Journal of Plant Environmental Physiology
ISSN: 7671-2423 (Print), 2783-4689 (Online) http://ecophysiologi.gorganiau.ac.ir

Doi: 10.30495/iper.2022.690263
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.67.6.3

Islamic Azad University
Gorgan Branch

Effect of height and soil properties on some secondary metabolites of different organs of sweet violet (*Viola odorata* L.) in different natural habitats of Mazandaran province

Niloofar Zikrijanjad[1], Hossein Moradi[2*], Pouria Beparva[3], Zahra Memariani[4]

[1] Faculty of Agricultural Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. Email: niloofar_zakarya@yahoo.com
[2] Faculty of Agricultural Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. Email: gol7272@gmail.com
[3] Faculty of Basic Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. Email: p.biparva@gmail.com
[4] Faculty of Traditional Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. Email: z.memarianiz@gmail.com

Serial 67, 17th year, Number 3, Autumn 2022 (111-125)

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 07.09.2021
Revised:21.11.2021
Accepted: 13.12.2021

Keywords
Phytochemical
Anthocyanin
Habitat
Phenolic compounds
Antioxidant
Mazandaran

Abstract

Various environmental factors including altitude and soil properties affect the growth and production of plants in natural ecosystems. Sweet violet (*Viola odoratata* L.) is a gramineous and perennial plant of the Violaceae family and grows as a wildflower in the mountainous areas of northern Iran and some other regions of the country. This study was performed to compare the phytochemical properties and antioxidant activity of *Viola odoratata* L. shoot and root extracts in nine habitats of Mazandaran province in March 2020. To investigate the analysis, leaf, flower and root organs of the plant in the flowering stage were collected from nine habitats of Mazandaran province along with soil samples of these areas in March 2018. After collecting the root and shoot samples at the florescence stage and preparing methanolic extract through ultrasonic method, the phenolic and flavonoid contents were determined by Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods, respectively, the antioxidant activities were assayed by Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH), and the anthocyanin contents of flowers were measured by Wagner method. According to the findings, phenolic contents of the flowers and leaves decreased and increased, respectively with increasing height, and percentage antioxidant activities of the flowers increased while the amount of flavonoids was not affected by the habitat altitude. Analysis of soil properties revealed that the anthocyanin contents of flowers increased under the effect of deficient absorbable phosphorus in habitat 3 (Firoozjah Babol) and habitat 6 (Mohammadabad Behshahr). Also in the study of secondary metabolites, Sweet violets in habitat 7 had 67.95% and 86.18% antioxidant activities in flowers and roots, respectively; leaf and root phenol contents of 142.32 mg/g and 55.21 mg/g, respectively, and 6.52 µmol/g flower anthocyanin, so it can be selected as the superior region, and samples from this region can be used as gene banks in sexual and asexual reproduction.

Please cite this article as Zikrijanjad, N., Moradi, H., Beparva, P., Memariani, Z. 2022. Effect of height and soil properties on some secondary metabolites of different organs of sweet violet (*Viola odorata* L.) in different natural habitats of Mazandaran province. *Journal of Plant Environmental Physiology*. 65(3): 111-125.

© 2022. All Rights Reserved

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی

http://ecophysiologi.gorganiau.ac.ir شاپا: (چاپی) ۲۴۲۳-۷۶۷۱ (آنلاین) ۴۶۸۹-۲۷۸۳،

Doi: 10.30495/iper.2022.690263

Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.67.6.3

دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

اثر ارتفاع و خصوصیات خاک بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های مختلف بنفشه معطر (*Viola odorata* L.) در رویشگاه‌های مختلف طبیعی استان مازندران

نیلوفر ذکریانژاد[۱]، حسین مرادی[۲*]، پوریا بی‌پروا[۳]، زهرا معماریانی[۴]

۱. دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،ساری، ایران، رایانامه: niloofar_zakarya@yahoo.com

۲. دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران رایانامه: gol7272@gmail.com

۳. دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران رایانامه: p.biparva@gmail.com

۴. دانشکده طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران رایانامه: z.memarianiz@gmail.com

سال هفدهم، شماره ۶۷، پاییز ۱۴۰۱ / صفحات: ۱۲۵-۱۱۱

نوع مقاله:

مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۸/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

واژه‌های کلیدی:

فیتوشیمیایی

آنتوسیانین

رویشگاه

ترکیبات فنلی

آنتی‌اکسیدان

مازندران

چکیده

عوامل محیطی مختلف شامل ارتفاع از سطح دریا و خصوصیات خاک بر رشد و تولیدات گیاهان در اکو سیستم‌های طبیعی موثر است. گیاه دارویی بنفشه معطر (*Viola odoratata* L.) از خانواده Violaceae، علفی و چندساله بوده و به‌صورت خودرو در نواحی کوهستانی شمال ایران و در برخی از نواحی کشور رویش دارد. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی و مقایسه فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های برگ، گل و ریشه گیاه در نه رویشگاه استان مازندارن در اسفند ماه سال ۱۳۹۸ صورت گرفت. پس از جمع‌آوری اندام‌های هوایی و زمینی گیاه در مرحله گلدهی و تهیه عصاره متانولی از طریق التراسونیک، محتوای فنلی و فلاونوئیدی بترتیب از روش‌های فولین سیکالتو و رنگ سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی اکسیدانی با آزمون مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) و آنتوسیانین گل از روش واگنر سنجیده شد. طبق نتایج بدست آمده مقدار فنل گل و برگ به ترتیب با افزایش ارتفاع کاهش و افزایش و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل افزایش یافتند، اما مقدار فلاونوئیدها تحت تاثیر ارتفاع رویشگاه قرار نگرفتند. در بررسی خصوصیات خاک، محتوای آنتوسیانین گل متاثر از کمبود فسفر قابل جذب در رویشگاه ۳ فیروزجاه بابل و رویشگاه ۶ محمدآباد بهشهر افزایش یافت. همچنین بطورکلی در بررسی مواد موثره، ناحیه ۷ دارای درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل (۶۷/۹۵ درصد) و ریشه (۸۶/۱۸ در صد)، فنل برگ (۱۴۲/۳۲ میلی‌گرم/گرم) و ریشه (۵۵/۲۱ میلی‌گرم/گرم) و آنتوسیانین گل (۶/۵۲ میکرومول/گرم) در بنفشه معطر به مقدار بالایی بود، بنابراین می‌توان به عنوان ناحیه برتر انتخاب کرد و نمونه‌های این ناحیه را به عنوان بانک ژنی در تکثیر جنسی و غیر جنسی استفاده کرد.

استناد: ذکریانژاد، ن.، مرادی، ح.، بی‌پروا، پ.، معماریان، ز. (۱۴۰۱). اثر ارتفاع و خصوصیات خاک بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های مختلف بنفشه معطر (*Viola odorata* L.) در رویشگاه‌های مختلف طبیعی استان مازندران *نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۶۵ (۳)، ۱۲۵-۱۱۱.

مقدمه

اثر عوامل اقلیمی بر گیاهان دارویی مختلف متفاوت می‌باشد، از عوامل محیطی مهم که اثر بسزایی بر کمیت و کیفیت ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی می‌گذارد، می توان به ارتفاع محل و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و درجه حرارت اشاره کرد. گیاهان دارویی منبع غنی از مواد موثره اولیه و متابولیت‌های ثانویه می‌باشند. مشخص کردن میزان ترکیبات موثره و ارزش آنتی‌اکسیدانی در گیاهان دارویی به دلیل کاربرد فراوان آن‌ها در صنایع مختلف شامل دارویی، آرایشی و بهداشتی، غذایی و صنعتی از اهمیت بالایی برخوردار می باشد (Chorli et al., 2017; Safi et al., 2016).

یکی از گیاهان با ارزش دارویی، گیاه بنفشه معطر (*Viola odoratata* L.) از خانواده Violaceae با ۲۲ جنس و حدود ۹۰۰ گونه با گل هایی به رنگ های بنفش و سفید و برگ های دایره‌ای-کلیوی شکل می‌باشد که در اکثر نواحی سایه‌دار و مرطوب رویش دارد و جهت استفاده دارویی به صورت وسیع کشت می‌شود. رویش آن در مناطق ایران شامل نقاط مختلف استان‌های مازندران، سمنان، گیلان، تهران و لرستان می‌باشد (Mozafarian, 2013). این گیاه دارویی در درمان برونشیت، سرطان، سرفه، تب، عفونت‌های ادراری، روماتیسم، عطسه، اختلالات کلیوی و کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تمام اندام‌های هوایی، ریشه و بذر بنفشه معطر دارای مواد موثره با ارزشی شامل آلکالوئید ویولین بوده و ترکیبات اسانس آن شامل موسیلاژ، متیل سالیسیلات، ایونین، سیکلوتیدها، ویتامین C و ویتامین A می‌باشد. در گل‌های بنفشه معطر حدودا ۱۸ درصد موسیلاژ، ٤ درصد آنتوسیانین، ۱/۱ درصد فلاونوئید وجود دارد (Antil et al., 2011; Mahboubi and Mohammad Taghizadeh Kashani, 2018; Fazeenah and Quamri, 2020). همچنین این گیاه حاوی گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، استروئیدی و ساپونینی، تانن‌ها و آلکالوئیدها بوده که زمینه‌ای برای گسترش داروهای جدید در درمان بیماری‌های تنفسی و عفونی می‌باشد (Venu and Austin, 2020).

ترکیبات فنلی در گیاهان نقش محافظت در برابر اشعه ماوراءبنفش، استرس‌های بیوتیک و غیرزنده، عوامل بیماری‌زا و گیاه‌خواران نشان می‌دهند (Laura et al., 2019). همچنین این ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در سیستم بدن اثربخشی ضد سرطان و عوامل محافظت کننده قلب، سیستم ایمنی بدن و محافظت از پوست در برابر اشعه ماورا بنفش دارند (Tungmunnithum et al., 2018; Amarowicza and Pegg, 2019). طی پژوهش صورت گرفته Ibraheem و همکاران (۲۰۱۸) بیشترین مقدار فلاونوئید و فعالیت مهار رادیکال های آزاد در گیاه بنفشه معطر جمع‌آوری شده از منطقه بغداد کشور عراق را به‌ترتیب ۳٤۱±۰/۲۸۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و ۸۷/۰۳±۰/۸٤ درصد بیان کردند. در مطالعه دیگر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی بنفشه معطر ناحیه کیشتوار هند ٤۵۸/۲۷ میکروگرم/میلی لیتر اندازه‌گیری شد (Aslam et al., 2020). همچنین Jurca و همکاران (۲۰۱۹) اعلام کردند بیشترین غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره اتانولی استخراج شده از گل بنفشه معطر منطقه شمال غرب رومانی به‌ترتیب ۱۲۱/٥٤ میلی‌گرم/کیلوگرم و ۸۷/۳٤ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌باشد.

میزان مواد موثره در ارتفاعات بالا با کاهش دما، افزایش شدت نور و شدت وزش باد و مقدار رطوبت هوا و خاک تغییر می‌یابد. همچنین از آن‌جایی که خاک ثبات گیاه و بیشتر نیازهای آبی، غذایی و تنفسی گیاهان را تامین می‌کند بر میزان مواد موثره گیاهان دارویی موثر است (Zobayed et al., 2005). در

پژوهشی بررسی ویژگی‌های فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برخی از اکوتیپ های بنفشه معطر (*Viola odorata* L.) از سه منطقه، ساری (٥٦)، کسوت (٤٨١) و ازنی (١٠٣٥) در استان مازندران صورت گرفت. در نتیجه منطقه ساری با کمترین ارتفاع از سطح دریا بیشترین فنل برگ، فلاونوئید کل، فنل کل و آنتی‌اکسیدان برگ را داشتند (Moradi et al., 2020). Alipour و همکاران (٢٠١٥) در بررسی تاثیر شرایط محیطی مناطق شمالی و جنوبی بر روی کمیت و کیفیت اسانس سنبله دماوندی (*Stachys laxa*) بیان کردند میانگین بازده اسانس در جهت شمالی ٠/٢ درصد و جهت جنوبی ٠/١ درصد بوده که میانگین بازده در جهت شمالی به‌دلیل بالا بودن میزان نیتروژن و فسفر خاک، پایین بودن اسیدیته خاک و بالا بودن درصد ماده آلی خاک و رطوبت خاک بیشتر از جهت جنوبی می‌باشد. در پژوهشی دیگر اثر ارتفاع در نواحی مرتفع مازندارن بر اسانس گیاه آویشن (*Thymus fedtschenkoi*) مورد مطالعه قرار گرفت. درنتیجه بیشترین درصد اسانس در مرتفع‌ترین ناحیه (٣٠٠٠ متر) بود. بعلاوه در این پژوهش با افزایش ارتفاع درصد تیمول و کارواکرول بترتیب کاهش و افزایش یافتند (Ghelichnia, 2018). همچنین مطابق با نتایج Ismailzadeh و Yousef Zaei (2018). بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی (٨٦ در صد) و میزان فنل (٥٢/١٩) هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) در رویشگاه کرمان با بالاترین ارتفاع نسبت به رویشگاه‌های دیگر مورد مطالعه بودند. اما Mazaraie و Fahmideh (2020) بیان کردند. ارتفاع رویشگاه بر کمیت و کیفیت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن شیرازی و بومادران موثر است بطوریکه در ارتفاعات پایین‌تر بیشترین مقدار مواد موثره اندازه‌گیری شدند. همچنین به دنبال بررسی اثر ارتفاع در نه رویشگاه استان مازندران بر روغن اسانس *T.polium* مشخص شد بهترین رویشگاه برای بدست آوردن کمیت و کیفیت مطلوب اسانس، در پایین‌ترین ارتفاع می‌باشد (Zadegan and Khanigi, 2014).

از آنجایی که گیاه بنفشه معطر با مواد موثره ارز شمند دارویی، بردا شت بی‌رویه آن در محل ر شد طبیعی، مو جب خطر انقراض گیاه می‌گردد، بنابراین این تحقیق در راستای حفظ بانک ژنی گیاه مورد نظر و تعیین بهترین مکان از لحاظ خصوصیات کیفی بنفشه معطر مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

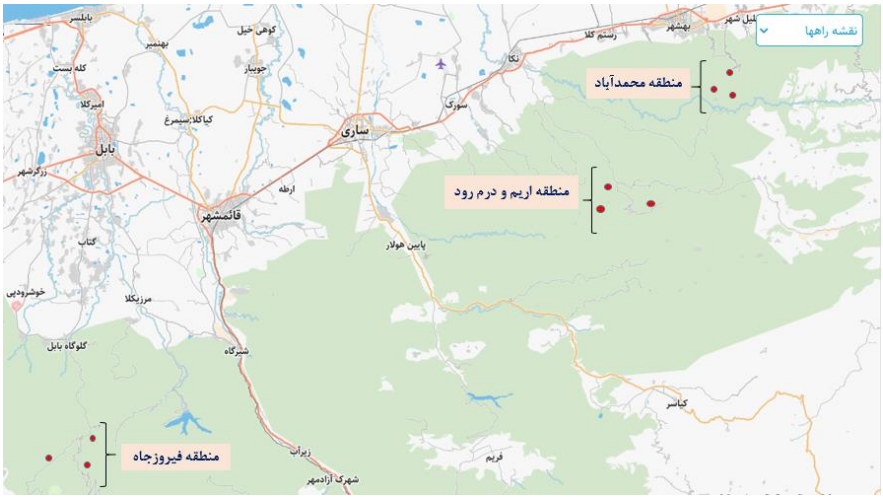
مواد و روش‌ها

ابتدا مطالعه فلور گیاهی ایران و شناسایی رویشگاه اصلی بنفشه معطر (*Viola odorata* L.) صورت گرفت، سپس جهت برداشت نمونه‌ها، در اسفند ماه سال ٩٨ اندام‌های برگ، گل و ریشه گیاه در زمان گلدهی از نه ناحیه کوهستانی مازندران، با سه تکرار (شکل ١) جمع‌آوری و در نهایت نمونه‌ها توسط گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تایید شد. این پژوهش در طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. ارتفاع و مختصات جغرافیایی نواحی در هنگام جمع‌آوری به‌وسیله دستگاه موقعیت‌سنج GPS ثبت شد (جدول ١). به‌منظور آنالیز مواد موثره گیاه بنفشه معطر نمونه‌ها در فضای آزاد با اثر غیرمستقیم نور خورشید خشک و به آزمایشگاه انتقال یافت تا عصاره‌گیری و آنالیزهای فیتو شیمیایی شامل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتوسیانین صورت گیرد. همچنین جهت آنالیز خصوصیات مهم خاکشناسی نواحی شامل بافت خاک، درصد ماده آلی و کربن آلی، اسیدیته کل، هدایت الکتریکی، درصد ازت، فسفر و پتاسیم، نمونه‌های خاک از عمق صفر تا ٣٠ سانتی‌متری بصورتیکه معرف کل ناحیه بوده برداشت شد، به عبارتی از چند منطقه

از یک ناحیه نمونه تهیه گردید و پس از مخلوط کردن نمونه ها از مجموع آن ها یک نمونه معرف خاک آن ناحیه برای آزمایشگاه آماده شد که ویژگی محل برداشت براساس فاصله و ارتفاع سنجیده شد بطوریکه مشخصات ناحیه مطابق با جدول (۱) ناحیه ۱: فیروزجاه بابل با ارتفاع ٤٩٥ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۲ درجه، ۳۸ دقیقه و ٥٤/٦٣ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ١٦ دقیقه و ٠٦/٨٦ثانیه، ناحیه ۲: فیروزجاه بابل با ارتفاع ٦٥٦ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۲ درجه ۳۹ دقیقه و ۲۷/۷۰ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ١٥ دقیقه و ٢٤/٦٩ ثانیه، ناحیه ۳: فیروزجاه بابل با ارتفاع ٧٦٢ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۲ درجه، ۳۹ دقیقه و ۳۲/٤٠ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ١٢ دقیقه و ٤٨ ثانیه، ناحیه ٤: محمدآباد بهشهر با ارتفاع ١١٠٤ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۳ درجه، ٣٦ دقیقه و ٤٤/٥٥ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ۳۷ دقیقه و ۳٤/۸۳ ثانیه، ناحیه ۵: محمدآباد بهشهر با ارتفاع ۱۲۷۱ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۳ درجه، ۳۷ دقیقه و ١٤/٨٣ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه و ۳۸ دقیقه و ٠١/٥٨ ثانیه، ناحیه ٦: محمدآباد بهشهر با ارتفاع ١١٣٦ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۳ درجه، ۳۷ دقیقه و ٠٧/٦١ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ۳۸ دقیقه و ٠١/٠٥ ثانیه، ناحیه ۷: اریم نکا با ارتفاع ٩٥٤ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۳ درجه، ۲۷ درجه و ٠٦/٥٤ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ۲۹ دقیقه و ۳۰/۱۰ ثانیه، ناحیه ۸: اریم نکا با ارتفاع ۸٤۳ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۳ درجه، ٢٦ دقیقه و ٥١/٣٨ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ۲۹ دقیقه و ۲٦/۹۷ ثانیه و ناحیه ۹: درم‌رود نکا با ارتفاع ۵۸۹ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۳ درجه، ۲۹ دقیقه و ٣٤/٨٤ ثانیه و عرض جغرافیایی ٣٦ درجه، ۲۷ دقیقه و ۳۳/۲۳ ثانیه بودند.

جدول ۱: موقعیت جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه گیاه بنفشه معطر

ناحیه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
ناحیه ۱ فیروزجاه بابل	٤٩٥	″٥٤/٦٣ ′٣٨ °٥٢	″٠٦/٨٦ ′١٦ °٣٦
ناحیه ۲ فیروزجاه بابل	٦٥٦	″٢٧/٧٠ ′٣٩ °٥٢	″٢٤/٦٩ ′١٥ °٣٦
ناحیه ۳ فیروزجاه بابل	٧٦٢	″٣٢/٤٠ ′٣٩ °٥٢	″٤٨ ′١٢ °٣٦
ناحیه ٤ محمد آباد بهشهر	١١٠٤	″٤٤/٥٥ ′٣٦ °٥٣	″٣٤/٨٣ ′٣٧ °٣٦
ناحیه ٥ محمد آباد بهشهر	١٢٧١	″١٤/٨٣ ′٣٧ °٥٣	″٠١/٥٨ ′٣٨ °٣٦
ناحیه ٦ محمد آباد بهشهر	١١٣٦	″٠٧/٦١ ′٣٧ °٥٣	″٠١/٠٥ ′٣٨ °٣٦
ناحیه ۷ اریم نکا	٩٥٤	″٠٦/٥٤ ′٢٧ °٥٣	″٣٠/١٠ ′٢٩ °٣٦
ناحیه ۸ اریم نکا	٨٤٣	″٥١/٣٨ ′٢٦ °٥٣	″٢٦/٩٧ ′٢٩ °٣٦
ناحیه ۹ درم رود نکا	٥٨٩	″٣٤/٨٤ ′٢٩ °٥٣	″٣٣/٢٣ ′٢٧ °٣٦



شکل ۱: نقشه راه مناطق جمع‌آوری شده بنفشه معطر

جدول ۲: خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک

شماره ناحیه	شن (درصد)	لای (درصد)	رس (درصد)	بافت خاک	کربن آلی (درصد)	مادهآلی (درصد)	اسیدیته کل اشباع	هدایت الکتریکی	مواد خنثی شونده (درصد)	ازت کل (درصد)	فسفر قابل جذب (پی پی ام)	پتاسیم قابل جذب (پی پی ام)
۱	۵۳	۲۹	۱۸	*Sa.L*	۵/۷۳	۹/۸۸	۷/۳۹	۱/۲۲	*	۰/۲۶	۵	۳۵٤
۲	۳۷	۳۳	۳۰	*C.L*	۷/۳۷	۱۲/۷	٦/۲۲	۰/۸	*	۰/۵۷	٦	٤٤۰
۳	۳۱	٤۹	۲۰	*Loam*	٤/۳۳	۷/٤٦	٦/۱۲	۰/۹٤	*	۰/۳۲	۳	٤۰۸
٤	۳۸	۵۰	۱۲	*Loam*	۳/۳۱	۵/۷۱	۷/۱۵	۰/۸۱	*	۰/۲	۷	۳۳۷
۵	۳۲	٤۸	۲۰	*Loam*	۳/۵۳	٦/۰۸	۵/۲٤	۰/۵۹	*	۰/۲۹	٦	۳۳۸
٦	۲۵	٤۵	۳۰	*C.L*	۳/۹٤	٦/۷۹	٦/۲۵	۰/٦۵	*	۰/۳٤	۳	۲۵۹
۷	٤۲	۳٤	۲٤	*Loam*	۵/۹۳	۱۰/۲۲	۷/٤۵	۱/۱۵	*	۰/۲۵	۷	٤۱٦
۸	۳۳	۳۹	۲۸	*C.L-L*	٦/۵۵	۳/٤۵	۷/٤٦	۰/۸۵	*	۰/۳٦	۷	۲۷٤
۹	۲۰	۳٤	٤٦	*Clay*	۲/٤۵	٤/۲۳	۷/٤٦	۰/۷٦	*	۰/۲۲	۱۰	۳٤۰

عصـــاره‌گیری: یک گرم از بافت‌های اندام هوایی گیاه بنفشه معطر شامل برگ و گل، به‌طور جداگانه در ۲۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد و یک گرم بافت ریشه گیاه با ۱۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد مخلوط کرده و به‌مدت ٤۸ ســاعت در تاریکی قرار داده شــد. ســپس در دو مرحله به‌مدت ۲۰ دقیقه به‌و سیله د ستگاه آلترا سونیک (Soltec Milano, Italy) ع صاره‌گیری صورت گرفت (Afshari and Rahim, 2017; Chen et al., 2007).

اندازه‌گیری محتوی تام فنلی: محتوی تام فنولیک با اســتفــاده از معرف فولین-ســیوکــالتیو طبق روش Slinkard و Singleton اندازه‌گیری شــد. ابتدا به ۲۰ میکرولیتر از عصــاره گیاه بنفشــه معطر ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالتیو افزوده شد. سپس به ترتیب به‌میزان ۱/۱٦ میلی‌لیتر آب مقطر و با گذشــت ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۱ مولار به ترکیب اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. در نهایت

جذب محلول در طول‌موج ۷٦۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان تام فنولیک بر اساس میزان معادل میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان گردید (Slinkard and Singleton, 1977).

اندازه‌گیری محتوی تام فلاونوئید: آنالیز فلاونوئید کل از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم صورت گرفت. ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱مولار به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره گیاه افزده شد، بعد از گذشت ۵ دقیقه ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد با محلول ترکیب گردید. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد و ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونایز به محلول افزوده و در نهایت بعد از گذشت ۳۰ دقیقه شدت جذب محلول در طول‌موج ٤۱۵ نانومتراندازه‌گیری شد و با استفاده از استاندارد کوئرستین و غلظت فلاونوئیدها برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گیاه گزارش گردید (Chang et al., 2002).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدان (اندازه گیری به روش DPPH): ابتدا به یک میلی‌لیتر از عصاره گیاه بنفشه معطر یک میلی لیتر محلول رادیکال DPPH (۱۰ میکرومولار) افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر به‌وسیله‌ی دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (uv-1800PC) اندازه‌گیری شد (Sun and Ho, 2005).

$$\%IP = (A\ control - A\ sam\ ple)/(A\ control) \times 100$$

%IP: درصد مهار رادیکال‌های آزاد، A control: جذب شاهد، A Sample: جذب.

اندازه‌گیری آنتو سیانین: مقدار آنتو سیانین گیاه بنفشه معطر از روش Vagner (۱۹۷۹) اندازه‌گیری شد. به مقدار ۰/۵ گرم از گل تازه گیاه با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹ میلی‌لیتر متانول و یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک) در هاون چینی سابیده و به‌مدت ۲٤ ساعت در تاریکی یخچال نگهداری شد. سپس عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hettich, EBA 200, Germany) کرده و جذب محلول رویی نمونه در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت غلظت آنتو سیانین، از ضریب خاموشی ε=3300 $mM^{-1}\ cm^{-1}$ بررسی و در نتیجه میزان آنتوسیانین بر حسب میکرومول در گرم بیان گردید (Vagner, 1979).

$$A = \varepsilon bc$$

A= عدد خوانده شده، b= عرض کوت، **c**= مقدار آنتوسیانین، **ε** = ضریب خاموشی

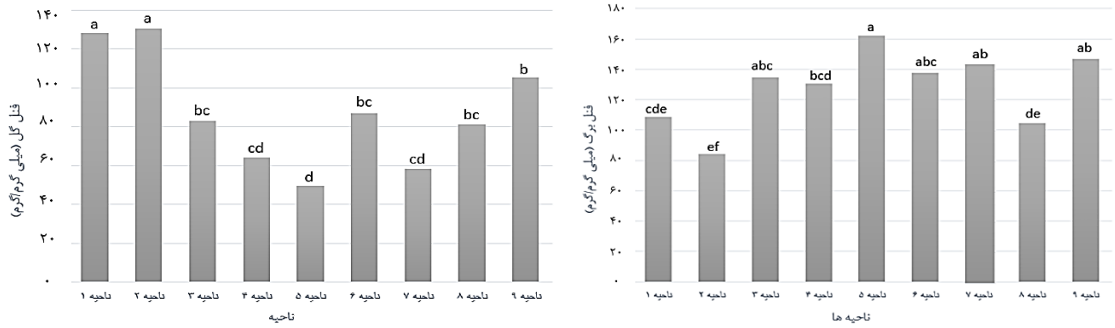
نتایج

ویژگی خاک رویشگاه بنفشه معطر: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در رویشگاه‌های گیاه بنفشه معطر (*Viola odorata* L.) نشان داد بیشتر خاک‌هایی با بافت متوسط و با تعداد محدودی رویشگاه با خاک سنگین گسترش یافته اند و اسیدیته‌ی آن‌ها بین ۵/۲٤ تا ۷/٦٤ و هدایت الکتریکی ۰/۵۹ تا ۱/۲۲ دسی‌زیمنس بر متر بوده که ویژگی رویشگاه‌های این گیاه می‌باشند (جدول ۱). بنابراین نتایج نشان داد گیاه بنفشه معطر بیشتر در خاک خنثی قابل رویش بوده و همچنین خاک شور مانع از رشد و گسترش این گیاه می‌شود. خاک‌های رویشگاه‌های مورد مطالعه از نظر میزان کربن آلی در سطح بالا در محدوده ۲/٤۵ تا ۷/۳۷ درصد بودند، بنابراین گیاه بنفشه معطر در مناطقی با در صد ماده آلی بالا گسترش می‌یابد. میزان فسفر قابل جذب در مناطق جمع‌آوری شده ۳ تا ۱۰ پی‌پی‌ام می‌باشند که در کلاس ضعیف تا متوسط هستند. همچنین میزان پتاسیم مناطق در محدوده‌ی ۲۵۹ تا ٤٤۰ پی‌پی‌ام اندازه‌گیری شدند که از نظر عناصر غذایی، خاک‌های مطلوبی می‌باشند (جدول۲).

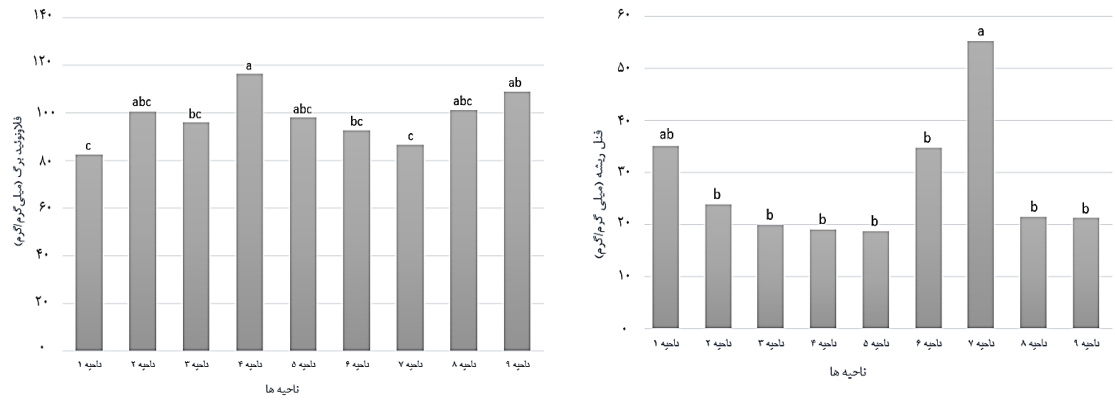
اندازه‌گیری فنل: طبق جدول (۳) تجزیه واریانس مقدار فنل گل، برگ و ریشه گیاه بنفشه معطر تحت تاثیر ارتفاع به ترتیب در سطح یک درصد، یک درصد

و پنج درصد معنی‌دار شد. بنابراین مقدار ارتفاع در میزان فنل گیاه بنفشه معطر موثر است. طبق بررسی صورت گرفته (شکل ۲) بیشترین مقدار فنل در برگ این گیاه مشاهده شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید: با توجه به جدول (۳) در مقایسه میانگین میزان فلاونوئید برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد و در گل و ریشه این گیاه اثر معنی‌داری مشاهده نشده است. در نتیجه مطابق با نتایج تجزیه واریانس اثر معنی‌دار ارتفاع بر میزان فلاونوئید فقط در برگ مشاهده شد. بیشترین میزان فلاونوئید برگ (۱۱۶/۵۳ میلی‌گرم/گرم) در ناحیه ٤ مشاهده شده که اختلاف معنی‌داری با نواحی ۲، ۵، ۸ و ۹ ندارد (شکل ۳).



شکل ۲: مقایسه میانگین فنل گل، برگ و ریشه در نه ناحیه برداشت



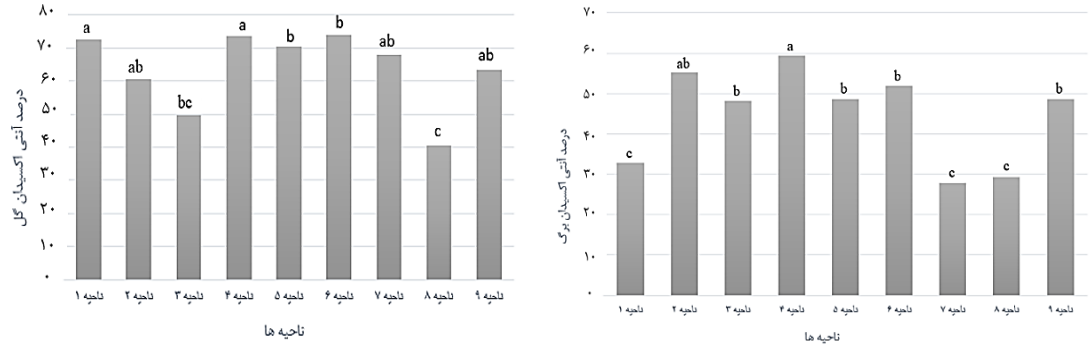
شکل ۳: مقایسه میانگین فلاونوئید برگ در نه ناحیه برداشت

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدان: در نتیجه مقایسه میانگین آنتی‌اکسیدان گل، برگ و ریشه گیاه بنفشه معطر اثر معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد. بنابراین ارتفاع اثر مستقیمی بر میزان درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی و زمینی این گیاه دارد (جدول ۳). با توجه به شکل (۳) مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل در نواحی ۱ و ٤ با نواحی ۷ و ۹ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین آنتی‌اکسیدان برگ در ناحیه ٤ بیشترین مقدار را داشته که اختلاف معنی‌داری با ناحیه ۲ ندارد (شکل ٤). در این پژوهش بیشترین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی با توجه به جدول (۳) در برگ می‌باشد.

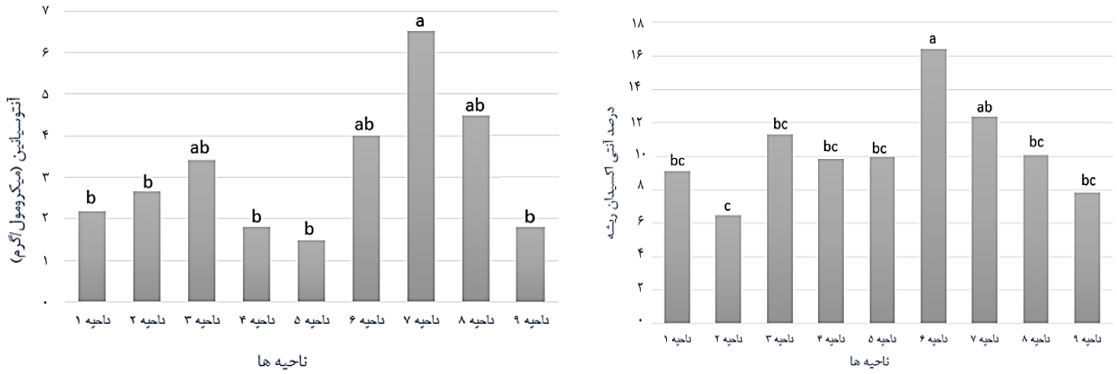
اندازه‌گیری آنتوسیانین: بیشترین مقدار آنتوسیانین گل ٦/٥۲ میکرومول/گرم در ناحیه ۷ و کمترین مقدار آن ۱/٤۹ میکرومول/گرم در ناحیه ۵ می‌باشد (شکل۵). در صورتی که بین ناحیه‌های ٦ تا ۸ همچنین ناحیه‌های ۱

تا ۵ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. مطابق جدول ۳ یک درصد اختلاف معنی‌داری دارند.

مقدار آنتوسیانین این گیاه در نواحی مختلف در سطح



شکل ۴: مقایسه میانگین درصد آنتی‌اکسیدان گل، برگ و ریشه در نه ناحیه برداشت



شکل ۵: مقایسه میانگین آنتوسیانین گل در نه ناحیه برداشت

جدول ۳: تجزیه واریانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل گل ،میلی گرم/گرم	فنل برگ (میلی گرم/گرم)	فنل ریشه (میلی گرم/گرم)	فلاونوئید گل (میلی گرم/گرم)	فلاونوئید برگ (میلی گرم/گرم)	فلاونوئید ریشه (میلی گرم/گرم)	آنتی اکسیدان گل (درصد)	آنتی اکسیدان برگ (درصد)	آنتی اکسیدان ریشه (درصد)	آنتوسیانین میکرومول/گرم)
ناحیه	۸	۵۰۴/۳۴**	۵۱۷/۵۱**	۸۷/۷۱*	۱۰۰/۵۱ns	۳۳۰/۹۲*	٤/۳۳ns	٤۰۰/۷۱**	٤۰٤/۳۹**	٦/۱۰۳**	۷/۳۱*
خطا	۱۸	٥٤/۰۲	٥۱/٤۸	۳۳/٦۱	۱۲٥/٦٥	۹۹/۲٤	٦/۹۱	۱۰٥/۰۷	۱٥/۰٤	۱/٥٥	۲/۸۸
ضریب‌تغییرات		۱٦/٤۳	۱٦/۰٤	۲٦/۳۷	۱۲/۲۷	۱۰/۱٥	۱۷/۸۹	۱٦/۱۱	۸/٦۸	۱/٤٦	۲٥/٥٤

*، **و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪، ۱٪ و عدم تفاوت معنی‌دار

بحث

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فنل ها، فلاونوئیدها، تانن ها و آنتوسیانین می‌با شند که نقش دفاعی در شرایط نام ساعد محیطی دارند که ترکیبات فنلی بی شتر گیاهان با قرار گرفتن در برابر عوامل محیطی تنش زا، افزایش می یابد (Laura et al., 2019). تولید مواد موثره گیاهان دارویی تحت تاثیر عوامل محیطی، بسیار پیچیده و مبهم است. مهمترین عوا مل اکولوژیکی موثر در میزان کم یت و کیفیت مواد موثره موجود در گیاهان دارویی، شرایط اقلیمی (درجه حرارت، نور، بارش، باد)، ویژگی های خاک (عناصر غذایی خاک، بافت، اسیدیته) و عوامل جغرافیایی (ارتفاع از سطح دریا و میزان شیب و جهت) می باشد (Nabavi et al., 2015). گزارش پژوهش حاضر مبنی بر اثر شرایط رویشگاه متفاوت بر ترکیب فنلی گیاه است که بیشترین مقدار محتوای ترکیبات فنلی اندام برگ گیاه بنفشه معطر در رویشگاه ۷،۵ و ۹ محمد آباد بهشهر بود (شکل ۲).

Mazaraie و Fahmideh (۲۰۲۰) در بررسی فیتوشیمیایی سه گیاه دارویی پرمصرف در رویشگاه‌های طبیعی استان فارس مشاهده‌کردند، محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در سه اکوتیپ آویشن، بابونه و بومادران تحت تأثیر شرایط آب و هوایی مناطق مورد مطالعه بودند و این نشان دهنده اثر شرایط محیطی بر میزان ترکیبات پلی‌فنولی گیاهان دارویی مورد نظر بود. در نتیجه بیان کردند این تفاوت در میزان این ترکیبات می‌تواند ناشی از تأثیر عوامل مختلفی نظیر اقلیم منطقه، نوع گونه، محیط خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی باشد. همچنین Saboora و همکاران (2013) با بررسی اثر شرایط رویشگاه بر میزان فنل، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و ساقه شش گونه میخک وحشی ایران برآورد کردند تفاوت شرایط منطقه مانند ارتفاع و تغییرات اقلیمی اثر معنی داری بر مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارد. بنابراین نتایج بالا تایید می‌کنند که شرایط رویشگاه مختلف، اثر معنی‌داری در محتوای ترکیبات زیست فعال و فعالیت آن‌ها دارد.

بی شترین مقدار ترکیبات فنلی گل در رویشگاه ۱و ۲ فیروزجاه بابل بود که با افزایش ارتفاع مقدار آن کاهش یافت، که کمترین مقدار آن در رویشگاه ۵ محمد آباد بهشهر با بیشترین ارتفاع (۱۲۷۱ متر) اندازه‌گیری شد (شکل ۲). مطابق با گزارش حاضر Kaqazloo و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی اثر ارتفاع بر برخی متابولیت های ثانویه اندام های مختلف گیاه آقطی (*Sambucus ebulus* L.) در سه شهر استان گلستان گزارش کردند اثر متقابل ارتفاع، منطقه و اندام روی میزان فنل کل و فلاونوئید کل معنی‌دار می‌باشد. به طوری که بیشترین مقدار فنل کل در منطقه توسکستان با ارتفاع کم در اندام برگ اندازه‌گیری شد. در مجموع بیان کردند با افزایش ارتفاع میزان محتوی فنل کل و فلاونوئیدکل کاهش یافته و بهترین کیفیت را گیاهانی در ارتفاعات پایین دارند. همچنین Yazdanpanah (۲۰۱۸) در بررسی ترکیبات پلی‌فنلی گیاه دارویی مینا بیان کرد، در کمترین ارتفاع میزان کومارین بالا و ۱۲۰/۵۶ میکرو گرم بر میلی‌لیتر است و در سایر ترکیبات پلی‌فنلی مطالعه شده جز عامل ارتفاع سایر عوامل مانند اقلیم، جغرافیا، نوع خاک موثر می‌باشد. Arianfar و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی سه سطح ارتفاع ۱۶۰۰،۱۴۰۰ و ۱۸۰۰ متر از سطح دریا بر **میزان** بازده ا سانس درمنه کوهی نشان دادند با افزایش ارتفاع، مقدار بازده ا سانس کاهش می‌یابد، همچنین در پژوهشی دیگر بر روی گونه دارویی آفسنطین (*Artemisia absinthium*) در منطقه سوادکوه استان مازندران به این نتیجه رسیدند که بیشترین بازده اسانس در ارتفاعات پایین طبقه ارتفاعی ۸۰۰- ۷۰۰ متر از

سطح دریا می‌باشد. Mazaraie و Fahmideh (۲۰۲۰) در ارزیابی و مقایسه فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سه گیاه دارویی پرمصرف در رویشگاه‌های طبیعی استان فارس گزارش کردند به طورکلی بین ارتفاع و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی رابطه عکس وجود دارد.

آنالیز داده‌های پژوهش حاضر نشان داد، فنل ریشه در ناحیه ۷ بیشترین مقدار (۵۵/۲۱ میلی‌گرم/گرم) بود که به نظر می‌رسد به‌دلیل بالا بودن درصد ماده آلی خاک (۱۰/۲۲٪) در این ناحیه باشد (شکل ۲). در این راستا Alipour و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی تأثیر شرایط محیطی بر روی کمیت و کیفیت اسانس *Stachys laxa* گزارش کردند، به‌دلیل بالا بودن درصد ماده آلی خاک و رطوبت خاک، بازده اسانس در جهت شمالی بیشتر از جهت جنوبی می‌باشد. همچنین در پژوهشی دیگر با بررسی الگوی تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه *Thymus pubescens* متاثر از خاک رویشگاه آذربایجان شرقی گزارش شد، یازده ترکیب موجود در اسانس به طور معنی‌داری تحت تاثیر خصوصیات خاک می‌باشد که با افزایش مقدار ترکیبات آلی میزان متیل اتر کاواکرول (ترکیب فنلی تجاری) در نمونه اسانس مربوط به سهند افزایش پیدا می‌کند (Imani Dizaj Yekan et al., 2020). همچنین با بررسی اثر عناصر غذایی خاک بر ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان، Mykhailenko و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند، ترکیبات فنلی موجود در ریزوم‌های زنبق تحت تأثیر محتوای عناصر غذایی خاک قرار دارد، بطوریکه محتوای فسفر و پتاسیم اثر قابل توجهی در سطوح ترکیبات فنلی دارد، در حالیکه اثر محتوای نیتروژن قابل توجه نیست. بطورکلی می‌توان گفت که عناصر غذایی خاک به دلیل نقش مهمی که در متابولیسم مواد موثره گیاهان دارند، ماده آلی خاک می‌تواند موجب افزایش فنل ریشه بنفشه معطر شده باشد.

مطابق با نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مقدار فلاونوئید گل و ریشه در تمام رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد داشتند بنابراین در هر رویشگاه عوامل اکولوژیکی مختلف بر محتوای فلاونوئیدی گیاه موثر می‌باشد. فلاونوئیدها مکانیسم دفاعی، در برابر اشعه ماوراءبنفش، عوامل بیماری‌زا و موجودات گیاه‌خوار دارند. این مواد موثره در گونه‌های مختلف گیاهی با بافت، مرحله رشد، تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراءبنفش، شرایط خاک و بیماری‌ها مرتبط می‌باشند (Kalinova and Vrchotova, 2011). همچنین مطابق با شکل (۳) بیشترین مقدار فلاونوئید برگ در ناحیه مرتفع مورد مطالعه (ارتفاع ۱۱۰٤ متر) بود. در پژوهشی Pandey و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند با افزایش ارتفاع محتوای فنلی و فلاونوئید کل گیاه *Thalictrum foliolosum* افزایش یافتند. همچنین Hashemi و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی اثر ارتفاع بر گونه‌های بومی در معرض خطر (*Nepeta septemcrenata*، *Origanum syriacum*، *Phlomis aurea*، *Rosa Arabica* و *Silene schimperiana*) نواحی مورد مطالعه، برآورد کردند در تمام گونه‌ها با افزایش ارتفاع (۱٦۰۰ تا ۲۲۰۰ متر) مقدار فلاونوئید و فنل کل افزایش یافتند که این گزارشات مبنی بر وجود ارتباط بین ارتفاع رویشگاه‌ها و ترکیبات فنلی گیاه است که تایید کننده نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

آنتی‌اکسیدان‌ها با خاصیت انتقال اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون ممانعت می‌کنند (De Siqueira Leite et al., 2018). نتایج آنالیز این پژوهش نشان داد، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از میان نمونه‌های مورد مطالعه مربوط به مرتفع‌ترین نواحی بود (شکل٤). تحقیقات انجام شده در زمینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف بیانگر آن است که در تمامی موارد افزایش ارتفاع باعث افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی می‌شود

(Yang and Miao, 2010; Stankovic et al., 2010). در همین راستا Zargoosh و همکاران (۲۰۱۹) مشاهده کردند در مرتفع‌ترین ناحیه مورد مطالعه (بدره با ارتفاع ۹۳۲ متر از سطح دریا) گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۰۰/۱۵ ±۳/۳۷ میکروگرم/میلی‌لیتر) می‌باشد. در پژوهشی دیگر مشخص شد در گیاه چویل (*Ferulago angulat*) ارتفاع اثر مستقیم بر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارد، که بیشترین مقدار آن در بلندترین ارتفاع ناحیه دنا می‌باشد (Nikkhah amiabad et al., 2017). همچنین Omrani nejad و Rezvani aghdam (۲۰۱۹) گزارش کردند در مرتفع‌ترین رویشگاه مورد مطالعه (بهبهان) درصد مهار رادیکال‌های آزاد گیاه دارویی لعل کوهستان (*Oliveria decumbens* vent.) بیشترین مقدار است. در نتیجه بطورکلی با بررسی نتایج آزمایش حاضر و انطباق با یافته دیگر مطالعات می‌توان گفت ارتفاع فاکتور موثر بر مقدار درصد مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد. از طرف دیگر علاوه بر نواحی مرتفع ناحیه‌ی کم ارتفاع فیروزجاه بابل (ناحیه ۱) با ارتفاع ۴۹۵ متر دارای بیشترین در صد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل بود که به نظر می‌رسد به‌دلیل بالا بودن EC و در نتیجه شور بودن خاک باشد (جدول ۲). تنش شوری از جمله عوامل مهم محیطی است، که موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می شود. فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان به عنوان یکی از مکانیسم‌های دفاعی در راستای تحمل به شوری عمل می‌کند (Karimi et al., 2014). در این زمینه Mirokili و همکاران (۲۰۱۹) مشاهده کردند گیاه عدس الملک توانسته با تقویت مکانیسم‌های محافظتی بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی خود، با شوری محیط مقابله کند.

در نتایج مقایسه میانگین مقدار محتوای آنتوسیانین رویشگاه ۳ فیروزجاه بابل و رویشگاه ۶ محمدآباد بهشهر بالا بود که به نظر می‌رسد به دلیل کمبود فسفر در این نواحی می تواند موجب افزایش تجمع آنتوسیانین در گل بنفشه معطر شده باشد که مطابق با پژوهش Mirkohi و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر فسفر بر بهبود کیفیت گیاه شمعدانی معمولی بیان کردند (*Pelargonium hortorum*) کاهش فسفر خاک سبب افزایش آنتوسیانین‌های برگ گردید که نتایج این لکه‌های تیره‌تری در این برگ‌ها نسبت به سایر گیاهان نشان داد. در نتیجه بیان کردند گیاهانی که تحت تنش فسفر هستند اغلب یک رنگ‌گیری قرمز به دلیل زیاد شدن آنتوسیانین در آنها دیده می‌شود (Khandan Mirkohi et al., 2014). تجمع آنتوسیانین‌ها که بدلیل افزایش تولید آنزیم‌های مسیر بیوسنتز فنل ها و فلاونوئیدها رخ می‌دهد.این مواد DNAو کلروپلاست را در مقابل صدمات نور ماوراء بنفش حفظ می‌کنند. همچنین تولید فسفاتاز در زمان کمبود فسفر مشهود است زیرا این آنزیم با تجزیه و آزادسازی فسفر از منابع آلی در باز توزیع فسفر در داخل گیاه نقش آفرینی می کند (Sori, 2015). در نتیجه کمبود عناصر غذایی که خود به‌نوعی تنش غیرزنده محسوب می‌گردد، باعث افزایش آنتوسیانین گیاه می‌گردد.

نتیجه‌گیری نهایی

بطورکلی مطابق با نتایج، ناحیه ۷ دارای مقدار ترکیبات فیتوشیمیایی بالا شامل درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل (۶۷/۹۵ درصد) و ریشه (۸۶/۱۸ درصد)، فنل برگ (۱۴۲/۳۲ میلی‌گرم/گرم) و ریشه (۵۵/۲۱ میلی گرم/گرم) و آنتوسیانین گل (۶/۵۲ میکرومول/گرم) بود، بنابراین این ناحیه را می‌توان به عنوان ناحیه برتر جهت جمع‌آوری بذر بنفشه معطر بعنوان بانک ژنی برای مقابله با فرسایش ژنتیکی و از بین رفتن ذخایر توارثی نگه داری و ارزیابی نمود و در

تکثیر جنسی و غیرجنسی استفاده کرد. از آن‌جایی که بیشـــترین مواد موثره در اندام هوایی این گیاه بود، بنابراین می‌توان از این اندام‌ها جهت اســـتخراج مواد موثره و بکار بردن آن‌ها در مصارف دارویی و بهداشتی بهره‌مند شـــد. همچنین در این پژوهش براســـاس نتایج بدســـت آمده، اثر اختلاف ارتفاع بر ترکیبات فنولی اندام هوایی نسبت به سایر ترکیبات بیشتر بود در نتیجه در مطالعات اکولوژیکی دیگر این ترکیب با ارزش دارویی بنفشه معطر مورد بررسی قرار گیرد.

References

Afshari, M. and Rahim Malek, M. (2017). Assessment of phenolic compounds, essential oil and antioxidant activity of *Achillea millefolium* L. in growing stages. Plant Process and Function. 21: 15-25.

Alipour, N., Mahdavi, K., Mahmoudi, J. and Ghelij-Nia, H. (2015). Investigation into the Effect of Environmental Conditions on the Quality and Quantity of Essential Oil of *Stachys laxa.* Journal of Plant Research Iranian Journal of Biology. 3: 561-572.

Amarowicz, R. and Pegg, R.B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. In Advances in Food and Nutrition Research, 1-81.

Antil, V., Kumar, P., Kannappan, N., Diwan, A., Saini, P. and Singh, S. (2011). Evaluation of the analgesic activity of Viola odorata aerial parts in rats. Journal of Natural Pharmaceuticals. 1: 24-27.

Arianfar, M., Akbari Nodehi, D., Hemmati, Kh. and Rostampour, M. (2018). Effect of height and direction on essential oil yield and some phytochemical properties of medicinal species *Artemisia aucheri* Boiss and *Artemisia sieberi* Besser In the pastures of South Khorasan. Journal of Rangeland Research. 281-294.

Aslam, L., Kaur, R., Kapoor, N. and Mahajan, R. (2020). Phytochemical composition and antioxidant activities of leaf extracts of Viola odorata from Kishtwar, Jammu and Kashmir. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 26(1): 77-88.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10(3): 1365-1368.

Chen, Y., Xie, M.Y. and Gong, X.F. (2007). Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from Ganoderma atrum. Journal of Food Engineering. 81: 162-170.

Chorli, S., Khorasaninejad, S., Hemmati, Kh and Kashefi, B. (2017). Evaluation of morphological, antioxidant and essential oil content of tea medicinal plant In the habitats of Semnan, Khorasan provinces *Stachys lavandulifolia* Vahl. Mountain North and Razavi. Journal of Plant Environmental Physiology. 41(11): 41-52.

De Siqueira Leite, K.C., Garcia, L.F., Lobón, G.S., Thomaz, D.V., Moreno, E.K.G., de Carvalho, M.F., Rocha, M.L., dos Santos, W.T.P. and de Souza Gil, E. (2018). Antioxidant activity evaluation of dried herbal extracts: an electroanalytical approach. Revista Brasileira de Farmacognosia. 28(3): 325-332.

Fazeenah, A.A. and Quamri, M.A. (2020). BANAFSHA (VIOLA ODORATA LINN.)-A REVIEW. World Journal of Pharmaceutical Research. 10: 514-537.

Ghelichnia, H. (2019). Essential oil composition of Thymus Trauvetteri Klokov & Desj. at different growing altitudes in Mazandaran, Iran. Cercetări Agronomice in Moldova. 174: 75-83.

Ibraheem, R.M., Mhawesh, A.A. and Abood, K.W. (2018). Estimation of the whole flavonoid, antioxidant, anti bacterial challenge concerning viola odorata (banafsha) methanolic extract. The Iraqi Journal of Agricultural Science. 49(4): 655.

Imani Dizaj Yekan, Y., Ebrahimi Gajouti, T. and Abdi Ghazi Jahan, A. (2020). Study about quantitative and qualitative

variations type of *Thymus pubescens* essential oil affected by soil factors in Eazerbayjanprovince. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 33(2).

Ismailzadeh, S. and Yousef Zaei, F. (2019). Phytochemical and antioxidant evaluation of different organs of Citrullus colocynthis L. in different habitats of southeastern Iran. Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants. 27: 43-52.

Jurca, T.Ü.N.D.E., Pallag, A., Marian, E. and EUGENIA, M. (2019). The histo-anatomical investigation and the polyphenolic profile of antioxidant complex active ingredients from three Viola species. Farmer Journal. 67: 634-640.

Kaqazloo, Z., Hemmati, K.h. and Khorasaninejad, S. (2017). The effect of height on some secondary metabolites of different organs of plant *Sambucus ebulus* L. in three cities in Golestan province. Plant Environmental Physiology. 37(12): 1-13.

Kalinova, J. and Vrchotova, N. (2011). The influence of organic and conventional crop management, variety and year on the yield and flavonoid level in common buckwheat groats. Food Chemistry. 127(2): 602-608.

Karimi, S., Arzani, A. and Saeedi, Q.A. (2014). The effect of salinity stress on antioxidant activity and leaf chlorophyll content in salinity sensitive and tolerant genotypes of *Carrthamus tinctorius* L. Plant Process and Function. 13: 25-35.

Khandan Mirkohi, A., Kazemi, F., Babalar, M. and Naderi, R. (2014). The effect of limiting the use of phosphorus in height control and improving the quality of ordinary geranium *Pelargonium hortorum*. Science and Technology of Greenhouse Cultivation. 63-69.

Laura, A., Moreno-Escamilla, J.O., Rodrigo-García, J. and Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. In Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables. 1: 253-271.

Li, W., Tan, L., Zou, Y., Tan, X., Huang, J., Chen, W. and Tang, Q. (2020). The E_ects of Ultraviolet A/B Treatments onAnthocyanin Accumulation and Gene Expression inDark-Purple Tea Cultivar 'Ziyan' (Camellia sinensis). Molecules. 25.

Mahboubi, M. and Kashani, L.M. (2018). A Narrative study about the role of Viola odorata as traditional medicinal plant in management of respiratory problems. Advances in Integrative Medicine. 3: 112-118.

Moradi, H., Haddadinejad, M., Yavari, A.R., Mohamadi Azni, M., Mosavi, S.M. and Hosseini, S.M.A. (2020). Evaluation of morphological, phytochemical traits and antioxidant content of Some *Viola odorata* L. ecotypes from three natural habitants of Mazandaran province. Plant Ecophysiology. 43: 74-85.

Mazaraie, A.L. 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. 29: 90-105.

Mirokili, F., Mosleh, A., Sarafraz ardakani, M.R. and Sodaizadeh, H. (2019). Investigation of the effect of salinity stress on some morphological, biochemical and *Securigera securidaca* L. Antioxidant of medicinal plant. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 1: 32-33.

Mozafarian, V.A. (2013). Recognition of medicinal and medicinal plants of Iran. Contemporary Farhangmoaser, Tehran. 1444p.

Mykhailenko, O., Gudžinskas, Z., Kovalyov, V., Desenko, V., Ivanauskas, L., Bezruk, I. and Georgiyants, V. (2020). Effect of ecological factors on the accumulation of phenolic compounds in Iris species from Latvia, Lithuania and Ukraine. Phytochemical Analysis. 5: 545-563.

Nabavi, S.J., Zali, S.H., Ghorbani, J. and Kazemi, S.Y. (2015). The effect of habitat on quality and quantity of the extracts plant cones from *Juniperus Communis*. Journal of Medicinal Plants. 4(3): 311-318.

Nikkhah amiabad, H., Hoseini, B., Ghosta, Y. and Fatahi, M. (2017).

Effect of altitude and different phenological stages on phytochemical properties and activity. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 1: 16-30.

Omrani nejad, S.M.H. and Rezvani aghdam, A. (2019). Investigation and comparison of phytochemical and antioxidant active compounds and activities *Oliveria decumbens* vent. Antioxidant essential oil of various ecotypes of medicinal plants In Khuzestan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 4: 14-25.

Pandey, G., Khatoon, S., Pandey, M.M. and Rawat, A.K.S. (2018). Altitudinal variation of berberine, total phenolics and flavonoid content in *Thalictrum foliolosum* and their correlation with antimicrobial and antioxidant activities. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine. 9(3): 169-176.

Saboora, A., Dadmehr, K.H. and Ranjbar, M. (2013). Total phenolic and flavonoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 29: 281-295.

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 of Medical Sciences. 17: 68-75.

Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American journal of Enology and Viticulture. 28(1): 49-55.

Sori, M.K. (2015). Phosphorus in agriculture and the environment with emphasis on management and measurement methods. Agricultural Education and Extension Publications, Tehran. 350p.

Stankovic, M.S., Niciforovic, N., Topuzovic, M. and Solujic, S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanuml*. var. *montanum, F. supinum* (L.) Reichenb. Biotechnology and Biotechnological Equipment. 25(1): 222-227.

Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A. and Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. Medicines. 5(3): 93.

Vagner, V.V. (1979). Restrictive sums of external operatives and their natural extension. Sov, 2: 4-14.

Yang, F. and Miao, L.F. (2010). Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. Silva Fennica. 44(1): 23-27.

Yazdanpanah, E. (2018). Profile of the authors of the article the effect of vegetative factors on the amount of polyphenols in the medicinal plant *Tanacetum polycephalum*.

Venu, L.N. and Austin, A. (2020). Antiviral efficacy of medicinal plants against respiratory viruses: Respiratory Syncytial Virus (RSV) and Coronavirus (CoV)/COVID 19. J Pharmacol. 9(4): 281-290.

Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G. and Tavili, A. (2019). Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. Scientific Reports. 9(1): 1-15.

Zobayed, S.M., Afreen, F. and Kozai, T. (2005). Temperature stress can alter the photosyntheticefficiency and secondary metabolite concentration in st. Journal of Plant Physiology and Biochemistry. 43(10): 977-984.