. طبق نتایج بدست امده بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در توسکستان در ارتفاع متوسط در اندام میوه و کم‌ترین میزان آن در توسکستان در ارتفاع متوسط در اندام برگ بود. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت با افزایش ارتفاع از محتوی فنل‌کل و فلاونوئیدکل کاسته شده و بهترین کیفیت را از گیاهانی در ارتفاعات پایین می‌توان به‌دست آورد.

واژه‌های کلیدی: آقطی، آنتی‌اکسیدان، ارتفاع، فلاونوئیدکل، فنل کل.

مقدمه

ایران به‌دلیل موقعیت مناسبی که از ذخایر ژنتیکی، آب و هوایی و جغرافیای سیاسی که دارد، قادر است به جایگاه مهمی در زمینه گیاهان دارویی دست یابد (Jahantab et al., 2015). در قرن اخیر جایگاه ویژه و دیرینه‌ای که گیاهان دارویی در بحث بهداشت و سلامت جامعه دارند، مورد توجه مراکز علمی و تحقیقاتی قرار گرفته‌اند. لذا رویکرد جهانی به سمت انجام تحقیقات کاربردی در مورد شناسایی آن گونه‌های دارویی و شرایط زیستگاهی آنها است تا

*نویسنده مسئول: khorasaninejad@gau.ac.ir

بتوان ضمن استخراج مواد موثره ثانوی، فرمولاسیون داروهای طبیعی موثر منطبق با عملکرد آنها در طب سنتی است بدست آورد (Duke et al., 1985).

تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت استرس‌های محیطی افزایش می‌یابد به همین دلیل گیاهان روییده در ارتفاعات کوهستانی به نسبت گیاهان مناطق پست به‌دلیل شرایط خشکی، نور آفتاب و اشعه فرابنفش تحت استرس‌های شدید قرار گرفته و مواد موثره در آن‌ها افزایش می‌یابد. ارتفاع از سطح دریا از جمله فاکتورهای مهم و تاثیرگذار بر رشد و عملکرد گیاهان می‌باشد. تغییرات دما در اثر تغییر ارتفاع از مهم‌ترین عوامل موثر در تغییرات مربوط به ارتفاع محل زندگی گیاه است، به طوری که با افزایش و یا کاهش ارتفاع عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش دریافتی تغییر می‌کند (Fille cache et al., 2012).

ترکیبات فنلی گروه بزرگی ازمواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین می‌باشند که معمولا در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، آجیل‌ها، دانه‌ها، ریشه و در سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند (Raghavendra et al., 2010). فلاونوئیدها نیز یک گروه از مواد طبیعی متعلق به پلی‌فنل‌ها می‌باشند که وظایف اصلی آن‌ها تولید ترکیبات رنگی مانند کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌باشد (Fiorucci, 2006). فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیبات ازجمله آنتی‌اکسیدانی، آنتی میکروبی، ضدالتهاب و وازودیلاتور[1] (غذاهای گشادکننده عروق) آنها در بسیاری از بررسی‌های گزارش شده است (Jamshidi et al., 2010; Harbourne et al., 2009; Soobrattee et al., 2005).

ترکیبات فنلی باداشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند (Shariatifar, 2011). ظرفیت مهار رادیکال DPPH به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم جهت بررسی میزان فعالیت ضداکسایشی استفاده می‌شود (Prior et al., 2005). در همین راستا در تحقیقی بر میوه بنه،گزارش گردید بین قسمت‌های مختلف میوه از نظر ظرفیت مهار رادیکال DPPH اختلاف معنی‌داری وجود دارد (Hatamnia and Malekzadeh, 2015). گونه‌های فعال اکسیژن نیز نقش مهمی در شروع یا پیشرفت بیماری‌های مختلفی از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی- عروقی و التهابی ایفا می‌کنند (Kaur and Kapoor, 2001; Hu and Willett, 2002). لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به‌صورت موثری به‌عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده لذا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر عمل می‌کنند (Gulluce et al., 2007). در سال‌های اخیر مطالعات زیادی روی پتانسیل ترکیبات گیاهی به‌عنوان ضداکساینده در مبارزه با بیماری‌های مختلف انجام گرفته است (Hatamnia and Malekzadeh, 2015). در همین راستا مطالعات زیادی نشان می‌دهد که بین محتوی فنل‌کل و فعالیت آنتی‌اکسیدان رابطه مستقیمی وجود دارد (Swetie et al., 2007; Akbari et al, 2012; Gourine et al, 2010; Hatamnia et al, 2015).

از تحقیقات انجام شده بر فیتوشیمی گیاه آقطی می‌توان به نتایج بررسی روی میزان ترکیبات ثانویه در ارتفاعات متفاوت اشاره نمود که مشخص شد میزان ترکیبات ثانویه در ارتفاع ۱۸۰۰ بیش‌تر از ۱۰۰۰ متری بوده و با افزایش ارتفاع میزان متابولیت‌های میوه آقطی افزایش قابل‌توجهی را نشان داد (Jamshidi et al., 2010). همچنین در تحقیق دیگری که به‌منظور بررسی اثر ارتفاع و اکوتیپ روی برخی متابولیت‌های ثانویه

1. Vasodilators

گیاه دارویی آقطی در سه استان گلستان، مازندران و گیلان انجام شد، مشخص گردید که بیش‌ترین میزان فلاونویید در بین سه اندام، در برگ آقطی و در منطقه توسکستان (۸۰ متر از سطح دریا) با مقدار ٦٧/٣٨ میلی‌گرم در گرم و در استان گلستان مشاهده گردید درحالی‌که منطقه جبرکوه (۷۰۰ متر) در استان گیلان با میزان ٢٤/١ میلی‌گرم در گرم فلاونویید در ساقه دارای کم‌ترین مقدار فلاونویید بود (Mohammadi pour et al., 2014). در پژوهش دیگری با بررسی تاثیر رویشگاه بر میزان برخی مواد ثانویه شیرین بیان گزارش گردید که بیش‌ترین خواص آنتی‌اکسیدانی مربوط به پوست ریشه در ارتفاعات بالا بود (Hemati et al., 2015). در آزمایشی که به‌منظور بررسی اسانس آویشن در سه منطقه در همدان انجام پذیرفت گزارش شد که شرایط اقلیمی و نوع خاک منطقه بر میزان اسانس می‌تواند تاثیرگذار باشد. در این آزمایش گیاهانی که در بالاترین ارتفاع قرار گرفته بودند دارای کم‌ترین درصد اسانس و دارای بیش‌ترین مقدار ترکیبات اختصاصی مربوط به آویشن بودند (Rustaiyan et al., 2000).

گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) از تیره (Caprifoliaceae)، گیاه خزان‌کننده، دوساله و علفی بوده و ارتفاعی بین ۲۰۰-٦٠ سانتی‌متر دارد. دارای گل‌های ریز سفیدرنگ که به‌شکل گل‌آذین دیهیم، معطر، خودگرده‌افشان و هرمافرودیت بوده و توسط زنبور یا سوسک گرده‌افشانی می‌شوند. میوه‌ها کوچک، درخشنده و سیاه رنگ هستند. بذرها در شهریور می‌رسد و در زمستان به زمین می‌ریزند (Emami and vahi, 2008؛ Mozaffarian, 2006؛ Sorkhzadeh and saeedi, 2009). میوه‌های آقطی اثر ضدسرطانی زیادی دارد که به‌دلیل رنگیزه آنتوسیانین آن است. در همین ارتباط گزارش شده در گذشته افراد محلی از برگ‌ها و ساقه زیرزمینی این گیاه برای درمان گزنه و نیز برای رفع آرتروز و گلودرد استفاده می‌کردند (Petkov, 1986). از آنجایی که شرایط اقلیمی بر خصوصیات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی اثرگذار می‌باشد و برای کشت و اهلی‌سازی گیاهان دارویی که امروزه نیاز مبرم به آن احساس می‌شود، الگوبرداری از طبیعت ضروری است، هدف از این تحقیق مقایسه و بررسی رویشگاه‌ها از لحاظ خصوصیات فیتوشیمیایی و شناخت بهترین شرایط رویش برای این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

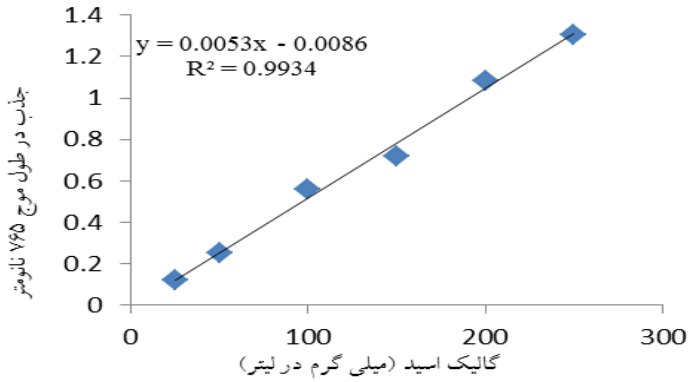
نمونه‌های گیاهی: نمونه‌های برگ، گل و میوه در زمان گل‌دهی گیاه *Sambucus ebulus* در تیرماه سال ۱۳۹۳ از ارتفاعات گرگان، مینودشت و رامیان به‌صورت متفاوت بالادست (١٤٠٠< متر)، متوسط (۷۰۰-٦٠٠ متر) و ارتفاعات پائین‌دست (۳۰۰ > متر) در سه تکرار جمع آوری و توسط گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان شناسایی شد. این تحقیق بر اساس آزمایش فاکتوریل (با سه عامل اندام، منطقه و ارتفاع) بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شده، به‌طوری که از هر منطقه ۱۵ بوته جمع‌آوری که هر تکرار پنج بوته را شامل بوده است. ارتفاع و مختصات جغرافیایی رویشگاه‌ها به وسیله GPS تعیین، ثبت و نوع دامنه نیز مشخص گردید. به‌منظور ارزیابی برخی از صفات بیوشیمیایی پنج نمونه کامل گیاهی شامل برگ، گل و میوه برداشت گردید.

جدول ۱: ارتفاع، مختصات جغرافیایی و نوع دامنه رویشگاه‌های مورد مطالعه

رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا	مختصات جغرافیایی
رامیان (زیاد)	۱۵۹۲	۰۳۲۸۵۷۷s ٤۰ ٤۰۸۷۱٦۰Utm
رامیان (متوسط)	۸۰۳	۰۳۳۲۰٦۲s ٤۰ ٤۰۸۷٤۷۷Utm
رامیان (کم)	۳۰۱	۰۲۸۳۰۸۱ s ٤۰ ٤۰٦۳٦۲۲ Utm
گرگان- توسکستان (زیاد)	۱۷۲٤	۰۲۸۳۰۸۱ s ٤۰ ٤۰٦۳٦۲۲ Utm
گرگان - توسکستان (متوسط)	۷۲۵	۰۲۸۳٤٦۵s ٤۰ ٤۰٦٤۱۹٦Utm
گرگان - توسکستان (کم)	۳۱٤	۰۲۸۳۱۳۳s ٤۰ ٤۰۷٦٦۱٦Utm
مینودشت (زیاد)	۱٤۵۲	۰۳٦۱٤٤۷s ٤۰ ٤۱۱۳۳٦۷Utm
مینودشت (متوسط)	٦۰۹	۰۳۵۸۷۰۷s ٤۰ ٤۰۸۳٦۳۸Utm
مینودشت (کم)	۲۵٤	۰۳٤۵۵۹۹s ٤۰ ٤۰۷۳۳۸٦Utm

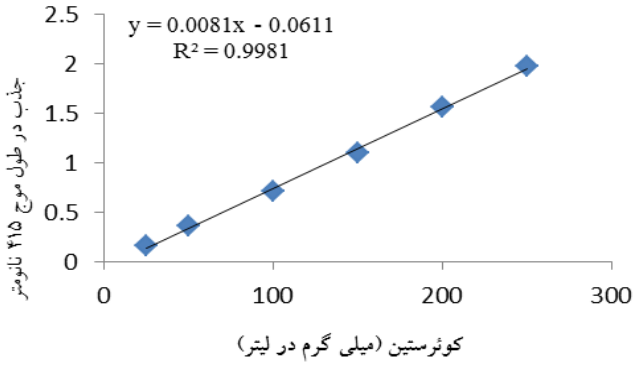
تهیه عصاره متانولی: پس از جمع‌آوری نمونه‌ها و جداسازی میوه، گل و برگ، اقدام به خشکاندن تا رسیدن به وزن ثابت در محیط اتاق با دمای ۲٦درجه سانتی‌گراد، در شرایط سایه و با تهویه مناسب گردید. سپس به‌میزان یک گرم از آن‌ها پودر شده، در ارلن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. در ادامه، نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت بر روی دستگاه لرزاننده قرار داده شد. سپس عصاره متانولی حاوی نمونه با استفاده از کاغذصافی صاف گردید. آنگاه عصاره حاصل برای اندازه‌گیری فنل‌کل، فلاونوئیدکل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش استاندارد فیتوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فنل‌کل: میزان فنل‌کل با استفاده از روش فولین‌سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره را در لوله آزمایش ریخته و سپس ۱/۱٦ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین‌سیوکالتیو به آن اضافه شد. بعد از ۸-۱ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات‌سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه شد و بعد از هم‌زدن به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ٤۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی قرار گرفت. در شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردیده، سپس در طول موج ۷٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در یک گرم نمونه خشک محاسبه گردید (Mashayekhi and Atashi, 2014). منحنی استاندارد (شکل۱) براساس اسیدگالیک با غلظت‌های متفاوت محاسبه گردیده و میزان ترکیبات فنولی معادل اسیدگالیک در هر گرم پودر خشک اندازه‌گیری شد و بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک گزارش شد (Meda et al., 2005).



شکل ۱: منحنی کالیبراسیون استاندارد فنل‌کل

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدکل: برای محاسبه محتوی فلاونوئیدها از روش آلومینیوم‌کلرید استفاده شد. به‌صورتی‌که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم‌کلرید ۱۰ درصد (۱۰ گرم آلومینیوم‌کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. محلول حاصل ۳۰ دقیقه در شرایط تاریک قرار داده شد و سپس در طول موج ٤١٥ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Mashayekhi and Atashi, 2014). منحنی استاندارد (شکل ۲) براساس غلظت‌های مختلف کوئرستین محاسبه گردید و میزان فلاونوئید معادل کوئرستین در هر گرم پودر خشک تعیین شد (Chang et al., 2002).



شکل ۲: منحنی کالیبراسیون استاندارد فلاونوئیدها.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH : برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل)، ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی با یک میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید. برای نمونه شاهد یک میلی‌لیتر متانول خالص به جای یک میلی‌لیتر عصاره متانولی قرار داده شد و برای بلانک از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. اعداد بدست آمده از جذب نمونه توسط رابطه

(۱) به درصد مهار رادیکال آزاد (RSA) تبدیل شد (Mashayekhi and Atashi, 2014).

رابطه (۱)

$$= (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times ۱۰۰$$

درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)

$A_{control}$: جذب محلول کنترل در ۵۱۷ نانومتر

A_{sampel}: جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر

داده‌های حاصل با استفاده از برنامه آماری SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام شد.

نتایج

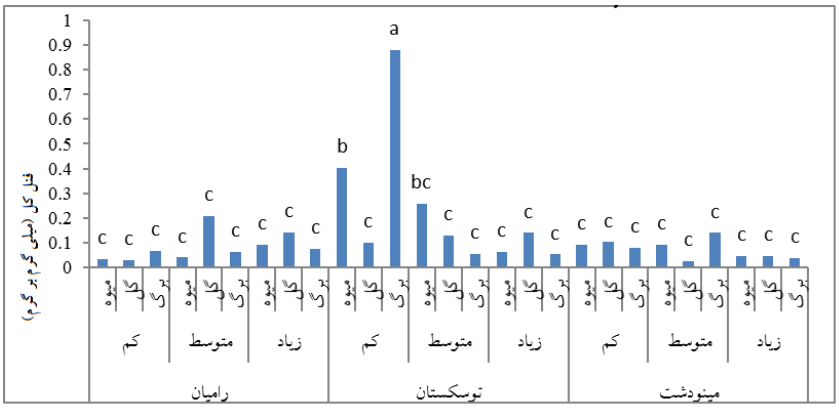
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده منطقه و اندام روی همه ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد و اندام روی فلاونوئیدکل در سطح احتمال ۵ درصد، به‌جز اثر اندام روی فنل‌کل، معنی‌دار بوده است. همچنین اثر متقابل منطقه و ارتفاع روی میزان فنل کل و فعالیت آنتی-اکسیدانی در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌دار در صورتی‌که روی میزان فلاونوئیدکل اثر معنی‌داری نشان نداد. اثر متقابل منطقه و اندام روی میزان فلاونوئیدکل در سطح احتمال ۱درصد اثر معنی‌دار و روی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود، درصورتی‌که روی میزان فنل‌کل اثر معنی‌داری نشان نداد. در همین ارتباط اثر متقابل ارتفاع و اندام روی میزان فنل‌کل و فلاونوئیدکل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده در حالی که روی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌داری نشان نداد. همچنین اثر متقابل منطقه، ارتفاع و اندام روی میزان فنل کل در سطح احتمال ۵ درصد اثر معنی‌دار و منطقه، ارتفاع و اندام روی میزان فلاونوئیدکل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌دار داشته‌است (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس متابولیت‌های ثانویه اندام‌های گیاه آقطی در مناطق و ارتفاعات مختلف استان گلستان

منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل‌کل	فلاونوئیدکل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
منطقه	۲	۰/۲۰۹**	۰/۱۹۳**	۰/۵۳۸**
اندام	۲	۰/۰۲۳ns	۰/۱۵۹*	۲۰/۷۹**
منطقه × ارتفاع	٤	۰/۱۳۸**	۰/۰٦۳ns	۱٤۵۱/۰٦**
منطقه × اندام	٤	۰/۰٤۳ns	۰/۱۰۷*	۸۹۹/۰۹**
ارتفاع × اندام	٤	۰/۰۷٤**	۰/۱۰٦**	۲۰۸/۸۰ns
منطقه × ارتفاع × اندام	۸	۰/۰٦۹*	۰/۱۵٦**	۱۷۰٦/٦٤**
خطا	۵٤	۰/۰۲٤	۰/۰٤۰	۱٦۹/۸٤

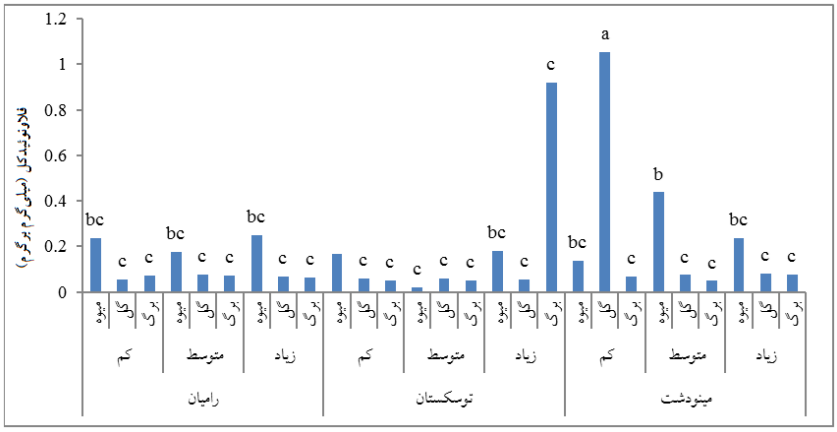
ns: غیرمعنی‌دار *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد **: معنی‌دار در سطح ۱ درصد

براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳)، بیش‌ترین میزان فنل‌کل (۰۸۷۸) در توسکستان در ارتفاع کم در اندام برگ مشاهده شد. همچنین میزان فنل‌کل در اندام‌های گل و میوه در سایر ارتفاعات و رویشگاه‌ها بسیار پایین بود که این مقادیر با اختلاف اندکی در یک گروه قرار گرفتند.



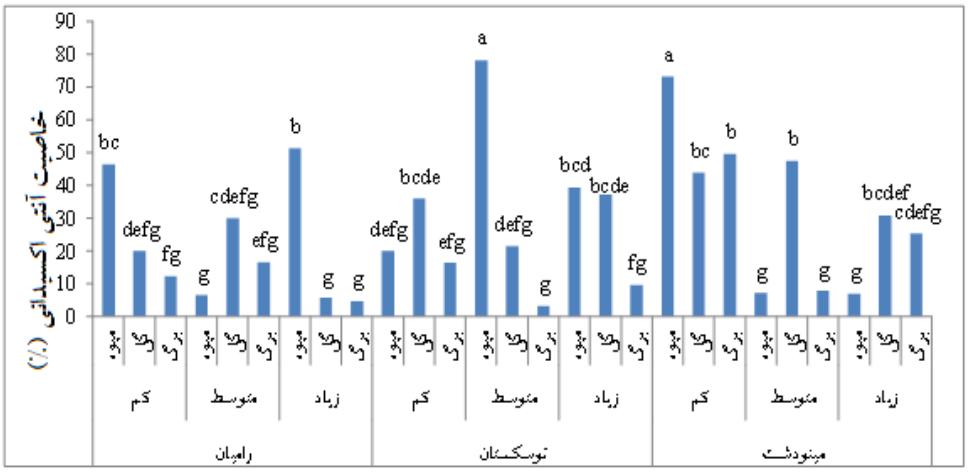
شکل ۳: مقایسه میانگین اثر منطقه، ارتفاع و اندام بر فنل کل وزن خشک گیاه آقطی
ارتفاع زیاد (۱٤۰۰ < متر)، متوسط(۷۰۰-٦۰۰ متر) و کم (۳۰۰ >)

براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ٤) بیش‌ترین میزان فلاونوئیدکل (۱/۰۵۲) در مینودشت در ارتفاع کم در اندام گل مشاهده شد. در همین راستا بین هر سه منطقه و در هر سه ارتفاع در اندام‌های مختلف آقطی از نظر میزان فلاونوئیدکل، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ٤: مقایسه میانگین اثر منطقه، ارتفاع و اندام بر فلاونوئیدکل وزن خشک گیاه آقطی
ارتفاع زیاد (۱٤۰۰ < متر)، متوسط(۷۰۰-٦۰۰ متر) و کم (۳۰۰ >)

براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۵)، بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۸/۱٤) در توسکستان در ارتفاع متوسط در اندام میوه و ارتفاع کم اندام میوه رویشگاه مینودشت مشاهده گردید. همچنین از بابت کمترین مقادیر بین هر سه رویشگاه، در هر سه ارتفاع در هر سه اندام، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده و در همه شرایط این مقادیر کم دیده شدند.



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر منطقه، ارتفاع و اندام بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی وزن خشک گیاه آقطی

ارتفاع زیاد (۱٤۰۰ < متر)، متوسط (۷۰۰-٦۰۰ متر) و کم (۳۰۰ >)

بحث

شناسایی رویشگاه‌های مختلف و ارزیابی تأثیر عوامل محیطی بر صفات ظاهری، عملکرد کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی، کمک مهمی برای اهلی کردن و حفظ تنوع ژنتیکی این گیاهان به‌حساب می‌آید (Yavari et al., 2010). بررسی اثرات سه جانبه منطقه، ارتفاع و اندام نشان داد که برگ گیاهانی که در منطقه توسکستان در ارتفاعات پایین‌تر رشد کرده بودند، بالاترین میزان فنل‌کل را نشان داده و بعد از آن میوه گیاهانی که در ارتفاعات متوسط و کم منطقه توسکستان رشد کرده بودند در سطح دوم آماری قرار گرفتند. **در همین راستا** نتایج مطالعه‌ای از اثر رویشگاه بر فنل باریجه نشان داد که فنل تحت‌تاثیر رویشگاه قرار گرفته و اثر متقابل اندام گیاهی در رویشگاه نیز بر میزان فنل باریجه معنی‌دار بود (Zeinali et al., 2011). همچنین گزارش شده که ترکیبات فنلی اندام‌های مختلف گیاه آقطی با افزایش ارتفاع، افزایش معنی‌داری را نشان دادند (Mazandarani et al., 2010). محققان در بررسی تغییرات ترکیبات فیتوشیمیایی گل راعی رویش‌یافته در شمال ایران اکوتیپ‌های مورد بررسی در ۵ منطقه از غرب مازندران شناسایی و در سه ارتفاع و چهار نمونه‌برداری از هر ارتفاع اقدام به نمونه‌گیری نمودند. آزمایشات نشان داد که بیشترین مقدار هایپرسین و فنل‌کل در منطقه جنت رودبار و ارتفاع ۱٤۱۰ متر، بیشترین مقدار فلاونویید در منطقه قلعه گردن و بیشترین میزان کارتنوئیدها از منطقه پلزنگوله حاصل شد و نتیجه گرفتند که ارتفاع مطلوب رویش در منطقه جنت رودبار می‌تواند جایگاه کشت مناسبی جهت تولید و بهره‌برداری از این گیاه باشد (Asadian et al., 2011). ترکیب‌های فنلی نقش عمده‌ای در بر هم‌کنش گیاهان با محیط اطرافشان بازی می‌کنند (Sun et al., 2001) و عوامل متعددی مانند نمونه گیاهی (نوع گونه، جمعیت، اندام مورد استفاده، مرحله نمو)، شرایط محیطی گیاه (ساختار خاک، شرایط اقلیمی، تنش‌ها) و روش‌های سنجش ترکیبات فنلی، می‌تواند بر میزان استخراج ترکیبات فنلی تاثیرگذار باشد (Moraes de souza et al., 2008) همچنین در این مورد اذعان شده است که هر عاملی که در رشد و نمو گیاه مؤثر است می‌تواند در تولید متابولیت‌های مورد نیاز گیاه اعم از فنل کل، فلاونوئیدکل و درصدمهار رادیکال‌های آزاد ماؤثر باشد (Zeinali et al., 2011).

نتایج تحقیقات نشان داده که ترکیب‌های فنلی نظیر فلاونوییدها، ترپنوئیدها و توکوفرول‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند (Zaveri, 2006). در بین اثرات سه‌جانبه تیمارها، دیده شد که گل گیاهانی که در ارتفاعات کم (۲۵٤ متر از سطح دریا) در منطقه مینودشت رشد کرده بودند، بیشترین مقدار فلاونوئید را نشان دادند و بین سایر ترکیبات تیماری اختلافی دیده نشد. در این ارتباط گزارش شده که میزان فلاونوئیدکل برگ گیاه آقطی نسبت به دیگر اندام ها بیشتر بوده است (Mazandarani et al., 2011). همچنین در تحقیقی که به‌منظور اثر ارتفاع و اکوتیپ بر روی برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی آقطی در ۳ استان گلستان، مازندران و گیلان انجام شد، گزارش گردید که بیشترین میزان فلاونویید در بین سه اندام، در برگ آقطی و در منطقه توسکستان (۸۰ متر از سطح دریا) با مقدار ٦۷/۳۸ میلی‌گرم در گرم و در استان گلستان مشاهده گردید. درحالی‌که منطقه جبرکوه (۷۰۰ متر) در استان گیلان با میزان ۲٤/۱ میلی‌گرم در گرم فلاونوییدکل در ساقه دارای کمترین مقدار فلاونوییدکل بود (Mohammadi pour et al., 2014). همچنین در مطالعه‌ای که بر روی درختچه دارویی قره‌قاط از سه منطقه مختلف ایران شامل ارتفاعات استان‌های اردبیل (حور)، گیلان (ماسوله و اسالم) و مازندران (کلاردشت) انجام شد، برگ و میوه‌های گیاه از هر سه منطقه جمع‌آوری شده و نتایج بررسی عصاره‌های متانولی مناطق مختلف نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی برحسب اسیدگالیک (۱/۵±٤۲/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و آنتوسیانینی برحسب سیانیدین ۳-گلوکوزید (۰/۰۷±۱/۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط به میوه‌های قره‌قاط منطقه کلاردشت بوده است و همچنین میوه‌های این منطقه نیز از فعالیت آنتی-اکسیدانی بهتری (۰/۰۷±۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با سایر مناطق برخوردار هستند (Sepehrifar and Hasanloo, 2010).

در ادامه بررسی اثرات سه جانبه تیمارهای اندام، رویشگاه و ارتفاع نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این تحقیق در میوه گیاهان از ارتفاعات متوسط در منطقه توسکستان و میوه گیاهان از ارتفاعات کم منطقه مینودشت بود که در تحقیق حاضر می‌توان افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ارتفاعات کم مینودشت را با افزایش میزان فلاونوئیدکل در گیاهان این منطقه مرتبط دانست. اثرات آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی تاحدودی به حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت داده می‌شود که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی وجود دارند (Mathew et al., 2006). همچنین محققان گزارش کردند که که اغلب بین میزان فلاونوییدکل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی رابطه‌ای مستقیم وجود دارد (Saboura et al., 2000). به‌طوری‌که مطالعات قبلی روی ۲۸ فرآورده گیاهی شامل دانه‌های روغنی، دانه‌های غلات و گیاهان دارویی نشان داده است که ارتباط مستقیمی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فلاونوییدی کل دیده شده است (Velioglu et al., 2000; Cai et al., 2004; Pourmorad et al., 2006; Tawaha et al., 2007).

عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، ارتفاع، اختلاف در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش‌های اندازه‌گیری‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله فنل‌کل، فلاونوئیدکل و خواص فعالیت آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند (Cao and prior, 1998). که سنتز ترکیبات ثانوی در گیاهان یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های دفاعی در برابر پاتوژن‌ها بوده و کمیت و کیفیت آن بسته به زیستگاه، اندام، شرایط رویشگاهی متفاوت می‌باشد (Iranbakhsh et al., 2008). در

همین راستا می‌توان بیان نمود این تفاوت ها به احتمال زیاد ناشی از تفاوت‌های کموتایپی است که خود حاصل از شرایط محیطی و اقلیم حاکم بر رویشگاه‌های مورد مطالعه می‌باشد (Yavari, et al., 2010).

در نظر گرفتن ویژگی‌های محل رویش و موقعیت گیاه در طبیعت از عمده عواملی است که می‌تواند بر میزان اسانس و مواد موثره گیاهان تاثیر وافر داشته باشد. گزارش‌هایی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان گردیده است و همبستگی بالایی بین منشا جغرافیایی گیاهان و ترکیبات موثره نشان داده شده است (Bertome et al., 2007). در آزمایشی که به منظور بررسی اسانس آویشن در سه منطقه در همدان انجام پذیرفت گزارش شد که شرایط اقلیمی و نوع خاک منطقه بر میزان اسانس می‌تواند تاثیرگذار باشد. در این آزمایش گیاهانی که در بالاترین ارتفاع قرار گرفته بودند دارای کمترین درصد اسانس و دارای بیشترین مقدار ترکیبات اختصاصی مربوط به آویشن بودند. همچنین میزان بالای کارواکرول موجود در آویشن در بالاترین ارتفاع (۳۳۳٤ متری) همدان می‌تواند نقش ارتفاع را در این زمینه مورد بحث قرار دهد (Rustaiyan et al., 2009). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت تاثیر اوضاع اقلیمی بر گیاهان مختلف متفاوت است و همواره باید با تحقیقات مناسب به بررسی نقش عوامل اقلیمی بر رشد، نمو و مواد موثره گیاهان دارویی پرداخت. مهمترین عوامل محیطی رویش‌گیاهان دارویی که تاثیر عمدهای بر کمیت و کیفیت موادموثره آن‌ها می‌گذارد، نور، درجه حرارت، بارندگی، طول روز، عرض جغرافیایی، خصوصیات خاک، ارتفاع محل و تغذیه می‌باشد. به‌طور کلی، عوامل محیطی شامل خصوصیات اقلیمی، توپوگرافی و خاکی است که باید هر کدام از آن‌ها بر رشد، نمو، عملکرد و میزان مواد موثره گیاهان دارویی توجه داشت (Somjen et al., 2004).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد بیشترین مقادیر فنل کل، فلاونوئیدکل و فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب، مربوط به اندام برگ ارتفاع کم رویشگاه توسکستان، اندام گل ارتفاع کم رویشگاه مینودشت و اندام میوه ارتفاع متوسط رویشگاه توسکستان می‌باشد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که با کاهش ارتفاع میزان فنل‌کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه آقطی افزایش می‌یابد.

References

Akbari, V., Jamei, R., Heidari, R. and Jahanban Sfahlan, A. (2012). Antioxidant activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. Food Chemistry. 135: 2404–2410.

Asadian, G.A., Rahnavard, A., Khalil pour, S., Ghorbanpour, M. and Taghavi, M.S. (2011). Study of variation of biochemical components in *Hypericum perforatum* L. grown in north of iran. Journal of Research in Agricultural Science. 7(1): 27-36.

Bertome, J., Isabel Arrillage, M. and Segura, J. (2007). Essential oil variation within and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. Biochemical Systematics and Ecology. 35:479-488

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plant associated with anticancer'. Life Sciences. 74:2157–2184.

Cao, G. and Prior, R.L. (1998). Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical Chemistry. 44:1309–1315.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.Ch. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two comple mentary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analaysis. 10:178-182.

Duke, J.A. (1985). CRC Handbook of medicinal herbs. Boca Raton, FL: CRC Press. P. 423.

Emami, A. and vahi, A. (2008). Medicinal botany. Iran University of Medical Sciences and Health Services. 1th edition. (In Persian).

Fille cache, A., Aliabadi, A., Farzane, H., Borzooei, M. and dadrasi, A. (2012). Ecology study of (*Salvia leriifolia*) in Sabzevar. Congress of Horticultural Sciences. Bu-Ali Sina University.

Fiorucci, S. (2006). Thèse: Activite biologiques de composes de la familles des flavonoides: Approches par des methodes de chimie quantique et de dynamique moleculaire. Soutenue an l'Université de Nice-Sophia Antipolis. P. 212.

Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Stocker, P. and Gaydou, E.M. (2010). Antioxidant activities and chemical composition of *Pistacia atlantica* essential oil from Algerian. Industrial Crops and Products. 31:203–208. (In Persian)

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A. and Ozkan, H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. longifolia. Food Chemistry. 103(4): 1449-1456.

Harbourne, N., Jacquier, J. Ch. and O'Riordan, D. (2009). Optimization of the extraction and processing conditions of a tropa for incorporation into a beverage. Food Chemistry. 115:15-19.

Hatamnia, A.A. and Malekzadeh, P. (2015). Estimation of total phenolic content and antioxidant activity of different parts of Bene fruit (*Pistasia atlantica* Subsp. Kurdica). Journal of Plant Environmental Physiology. 10(37): 1-9. (In Persian).

Hatamnia, A.A., Rostamzad, A., Malekzadeh, P., Darvishzadeh, R., Abbaspour, N., Hosseini, M., Nourollahi, Kh. and Sheikh Akbari Mehr, R. (2015). Antioxidant activity of different parts of *Pistacia khinjuk* Stocks fruit and its correlation to phenolic composition. Natural Product Research. Article in Press.

Hemati, Kh., Hemati, N. and Ghaedi A. (2015). The effect of habitat, root diameter, and type of tissue on some secondary metabolites content of Licorice (*Glycerrhiza glabra*) in Khorasan Razavi (Ghoochan). Journal of Plant Environmental Physiology. 10(39): 1-9. (In Persian)

Hejazi Shirmard, M., Azad, A. and Taghi Zadeh, G. (2011). Effects of sensory retraining on recovery of the hemiplegic upper limb in stroke patients (A Single-System Design). Medical Research Journal. 5 (2):48-53.

Hu, F.B. and Willett, W.C. (2002). Optimal diets for prevention of coronary heart disease. Journal of the American Medical Informatics Association. 288: 2569–2578.

Iranbakhsh, A.R., Hamdi, S.M. M. and Assadi, M. (2008). Flora, life forms and Chorotypes of plants of Garmsar region in Semnan province, Iran, Pajouhesh and Sazandegi. 79: 179-199. (In Persian).

Jamshidi, M., Ahmadi, HR., Rezazadeh, Sh., Fathi, F. and Mazanderani, M. (2010). Study on phenolicd and anioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medicinal Plant. 9(34) 177-183. [In Persian]

Jamshidi, M., Mazandarani, M., and Fthi azad, F. (2010). The effect of height on the secondary metabolites fruit *Sambucus Sambucus* ebulus L. National Conference of Iranian Medicinal Plants.

Jahantab S., Sharafatmandrad M., Fathi, B., Karami Barzalabad R. and Afrigan A. (2015). Investing some characteristics of the medicinal plant species *Smyrnium cordifolium* Boiss. in Boyer aahmad region. Journal of Plant Environmental Physiology. 10(39): 55 - 65. (In Persian)

Kaur, C. and Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. International Journal of Food Science and Technology. 36: 70 –725.

Koleva, II., Van Beek, TA., Linssen, JPH., de Groot, A. and Evstatieva, LN. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis. 13: 8-17.

Mashayekhi, K. and Atashi, S. (2014). The analyzing methods in plant physiology (surveys before and after Mathew, S. and Abraham, T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of harvest). Press sirang words, Gorgan. P. 310.

Mathew, S. and Abraham, T.E. (2006). In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food Chemistry. 44: 198-206

Mazandarani, M., Jamshidi, M. and Fathi azad, F. (2010). Check the active ingredients of medicinal plants (*Sambucus ebulus* L.) second in two regions of Mazandaran province. Journal of Plant Science. 21 (6): 31-39.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pruline contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry. 91:571-577.

Mohammad Aminzadeh, B. (2015). Antioxidant capacity and phenolic composition of leaves from ten Bene (*Pistacia atlantica* subsp. kurdica) genotypes. Natural Product Research. 30(5):600-604.

Mohammadi pour, S., Hemati, KH. and Ebrahimi, P. (2014). The effect of height on the secondary metabolites of *Sambucus ebulus* L. Msc. Thesis of Gorgan University Agricultural Sciences and Natural Resources. P115.

Moraes de souza, R.A., Oldoni, T.L.C. and Regitano, D. (2008). Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. Ciencia Tecnololia de Alimentos. 6(1): 41-7.

Mozaffarian V. (2006). Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser Press.

Petkov, V. (1986). A source of ideas for phytopharmacological investigations. Journal of Ethnopharmacology. 15:121–132.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 5 (11): 1142-1145.

Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 4290– 4302.

Raghavendra, H., Vijayananda, B., Madhumathi, G. and Hiremath, A. (2010). In vitro antioxidant activity Of (Vitex negundo L.) Leaf extracts. Chiang Mai Journal of Science. 37 (3): 489- 497.

Rustaiyan, A., Masoudi, S., Monfared, A., Kamalinejad, M., Lajevardi, T., Sedaghat, S. and Yari, M. (2000). Volatile constituents of three *Thymus* species grown wild in Iran. Planta Medica. 66: 197-198.

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 north iranian populations. Journal of Rafsanjan University Medical Sciences. 13(3): 249-66.

Sepehrifar, R. and Hasanloo, T. (2010). Polyphenolics, flavonoids and anthocyanins content and antioxidant activity of Qare-Qat (*Vaccinium arctostaphylos* L.) from different areas of Iran. Journal of Medicinal Plants. 9(33): 66-74.

Shariatifar, N. (2011). Qualitative and quantitative study of *Pulicaria gnaphalodes* essential oil and plant extract and evaluation of oxidative stability of soya bean oil in the presence

of plant essential oil and extracts. [Thesis] Tehran University. [In Persian]

Somjen, D., Knoll, E. and Vaya, J. (2004). Estrogen-like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues in vitro and in vivo. Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology.91: 147-155.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruomab, O.I. and Bahoruna, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanismand actions. Mutation Research. 579: 200-213.

Sorkhzadeh and saeedi, S. (2009). The chimestry, pharmacological and chemical properties of *Sambucus ebulus*. Journal of Medicinal Plants Research. 2: 095-103.

Sun, F., Hayami, S., Ogiri, Y., Haruna, S., Tanaka, K., Yamada, Y., Tokumaru, S. and Kojo, S. (2001). Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular Basis of Disease. 1535(2): 186-191.

Swetie, R., Raesh, Ch. and Arun, S. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha Spicata* L.) in radiationprocessed lamb meat. Food Chemistry. 100(2): 451-458.

Tawaha, K.H., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and Elimat, T.E. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry. 104:1372–1378.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B.D. (2000). Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables, and grain products. Agricultural and Food Chemistry. 46 (10): 4113-7.

Yavari, A.R., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E. (2010). Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 26(2): 227-238.

Zaveri, N.T. (2006). Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancerous applications. Life Sciences. 78(18): 2073-2080.

Zeinali, Z., Hemmati, KH., Mazandarani, M. and Asghari, J. (2014). The ecology, ethnopharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of Ferula gummosa Bioss. In different regions of Razavi Khorasan province. Tochemical Journal of Medicinal Plants.1 (4): 11-22.