بررسی تنوع فیتوشیمیایی عصاره اتانولی پوست درخت *Fraxinus excelsior* L. در رویشگاه‌های مختلف جنگل‌های هیرکانی در استان مازندران

معصومه سلیمانی‌رحیم‌آبادی[۱]، سیدمحمدحسینی نصر[۲*]، حمید جلیلوند[۳]، سیدمحمد حجتی[۲]، پوریا بی‌پروا[۴]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
[۲]دانشیار، گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
[۳]استاد، گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
[۴]استادیار، گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۹/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۳/۸

چکیده

زبان‌گنجشک (*Fraxinus excelsior* L.)، گونه‌ای جنگلی با فعالیت‌های همه‌جانبه بیولوژیکی و دارویی است که از عصاره اندام‌های مختلف آن به‌عنوان الگویی برای ساخت ترکیبات جدید در درمان بیماری‌های مختلف انسان استفاده می‌شود. در این تحقیق به‌منظور بررسی چگونگی تاثیرپذیری خصوصیات بیوشیمیایی این گونه جنگلی از شرایط محیطی، چهار رویشگاه پرچینک، امره، الندان و قارن‌سرا با حدود ارتفاعی ۲۰۰ تا ۱۴۰۰ متری، در حوزه آبخیز تجن و سیاهرود در استان مازندران انتخاب شدند. در هر رویشگاه نمونه‌های پوست از سه درخت (تکرار) در فصل تابستان برداشت شد. استخراج عصاره‌ها به روش خیساندن با اتانول صورت گرفت. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی عصاره‌ها با استفاده از کروماتوگرافگازی متصل به طیف‌سنج جرمی مورد شناسایی قرار گرفت و مشخصه‌های فیزیکو شیمیایی خاک نیز اندازه‌گیری شد. مقادیر مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده شامل بنزن – اتانول (۳۰/۳۳– ۵۱/۳۵ درصد)، دی– آلوز (۶/۲۰– ۳۱/۷۲ درصد)، اسکوپولتین (۱۴/۶۵– ۲۶/۸۳ درصد)، تیروزول – استات (۵/۳۷– ۹/۰۶ درصد)، کارواکرول (۰–۴/۹۳ درصد)، هومو وانیل – الکل (۳/۸۴– ۶/۵۳ درصد) در چهار رویشگاه مورد نظر با افزایش ارتفاع افزایش یافت که با عناصر غذایی پرمصرف خاک رابطه منفی مشاهده شد. در این میان تنها پلی فنول تیروزول–استات رفتاری متفاوت از سایر ترکیبات داشته به نوعی که با عامل ارتفاع از سطح دریا رابطه منفی و با مقادیر کربن و فسفر قابل‌جذب خاک همبستگی مثبت نشان داد. نتایج حاکی از تاثیرپذیری ترکیبات شیمیایی پوست درخت از شرایط رویشگاهی است. با توجه افزایش میزان مواد موثره پوست در ارتفاعات بالاتر که طبعا باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر پاتوژنها می‌شود، به نظر می‌رسد کاشت این گونه در ارتفاعات به منظور تامین اهداف چندگانه در جنگل‌کاری‌ها بازدهی بیشتری دارد.

واژه‌های کلیدی: اسکوپولتین، پوست، زبان‌گنجشک، کارواکرول، مازندران

*نویسنده مسئول: : mhn1946@gmail.com

مقدمه

با توجه به تخریب منابع جنگلی، یکی از رویکردهای امیدوارکننده‌ای که برای حفاظت از عرصه‌های جنگلی می‌توان در نظر گرفت، برداشت محصولات غیرچوبی توسط ساکنان محلی است، که از جمله این محصولات می‌توان به خواص دارویی گیاهان اشاره نمود (Acebey et al., 2010) در جوامع جنگلی اندام‌های رویشی و زایشی درختان حاوی مواد مؤثره مختلفی هستند (Mehri rad et al., 2016). گیاهان طیف وسیعی از این مواد را در واکنش به تعاملاتشان با محیط تولید می‌کنند، این مواد از طریق ویژگی‌های مختلف دارویی، آفت‌کشی و ضدمیکروبی حفاظت از گیاه را تضمین می‌کنند (Talamound et al., 2015). از آن جا که گیاهان طیف بسیار متنوعی از ترکیبات شیمیایی را ایجاد می کنند این یک پتانسیل بزرگ برای کشف و توسعه داروهای جدید است (McChesney et al., 2007). از طرفی تجاری‌سازی این محصولات می‌تواند انگیزه اقتصادی کافی برای حفاظت از جنگل‌ها را نیز فراهم نماید (Belcher et al., 2005).

موضوع گیاهان دارویی به عنوان یکی از اولویت‌های اصلی و ستاره‌دار کشور، هم به جهت توجه بیشتر عموم به طب سنتی و هم به دلیل پتانسیل بالای اشتغال‌زایی و درآمدزایی تعیین شده‌است اما اغلب مطالعات و پژوهش‌ها در این زمینه معطوف به گونه‌های مرتعی است. این در حالیست که گونه‌های جنگلی نیز به علت داشتن متابولیت‌های ثانویه، اهمیت جهانی و کاربرد وسیع در زمینه‌های گوناگون دارند (Mehri rad et al., 2016). از جمله این گونه‌های جنگلی می‌توان به درخت زبان‌گنجشک اشاره نمود. زبان‌گنجشک با نام علمی *Fraxinus excelsior* L. از خانواده Oleaceae می‌باشد. به‌طور کلی گونه‌های جنس Oleaceae در طب سنتی مناطق مختلف جهان برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Kostova and Lossiva, 2007). گونه زبان‌گنجشک یکی از گونه‌های پرکاربرد جنگلی است که آن را به‌عنوان گیاهی با فعالیت‌های همه جانبه بیولوژیکی و دارویی در نظر گرفته‌اند و از عصاره‌های آن به‌عنوان الگویی برای طراحی داروها و ساخت ترکیبات جدید در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود (Sarfraz et al., 2017). پوست و به خصوص برگ درخت برای اهداف درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و معمولاً با خاصیت ضد التهابی، ضد افسردگی و درمانی خود شناخته شده‌است (Vamanu and Mihaela Ilic, 2015). تا به امروز ترکیبات مختلفی از جمله کومارین‌ها، فلاونوئیدها، کوئرستین، روتین، اسکوپولتین و اسکولتین، benzoquinones, phenylethanoids، secoiridoid glucosides، مشتقات ایندول و فنولیک‌های ساده از گونه *F .excelsior* گزارش شده است (Middleton et al., 2005; Sultana et al., 2018). از نظر بیولوژیکی نیز زبان‌گنجشک در زیستگاه‌های متنوعی از جمله مناطق نیمه بیابانی تا محیط‌های گرمسیری و معتدل و از سطح دریا تا ارتفاعات دیده می‌شود (Hinsinger et al., 2013) و سازگاری این گونه با طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی باعث شده تا در جنگل کاری‌ها بسیار مورد استفاده قرار گیرد. *F.excelsior* از نظر سختی چوب شهرت جهانی دارد و به‌دلیل فراوانی و سریع الرشد بودن به‌طور گسترده در صنایع مبل‌سازی استفاده می‌شود (Vamanu and Mihaela Ilic, 2015; Kaveh et al., 2014).

عوامل محیطی بر تولید متابولیت‌های ثانویه تاثیر می‌گذارد و سنتز و تجمع مناسب متابولیت‌های ثانویه کاملا به صورت مکانی و زمانی تحت تاثیر تغییرات محیط غیر زنده و زنده قرار می‌گیرد بنابراین عوامل محیطی تعیین کننده‌ای اصلی در بیوسنتز و نوسانات

تولید متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شوند (Li et al., 2020) به عبارتی همبستگی بالایی بین منشأ جغرافیایی گیاهان‌دارویی و ترکیبات مؤثره تولید شده در آن‌ها وجود دارد (Bertome et al., 2007) ، که از این همبستگی و ارتباط می‌توان برای پیدا کردن مناسب‌ترین شرایط رویشگاهی به‌منظور به‌دست آوردن بالاترین میزان متابولیت‌های ثانویه در درختان بهره برد.

در پژوهش حاضر تلاش شده تا با توجه به تاثیرپذیری خصوصیات بیوشیمیایی گیاهان دارویی از عوامل محیطی، تاثیر برخی از این عوامل بر روی مقدار ترکیبات دارویی تولیدشده در پوست درخت زبان‌گنجشک مورد بررسی قرار گیرد. پوست گیاهان منبع غنی‌تری از پلی‌فنول‌های فعال زیستی نسبت به سایر اندام‌های درختی به حساب می‌آید که تا حدی به دلیل نقش محافظتی آن است (Garsia perez et al., 2012). در خصوص گونه مورد بررسی نیز عصاره پوست درخت زبان‌گنجشک دارای املاح ضدالتهابی شبیه به دیکلوفناک می‌باشد و پوست درخت *F.excesior* به مدت طولانی به‌عنوان تب بر و ضد درد مورد استفاده بوده است و از آن برای درمان زردی و مشکلات کلیوی، درمان تصلب شرایین وهایپر کلسترولمی نیز استفاده می‌شود (Middleton et al., 2005). پوست خشک ساقه یا شاخه درخت زبان گنجشک به‌عنوان یک ماده ادرار آور، ضد درد، قابض ضدرماتیسم و ضدفلوژیستیک کاربرد بسیاری در کشورهای چین، ژاپن و کره دارد (Akter et al., 2020).

همچنین در عصاره اتانولی پوست گونه‌ی دیگری از زبان گنجشک با نام *Fraxinus rhynchophylla* نیز ترکیباتی نظیر *fraxidin* (Eyles et al., 2007) ، *esculetin* و *sculin* (Liu et al., 2005) ، *scopoletin* (Jung et al., 2011)، *calycanthoside* و *scopolin* (Li et al., 2013) در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است. به‌طورکلی گونه‌های این جنس از دیرباز به علت دارا بودن خواص ضد التهابی، ملین بودن، برطرف کننده یبوست، برطرف کننده درد آرتروز و درمان خارش در مکان‌های مختلف دنیا به‌عنوان داروی سنتی مورد استفاده بوده است (Akter et al., 2020).

انجام چنین پژوهش‌هایی برای انتخاب مکان مناسب به‌منظور کاشت گونه زبان گنجشک و گونه‌هایی نظیر آن که کاربردهایی چند جانبه دارند لازم به نظر می‌رسد. چرا که با انتخاب رویشگاه‌های مناسب برای کاشت این گونه، در کنار احیای اراضی تحریب‌شده، بهره‌برداری و استفاده صنعتی از چوب آن و برخورداری از نقش‌های اکولوژیکی و حفاظتی در اکوسیستم، می‌توان بازدهی کاشت این گونه از نظر خواص دارویی را نیز افزایش داد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: به منظور بررسی اثر رویشگاه بر میزان ترکیبات ثانویه پوست گونه زبان‌گنجشک پس از جنگل‌گردشی و بررسی کتابچه‌های طرح جنگلداری پارسل ١٤ سری یک پرچینک، پارسل١٤ سری پنج امره، پارسل ۲۳ سری ٦ النـدان، پارسل ۲۳ سری چهار قارن‌سرا در حوزه‌های آبخیز سیاهرود و تجن واقع در استان مازندران جهت نمونه‌برداری انتخاب شدند، انتخاب رویشگاه‌ها به صورتی بود که یک گرادیان ارتفاعی ۱۲۰۰ متری با اختلاف ارتفاع حدود ٤٠٠ متر بین نقاط مختلف پوشش داده شود. برخی ویژگی‌های توپوگرافی و جغرافیایی هریک از مناطق ذکر شده به همراه پوشش‌های علفی کف عرصه در جدول ذیل آورده شده است (جدول ۱). پارسل‌های مذکور دارای پایه‌های ون دست‌کاشت بوده و بین سال‌های ۸۰ تا ۸۲ جنگل‌کاری شده.

جدول ۱: مشخصات محیطی رویشگاه‌های مورد مطالعه

رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا (m)	شیب (درصد)	جهت	موقعیت جغرافیایی	بافت خاک	مواد آلی (٪)	پوشش‌های گیاهی همراه
پرچینک	۲۰۰	٦	جنوب غربی	Y: 36 27 50.11 X:53 0 32.324	رسی- لومی	۱۰/۱	تمشک[۱] – کارکس[۲]– گرامینه[۳]– توت فرنگی وحشی[٤] – گزنه سفید[٥]– ترشک[٦] –گزنه[۷] و پیچک[۸]
امره ١٤	٦۰۰	۱۰	شمال	Y: 36 23 40.75 X:53 6 47.398	لومی	۹/۹	تمشک
الندان	۱۰۰۰	۱	شمال‌شرقی	Y: 36 13 26.46 X:53 26 4.540	لومی	۵/۱۹	کارکس– گرامینه – تمشک – ترشک شبدری[۹]– آقطی[۱۰]– توت فرنگی وحشی– کاسنی[۱۱]
قارن سرا	١٤۰۰	١٤	جنوب- غربی	Y: 36 12 27.74 X: 53 10 24.91	لومی	١٥,٦	کارکس – گزنه سفید– بنفشه[۱۲] – گرامینه – النا[۱۳]– فرفیون[١٤]

اسامی علمی پوشش‌علفی همراه:

1. *Rubus hyrcanus*, 2. *Carex sylvatica*, 3. *Gramineae*, 4. *Fragaria vesca*, 5.*Lamium album Rumex*, 6.*crispus*, 7.*Urtica*, 8. *Convolvulus*, 9. *Oxalis acetosella*, 10. *Sambucus ebulus*, 11.*Cichorium intybus*, 12. *Viola odorata*, 13. *Oplismenus undulatifolius*, 14.*Ephorbia amygduliodes*

نمونه‌برداری پوست و خاک: در هر یک از مناطق ذکر شده پوست تنه سه درخت که از نظر ویژگی‌های کیفی بیشترین شباهت را به یکدیگر داشتند جمع‌آوری شد. نمونه‌های پوست در تمامی درختان در جهات مختلف در ارتفاع یکسان و در ابعاد یکسان جمع‌آوری گردید. نمونه‌برداری در فصل تابستان (مرداد) انجام گرفت و نمونه‌های جمع‌آوری شده در هوای آزاد خشک شد. پس از آسیاب کردن نمونه‌های خشک‌شده، پنج گرم وزن خشک نمونه در بیست میلی‌لیتر اتانول‌ابسولوت حل شد و نیم ساعت التراسونیک شد. پس از گذشت سه ساعت نمونه با فیلتر سرسرنگی PTFE ۰/٤٥ میکرومتر صاف شد و نمونه‌های صاف شده به دستگاه GC (مدل 7890A دارای طیف سنج جرمی به مدل 5975C، ویژگی‌های ستون HP-5MS(30m×0.25mm×0.25µm)، ساخت شرکتAgilent Technology آمریکا) تزریق شد. سپس شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره مورد بررسی با توجه به ترکیبات و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ای دستگاه کروماتوگراف گازی صورت پذیرفت. درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهنده نیز با توجه به سطح زیر منحنی در طیف کروماتوگرام به دست آمد. به منظور بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک نیز یک نمونه خاک به صورت ترکیبی از اطراف پایه‌های منتخب از عمق ۰-۱۵ سانتی‌متری برداشت شد. سپس مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نظیر وزن مخصوص‌ظاهری، pH، کربن‌آلی، نیتروژن کل، فسفر، پتاسیم و کلسیم قابل‌جذب در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (Ehyaei and Behbahanizadeh, 1993; Jafari haghighi, 2003).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

بررسی نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون Shapiro-wilk انجام شد، پس از اطمینان از نرمال

بودن داده‌ها بررسی چگونگی اختلاف ترکیبات شیمیایی موجود در پوست درخت زبان گنجشک در نقاط نمونه‌برداری به کمک تجزیه واریانس یکطرفه انجام گرفت. برای گروه‌بندی داده‌هایی که دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودن آزمون مقایسات میانگین دانکن به کار گرفته‌شد. به منظور بررسی چگونگی ارتباط ترکیبات شیمیایی با عوامل خاکی و ارتفاع از سطح دریا همبستگی پیرسون به کار گرفته شد. تمامی تجزیه‌ها در نرم‌افزار SPSS 16.0 صورت گرفت.

نتایج

پس از بررسی و تجزیه و تحلیل خروجی گاز کروماتوگرافی، ترکیبات شیمیایی شناسایی شده که دارای ارزش دارویی بوده و بین مناطق مورد بررسی مشترک بودند انتخاب شد. این داده‌ها به همراه داده‌های مربوط به ویژگی‌های مورفولوژیکی درختان ابتدا از نظر نرمال بودن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون شاپیروویلک در جداول (۲) و (۳) آورده شده‌است.

جدول ۲: نرمالیته ویژگی‌های رویشی درخت در مناطق مورد مطالعه (آزمون Shapiro-wilk)

ویژگی‌های مورفولوژیکی	میانگین±اشتباه معیار	معنی‌داری
ارتفاع درخت	۹/٤٤±۰/۹۵	۰/۲۷ ns
قطر برابر سینه	۱۰/۱۱±۰/۷	۰/۳۵ ns
قطر یقه	۱۲/٤±۰/٦۵	۰/۸ ns

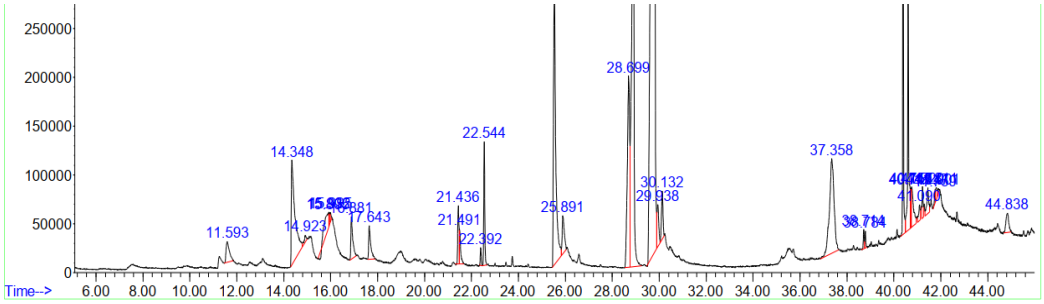
ns عدم وجود ارتباط معنی‌دار

جدول ۳: ترکیبات شیمیایی مشترک در پوست درخت در مناطق مورد مطالعه (آزمون Shapiro- Wilk)

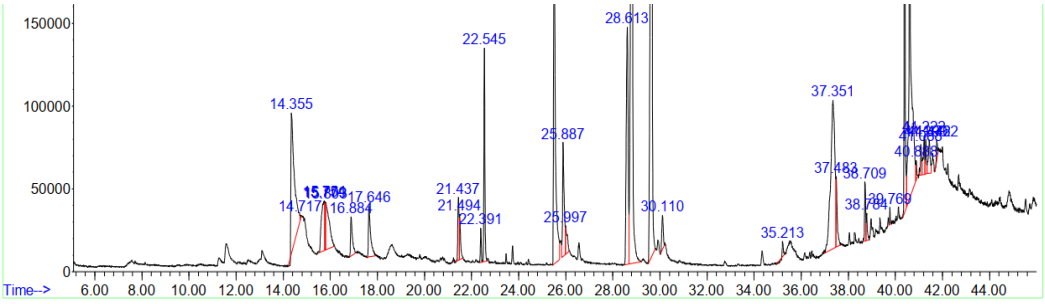
ترکیبات شیمیایی موجود در پوست زبان گنجشک	میانگین±اشتباه معیار	معنی‌داری
Benzeneethanol	۳۸/۲٤±۲/۸	۰/۲۹ns
D-Allose	۱٤/۹±۳/۲۲	۰/۱ns
Scopoletin	۱۸/۳۵±۱/٤۳	۰/۱۵ns
Tyrosol acetate	۷/٦۳±۰/٤۹	۰/۰۹ns
Carvacrol	۳/۸٦±۰/٤٤	۰/۰۹ns
Homovanillyl alcohol	٤/٦±۰/۳٦	۰/۲۹ns

ns عدم وجود ارتباط معنی‌دار

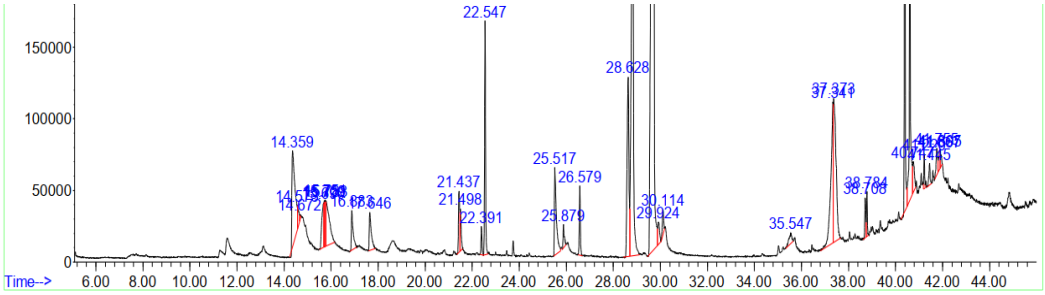
ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره پوست زبان‌گنجشک که در رویشگاه‌های مورد بررسی مشترک بودند به همراه زمان ارائه شده در خروجی کروماتوگراف گازی و درصد کمی ترکیبات در جدول ٤ ارائه شده است. همچنین با توجه به اینکه در هر یک از رویشگاه‌ها سه پایه درختی به عنوان تکرار (در رویشگاه امره به سبب عدم وجود پایه‌های درختی مشابه، ۲ تکرار در نظر گرفته شد) در نظر گرفته شد و عصاره نمونه‌های پوست به دستگاه تزریق شد، کروماتوگرام‌های حاصل از آنالیز عصاره در دستگاه GC-MS در شکل‌های ۱-۱۱ گزارش شده است.



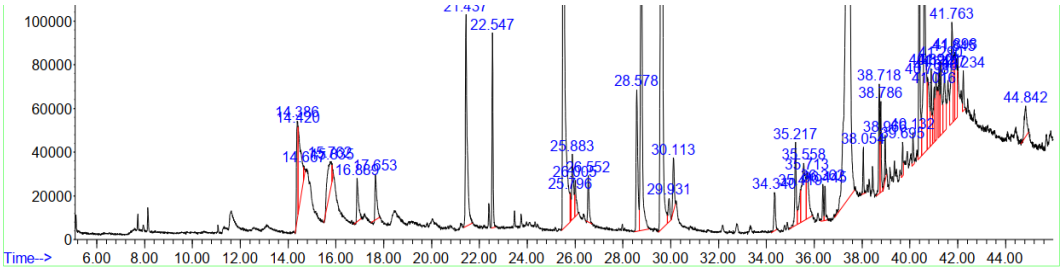
شکل ۱: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۱ از رویشگاه پرچینک



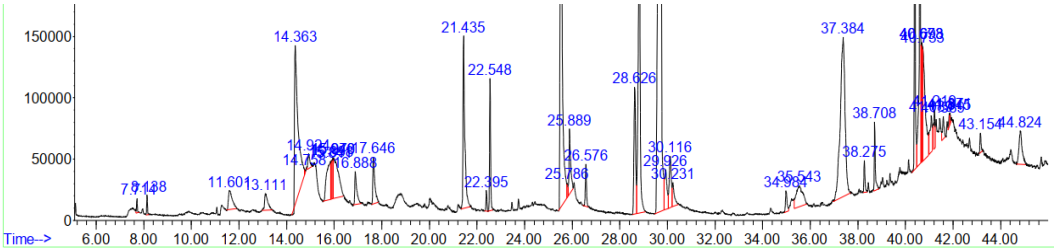
شکل ۲: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۲ از رویشگاه پرچینک



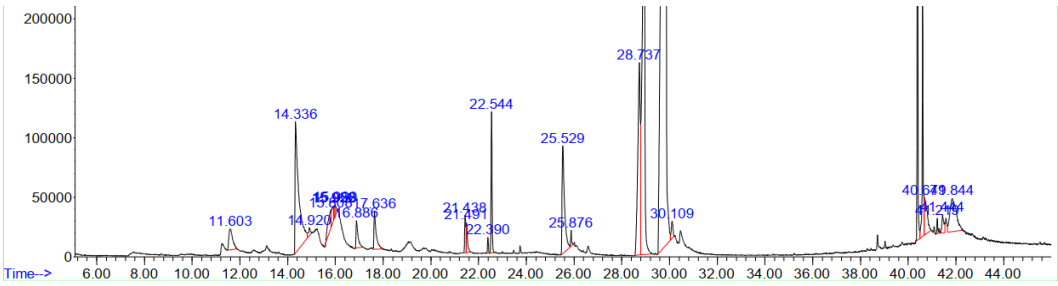
شکل ۳: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۳ از رویشگاه پرچینک



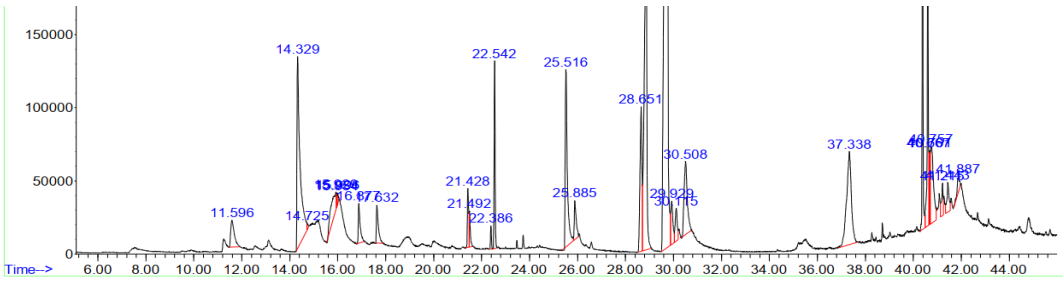
شکل ٤: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۱ از رویشگاه امره



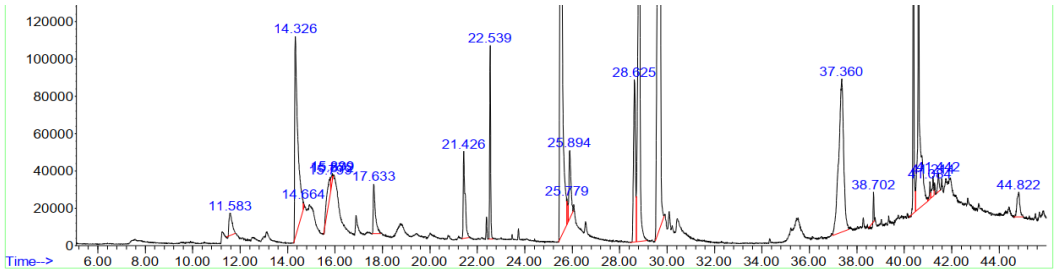
شکل ۵: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۲ از رویشگاه امره



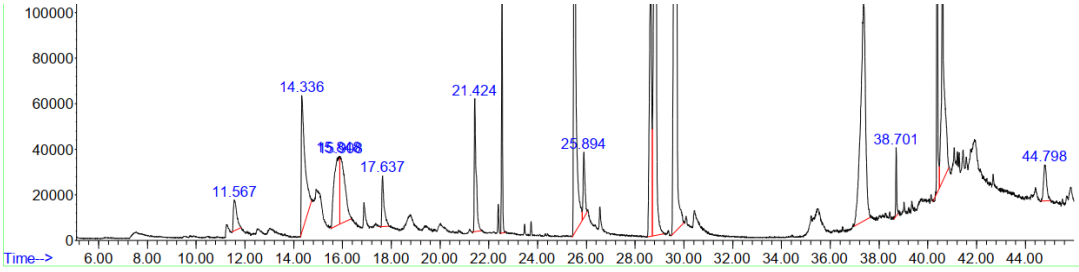
شکل ٦: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۱ از رویشگاه الندان



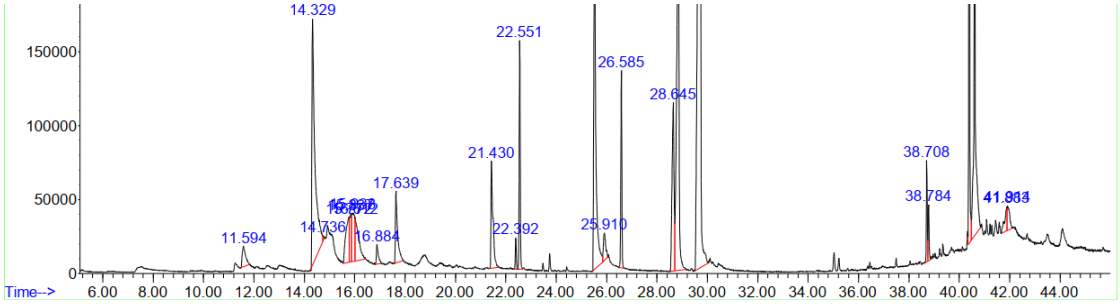
شکل ۷: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۲ از رویشگاه الندان



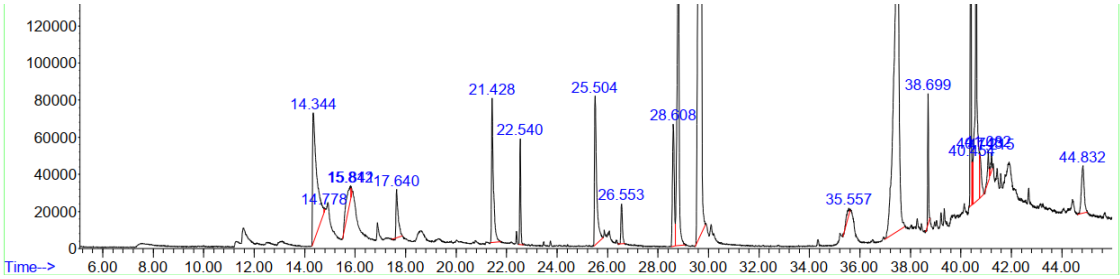
شکل ۸: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۳ از رویشگاه الندان



شکل۹: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۱ از رویشگاه قارنسرا



شکل ۱۰: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۲ از رویشگاه قارنسرا



شکل ۱۱: کروماتوگرام GC عصاره پوست درخت شماره ۳ از رویشگاه قارنسرا

جدول ٤: درصد ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در پوست زبان‌گنجشک در رویشگاه‌های مورد بررسی

ترکیبات شیمیایی پوست	زمان مشاهده ترکیبات در GC بر حسب دقیقه	رویشگاه پرچینک	رویشگاه امره ١٤	رویشگاه الندان	رویشگاه قارن سرا
Benzeneethanol C8H10O	١٤/٣	٣٠/٣٣	٣٦/٩٧	٤٦/٩٩	٥١/٣٥
D-Allose $C_6H_{12}O_6$	١٥/٩	٦/٢٠	١٢/٢٤	٢٥/٣٩	٣١/٧٢
Scopoletin $C_{10}H_8O_4$	٢٥/٨	١٤/٦٥	١٦/٩١	٢٣/٠٣	٢٦/٨٣
Tyrosol acetate $C_{10}H_{12}O_3$	١٧/٦	٩/٠٦	٧/١٣	٦/٥٥	٥/٣٧
Carvacrol $C_{10}H_{14}O$	٤٠/٩	–	٢/٢٧	٣/٨٤	٤/٩٣
Homovanillyl alcohol $C_9H_{12}O_3$	١٦/٨	٣/٨٤	٤/٤٩	٥/٤٧	٦/٥٣

نتایج آنالیز واریانس ویژگی‌های مورفولوژیکی درخت و ترکیبات شیمیایی موجود در پوست به ترتیب در جداول ٥ و ٦ گزارش شده‌است. نتایج تجزیه واریانش نشان داد که مناطق مورد بررسی که در نقاط ارتفاعی مختلف واقع شده بودند به‌طور محسوس و معنی‌داری باعث ایجاد تفاوت در ویژگی‌های موفولوژی و خواص دارویی درخت زبان گنجشک شده است.

جدول ۵: تجزیه واریانس ویژگی‌های رویشی درخت در مناطق مورد مطالعه

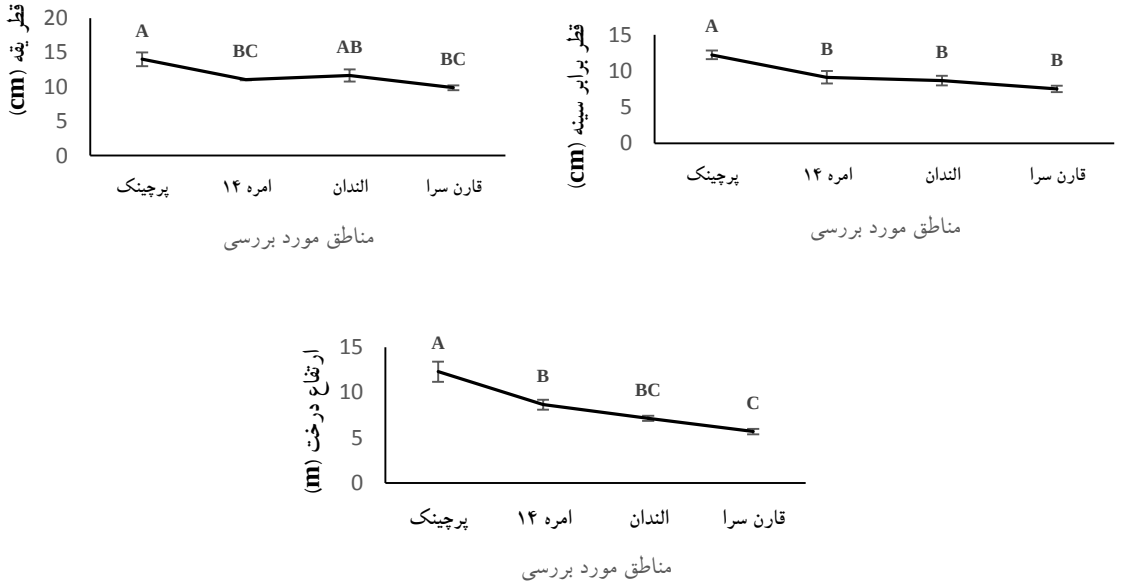
مشخصات رویشی	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
ارتفاع درخت	۳	۲٤/۱۹۷	۱۸/٦٥**
قطر برابر سینه	۳	۱۱/٥۳۳	۱۱/٥۳**
قطر یقه	۳	٥/۳۷۸	٥/۳۸*

**معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد *معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد

جدول ٦: تجزیه واریانس ترکیبات شیمیایی موجود در پوست زبان گنجشک در مناطق مورد مطالعه

نام ترکیب	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
Benzeneethanol	۳	۲٦٥/۳٥	٥۰/۸**
D-Allose	۳	۳۹٦/۰٥	۲٥۸/۹**
Scopoletin	۳	۸۹/۲۳	۸۷/۱۰**
Tyrosol acetate	۳	۷/۱۰۹	۸/٦**
Carvacrol	۳	۱۳/٦٥	۳٥/٤**
Homovanillyl alcohol	۳	٤/۰۲٤	۸/٦**

**معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد *معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد

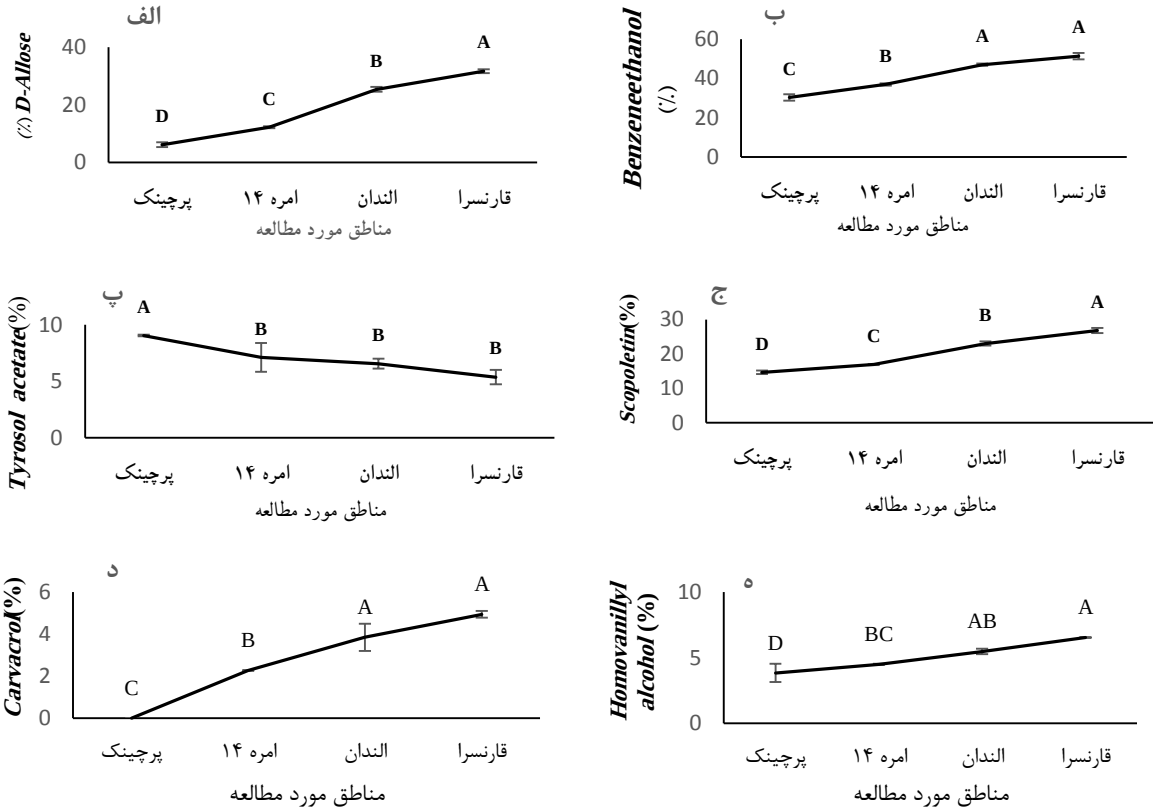


شکل ۱۲: نمودار مقایسات میانگین ویژگی‌های رویشی درخت در رویشگاه‌های مورد بررسی

با توجه به اینکه واریانس داده اختلاف معنی‌داری را در نقاط مختلف نشان داد، مقایسات میانگین به کمک آزمون دانکن برای گروه‌بندی و تفکیک مناطق انجام شد. نمودارهای مقایسات میانگین در شکل‌های ۱۲ و ۱۳ به‌ترتیب مربوط به داده‌های مورفولوژیکی و ترکیبات شیمیایی پوست درخت زبان‌گنجشک آورده شده‌است. همان‌طور که در نمودار دیده می‌شود با افزایش ارتفاع از سطح دریا از میزان ارتفاع درخت، قطر برابر سینه و قطر یقه درخت کاسته می‌شود. به عبارتی بیشترین مقدار رویش درخت زبان گنجشک

در رویشگاه پرچینک با ارتفاع ۲۰۰ متری و کمترین مقدار رویش در منطقه قارن سرا با ارتفاع ۱٤۰۰ متر از سطح دریا می‌باشد.

مقایسات میانگین ترکیبات شیمیایی پوست درخت زبان‌گنجشک نشان داد که بیشترین مقدار *D-Allose* (شکل۱۳- الف)، *Benzeneethanol* (شکل۱۳- ب)، *Scopoletin* (شکل۱۳-ج)، *Carvacrol* (شکل ۱۳- د) و *Homovanillyl alcohol* (شکل ۱۳-ه)، در منطقه قارن‌سرا و در ارتفاع ۱٤۰۰ متری از سطح دریا وجود دارد و کمترین مقدار ترکیبات گفته شده در منطقه پرچینک با ارتفاع ۲۰۰ متری مشاهده شد. همچنین نتایج نشان دهنده عدم وجود ترکیب *Carvacrol* در پوست درخت زبان‌گنجشک در رویشگاه پرچینک می‌باشد. ترکیب *Tyrosol acetate* (شکل۱۳- پ) با افزایش ارتفاع از سطح دریا کاهش یافت به‌طوری که بیشترین مقدار آن به ترتیب در درختان منطقه پرچینک، امره ۱٤، النـدان و قارن‌سرا مشاهده شد.



شکل۱۳: نمودار مقایسات میانگین ترکیبات شیمیایی موجود در پوست درخت زبان‌گنجشک در رویشگاه‌های مورد بررسی

آنالیز واریانس یکطرفه و مقایسات میانگین به‌منظور بررسی وجود یا عدم وجود تفاوت ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در رویشگاه‌های مورد بررسی صورت گرفت و نتایج در جدول ۷ گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تمامی ویژگی‌های مورد بررسی خاک به غیر از هدایت‌الکتریکی و کلسیم قابل جذب در چهار رویشگاه دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

جدول ۷: آنالیز واریانس و گروه‌بندی دانکن خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در مناطق مورد بررسی

منبع تغییر	F	پرچینک	امره ١٤	الندان	قارن
رطوبت (٪)	١١/٩٩**	٢٠/٢٤c	٢٨/١٦b	٢٠/٧٣c	٣٥/٥٩a
وزن مخصوص (g/m^3)	٣/٣٦*	١/٧٩a	١/٦a	١/٠٩b	١/٦١a
رس (٪)	٧/٦٤**	٣٧/٢a	٣٠/٣٦abc	١٣/٠٨d	٢٢/٤٩c
سیلت (٪)	٤/١٥٨*	٤١/٩٢a	٣٦/٩١a	٤٥/٢٣a	٤٠/٥٦a
شن (٪)	٦/٦**	٢٠/٨٨d	٣٢/٧٣bc	٤٠/٩٦ab	٣٦/٩٤bc
واکنش خاک	٤/٢٣**	٦/٦ab	٦/٥٥bc	٦/٢٤bc	٦/٠١c
هدایت الکتریکی	٠/٩٧ns	٥٢٠/٦٦	٥٢٧	٥١٤	٥٠٧/٦٦
کربن آلی (٪)	٩/٦٢**	٥/٨٦ab	٥/٧٥ab	٣/٠١c	٣/٥٦c
نیتروژن کل (٪)	١/٩٥ns	٠/١٥	٠/١٨	٠/١٢	٠/١٦
فسفر قابل جذب (ppm)	١٤/٣٣**	٢/٥٢a	٢/٦١a	١/١٩bc	٠/٤٨c
پتاسیم قابل جذب (ppm)	٣/١٢*	١٢٦٨/٧٨a	١٠٣٤/٩٥ab	٨٨٣/٤abc	٥٩١/٩٣bc
کلسیم قابل جذب (ppm)	٢/٤ns	٢٢٢/٦٦	١٥٣/٠٥	١٨٣/٤	١٣٩/٧٣

**معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد *معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد ns عدم وجود ارتباط معنی‌دار

نتایج همبستگی دوگانه پیرسون بین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و ارتفاع از سطح دریا با ترکیبات شیمیایی موجود در پوست زبان گنجشک در جدول ذیل ارائه شده است. همان‌طور که در جدول ۸ مشاهده می‌شود نتایج همبستگی پیرسون نشان داد که تمامی ترکیبات موجود در پوست به غیر از *Tyrosol acetate* با ارتفاع از سطح دریا همبستگی مثبت دارند. بین ترکیبات شیمیایی مشاهده شده در پوست و سیلت، وزن مخصوص ظاهری و ازت کل خاک همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. رطوبت خاک نیز تنها با ترکیب *homovanillyl alcohol* دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار بود. همچنین تمامی ترکیبات به غیر از *Tyrosol acetate* که با کربن و فسفر دارای همبستگی مثبت است با عناصر کربن، نیتروژن‌کل، فسفر، پتاسیم و کلسیم قابل‌جذب دارای رابطه منفی هستند.

جدول ۸: همبستگی پیرسون ترکیبات شیمیایی موجود در برگ با ویژگی‌های فیزیوشیمیایی خاک

ترکیب	ارتفاع	رطوبت	وزن مخصوص	رس	شن	سیلت	pH	کربن	ازت	فسفر	پتاسیم	کلسیم
Y١	٠/٩٩**	٠/٦ns	-٠/٤ns	-٠/٧**	٠/٧٦**	٠/٠٥ns	-٠/٦ns	-٠/٧*	-٠/٠١ns	-٠/٨٥**	-٠/٨**	-٠/٤ns
Y٢	٠/٩٨**	٠/٥ns	-٠/٥ns	-٠/٨**	٠/٧٤**	٠/١٥٦ns	-٠/٦٨*	-٠/٨**	-٠/٠٦ns	-٠/٩**	-٠/٨**	-٠/٥ns
Y٣	٠/٩٧**	٠/٦ns	-٠/٤ns	-٠/٧*	٠/٧٣*	٠/٠٦ns	-٠/٧*	-٠/٧**	-٠/٠٤ns	-٠/٩**	-٠/٩**	-٠/٥ns
Y٤	-٠/٩**	-٠/٤ns	٠/٤ns	٠/٧٦**	-٠/٧٣*	-٠/١٧ns	٠/٧٤**	٠/٧*	-٠/٠٦ns	٠/٨**	-٠/٧٦**	-٠/٦١*
Y٥	٠/٩٦**	٠/٥ns	-٠/٤ns	-٠/٧٣*	٠/٧٩*	٠/٠٣ns	-٠/٦ns	-٠/٧*	-٠/٠٥ns	-٠/٨**	-٠/٨٤**	-٠/٦٣*
Y٦	٠/٩**	٠/٦*	-٠/٢ns	-٠/٥ns	٠/٤٦ns	٠/١٧ns	-٠/٦ns	-٠/٥ns	-٠/٠٣ns	-٠/٨**	-٠/٧*	-٠/٣ns

Y١: *Benzeneethanol ;* Y٢:*D-Allose;* Y٣:*Scopoletin;* Y٤: *Tyrosol acetate;* Y٥: *Carvacrol;* Y٦: *Homovanillyl alcohol*

**معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد *معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد ns عدم وجود ارتباط معنی‌دار

بحث

طبق نتایج به‌دست آمده مقادیر صفات مورفولوژیکی درختان با افزایش ارتفاع از سطح دریا کاهش یافت. ون گونه‌ای پر نیاز است و به طور کلی در ارتفاعات پایین‌تر از نظر عناصرغذایی و رطوبت شرایطی بهتر از طبقات ارتفاعی بالاتر دارد (Alizadeh et al., 2017). به‌طور کلی همراه با افزایش ارتفاع، عوامل محیطی از جمله دما، رطوبت، فشارهوا و مقدار تابش نور خورشید تغییر می‌کنند، همراه با تغییر در عوامل‌محیطی تغییر در ساختار و فیزیولوژی گیاهان نیز در طول گرادیان ارتفاعی دور از انتظار نیست (Lykholat et al., 2006). در پژوهشی که توسط Alizadeh و همکاران (۲۰۱۷) بر روی خصوصیات مورفولوژیکی ون تحت شرایط مختلف محیطی صورت گرفت بیان شد که مقدار قطر یقه درختان در طبقه ارتفاعی ۱۷۰۰-۱۵۰۰ متری در مقایسه با طبقه ارتفاعی ۱۷۰۰- ۱۹۰۰ متری و در جهت جنوبی بیشترین مقدار است. بیشترین ارتفاع و شادابی درخت نیز به‌ترتیب در جهات شرقی و شمالی و در کلاسه شیب ۰-۲۰ درصد گزارش شد.

Dobrowolska و همکاران (۲۰۱۱) ، به بررسی ویژگی‌های گونه *F.excelsior* برای تعیین مناسب‌ترین شرایط جهت جنگل‌کاری این گونه پرداختند. بررسی-ها نشان داد که این گونه در سن ٦٠ تا ٧٥ سالگی به قطری برابر ٦٠ سانتی‌متر می‌رسد. زبان‌گنجشک در طیف وسیعی از شرایط رویشگاهی به جز در خاک-های اسیدی به خوبی رشد می‌کند. خاک‌های لومی، با کلسیم و منیزیم بالا و غلظت کم آلومینیوم برای این گونه بسیار مناسب است. زبان گنجشک گونه‌ای پر نیاز است و به عناصر نیتروژن، کلسیم، منیزیم و فسفر به مقدار زیاد احتیاج دارد. Thomas (۲۰۱٦) ، نیز در پژوهش خود به بررسی نیازهای دو گونه *F.excelsior* و *Ulmus glabra*، پرداخت نتایج نشان داد که هر دو گونه اسیدیته، نیتروژن و رطوبت بالای خاک را ترجیح می‌دهند و زبان‌گنجشک گونه‌ای نیتروفیلی با تقاضای زیاد برای جذب عناصر نیتروژن، فسفر، کلسیم و منیزیم می‌باشد. به این ترتیب نتایج پژوهش حاضر با تحقیقات صورت گرفته در مورد نیازهای رویشی گونه زبان گنجشک هم‌راستا می‌باشد. به‌طوریکه با افزایش ارتفاع از سطح دریا و کاهش عناصر غذایی پر مصرف خاک به‌ویژه نیتروژن از میزان رشد قطری و ارتفاعی درخت کاسته شد.

در پژوهش حاضر وجود ترکیبات ارزشمندی چون *D-Allose*، *Benzeneethanol*، *Scopoletin*، *Carvacrol*، *Homovanillyl alcohol*، *Tyrosol acetate* در عصاره پوست درخت زبان گنجشک مشاهده شد. گلوکز، مونوترپن‌ها و ترکیبات فنولیکی که در برخی پژوهش‌ها به وجود آن‌ها در سایر گونه‌های جنس *Oleacea* نیز علاوه بر گونه زبان گنجشک اشاره شده است. تا به امروز ترکیبات مختلفی از جمله کومارین‌ها، فلاونوئیدها، کوئرستین، روتین، اسکوپولتین، اسکولتین از گونه *F .excelsior* گزارش شده‌است (Kostova et al., 2007، Sultana et al., 2018)، Atanzio و همکاران در سال (۲۰۱۹) در پژوهش خود نیز به وجود ترکیباتی چون فنولیک‌های ساده، تیروسول و هیدروکسی تیروسول در عصاره اتیل‌استات شیره درخت *F.excelsior* و ترکیباتی چون elenolic acid، tyrosol، hydroxytyrosol، catechin، verbascoside، gallic acid، procyanidin-B1 و luteolin 3,7 glucoside در گونه *Fraxinus angustifolia* اشاره کردند. در عصاره اتانولی پوست درخت *Fraxinus rhynchophylla* نیز ترکیباتی نظیر fraxidin (Eyles et al., 2007) ، esculetin و sculin (Liu et al., 2005) ، scopoletin (Jung et al., 2011) ، calycanthoside و scopolin (Li et al., 2013) گزارش شده است. Shaza anwar و Mohammad

(2014) بیان کردند که برگ‌های درخت زیتون (*Olea europea* L.) از خانواده Oleaceae منبع خوبی از ترکیبات فنولی نظیر تیروسول، هیدروکسی تیروسول، وانیلین، وانیلیک اسید و کافئیک اسید و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر verbascoside و oleuropein و ترکیبات فلاونوئیدی نظیر luteolin، rutin و catechin می‌باشد.

D-Allose، یک قند نادر و یک ایزومر فضایی از گلوکز است که به مقدار محدود در طبیعت وجود دارد این قند را قند جنین نیز می‌نامند (Hashimoto et al., 2013) ، مطالعات مربوط به عملکرد فیزیولوژی *D-All* به‌طور متداول بر عملکرد آن به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهارکننده استرس تاکید دارد که البته مهم‌ترین عملکرد آن نیز به حساب می‌آید (Shintani et al., 2020). پژوهش‌ها نشان داده است که D-Allose مانع جذب گلوکز توسط سلول‌های سرطانی می‌شود و از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند (Noguchi et al., 2016). وجود D-Allose تاکنون در گیاهانی چون *Halodule pinifolia*، *Tamarindus indica* و *Crataeva nurvala* نیز گزارش شده است (Shintani et al., 2020). برخی مطالعات نشان داده است که *D-All* اثر محافظتی بر روی بقا سلول دارد (Sui et al., 2007) ، همچنین می‌تواند آسیب بافتی را کاهش دهد (Tanaka et al., 2011).

Scopoletin، از نظر دارویی ترکیبی ارزشمند است (Uddin Khanand Hossain, 2015) این ترکیب یک کومارین است که در بسیاری از گونه‌ها، جنس‌ها و خانواده‌ها از جمله *Oleaceae*، *Fagaceae*، *Aceraceae* در غلظت‌های مختلف و در اندام‌های مختلف یافت می‌شود (Gnonlonfin et al., 2012). کومارین‌ها از جمله مشخصه‌های جنس *Fraxinus* هستند (Lee et al., 2020) و به‌طور طبیعی در گونه‌های این جنس به فراوانی وجود دارند (Kostova and Iossifova, 2007) و در عین حال سطح آن‌ها بسیار متغیر است (Whitehill et al., 2012). یکی از ترکیبات مهم ایجاد کننده تفاوت در میان درختان زبان گنجشک از نظر حساسیت به بیماری زوال زبان-گنجشک نیز وجود یا عدم وجود کومارین‌هاست (Nemesio goriz et al., 2020) مطالعات نشان داده آن دسته از درختان زبان گنجشک که بیشتر در معرض حمله آفت سوسک زبان گنجشک قرار می‌گیرند به غیر از Scopoletin دارای مقادیر کمتر کومارین‌ها هستند (Qazi et al., 2018; Villari et al., 2016). به‌دلیل فراوانی و تنوع طبیعی کومارین‌ها و نقش آن‌ها در دفاع از گیاهان، گونه‌های *Fraxinus* گونه‌هایی ایده‌آل برای مطالعه مکانیسم‌های بیوسنتز و تنظیم این ترکیبات نیز هستند (Sollars et al., 2017). اخیرا پژوهش‌هایی انجام شده که نشان می‌دهد میزان حساسیت درختان *Fraxinus* در برابر بیماری زوال زبان‌گنجشک در ژنوتیپ‌های مختلف این گونه متفاوت است و یکی از بهترین راه‌های تشخیص میزان حساسیت گونه‌ها ارزیابی ترکیبات شیمیایی موجود در پوست آن‌هاست (Nemesio goriz et al., 2020) به عبارتی مشخصات متابولومیکس ابزاری ایده آل برای شناسایی و درک عوامل ایجاد کننده تمایز بین گروه‌های مختلف از نظر میزان این حساسیت است (Cleary et al., 2014; Sambles et al., 2017; Sollars et al., 2017). چرا که این روش دارای بازدهی بالا بوده و فقط به مقدار کمی ماده رویشی نیازمند است. با توجه به اینکه حساسیت کم به بیماری زوال زبان گنجشک از نظر ژنتیکی قابل وراثت است (Munoz et al., 2016). پس با استفاده از این روش و شناسایی درختان با حساسیت کم می‌توان آن‌ها را با هدف جمع آوری مجموعه‌ها به عنوان ماده اولیه برای تولیدمثل (Plumb et al., 2019) و تکثیر

رویشی (Douglas et al., 2017) استفاده کرد. در پژوهش حاضر نیز با توجه به افزایش میزان اسکوپولتین با افزایش ارتفاع از سطح دریا می‌توان نتیجه گرفت که درختان رشد یافته در ارتفاعات بالاتر گونه‌هایی مقاوم‌تر به حمله قارچ عامل بیماری زوال زبان‌گنجشک هستند.

کارواکرول یک مونوترپن است که می‌توان آن را در روغن‌های فرار گیاهان معطر یافت (Naghdi badi et al., 2017). و به‌صورت گسترده در صنایع غذایی و آرایشی استفاده می‌شود (Naghdi badi et al., 2017). از کارواکرول به عنوان افزودنی ضد باکتری در غذا و خوراکی، طعم‌دهنده غذا و در دندانپزشکی نیز استفاده می‌شود (Kachur and Suntres, 2019). از جمله خواص این ترکیب فعالیت ضدمیکروبی، ضد جهش سلولی، ضدتومور، ضددرد، ضداسپاسم، ضدالتهاب، ضدانگل، محافظ کننده کبد می‌باشد، کارواکرول موجود در گیاهان دارویی سبب بهبود ناراحتی‌های گوارشی و روده‌ای و درمان سوزش معده می‌شود (Baser et al., 2008). غلظت این ترکیب بسته به آب و هوا، روند استخراج و تغییرات فصلی متفاوت است (Santoyo et al., 2006; Oussalah et al., 2007). Carvacrol توسط گونه‌های گیاهی به عنوان یک مکانیسم دفاعی شیمیایی بر اثر قرار گرفتن در معرض عوامل بیماری زا یا تنش‌های محیطی تولید می‌شود (Naghdi badi et al., 2017). در پژوهش حاضر Carvacrol در رویشگاه پرچینک مشاهده نشد. در برخی از پژوهش‌ها به وجود رابطه معنی‌دار میان نیتروژن خاک و ترکیبات ترپنوئیدی اشاره شده است به عنوان مثال بیان شده که نیتروژن می‌تواند انتشار ترپنوئید را از طریق افزایش نرخ انتقال الکترون و فتوسنتز برگ‌ها که نیازهای ATP و قابلیت دسترسی زیرلایه کربن را برای سنتز ایزوپرن (Isoprene) فراهم می‌کنند افزایش دهد و به این ترتیب نیتروژن می‌تواند به تولید ترپنوئید کمک نماید (Blanch et al., 2007; Ormeno et al., 2011). این در حالی است که نه تنها میان نیتروژن کل خاک با کارواکرول رابطه معنی‌داری مشاهده نشد بلکه هیچ یک از ترکیبات شناسایی شده پوست با نیتروژن همبستگی معنی‌داری نشان ندادند. همچنین در پژوهشی که توسط Karimi و همکاران در سال ۲۰۲۰ صورت گرفت بیان شد که کارواکرول موجود در گیاه آویشن ارتباط معنی‌داری با دما، اسیدیته و کلسیم خاک دارد. در پژوهش حاضر نیز رابطه معکوس و معنی‌داری میان اسیدته و کلسیم خاک با کارواکرول موجود در پوست مشاهده شد (Karimi et al., 2020).

تیروزل-استات نیز یکی از اجزای مهم خانواده پلی فنول‌هاست. ترکیبی است که در درخت زیتون نیز وجود دارد، این ترکیب شیمیایی دارای خواص ضدباکتریایی است (Wei et al., 2018). *Homovanillyl alcohol* یک ترکیب شناخته شده حاصل متابولیسم هیدروکسی تیروسول است (Mateos et al., 2011). Hydroxytyrosol یک دی فنول ساده و یکی از مهم ترین اجزای خانواده پلی فنول‌ها است که در برگ‌ها و میوه‌های درخت زیتون و در روغن زیتون نیز یافت می‌شود (Kalampalik et al., 2019). Homovanillyl alcohol، tyrosol و hydroxytyrosol، ترکیبات فنولی با وزن مولکولی کم هستند که خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی دارند. با وجود دارا بودن این خواص چشمگیر کاربردهای آن‌ها بیشتر در تولید مکمل‌های غذایی و در صنایع آرایشی به عنوان تثبیت کننده‌ها محدود شده است (Berini et al., 2019). پژوهش‌ها نشان داده که Homovanillyl alcohol ترکیبی است که اثرات ضدالتهابی قوی بر روی سلول‌های سرطانی معده دارد (Serreli and Deiana, 2018).

در پژوهشی که توسط Yuan و همکاران در سال (۲۰۲۰) انجام شد. به بررسی تاثیر عوامل محیطی بر ترکیبات دارویی گونه *Dendrobium officinal* در کشور چین پرداخته شد نتایج پژوهش نشان داد که حداکثر رطوبت نسبی، اسیدیته و فسفر خاک از مهم‌ترین عوامل اکولوژیکی موثر بر فلاونوئید کل در گونه مذکور می‌باشند. Sobuj و همکاران (۲۰۱۸)، نیز که به بررسی تأثیر دمای زیاد و غلظت کربن دی اکسید بر رشد و میزان فنولیک‌ها در پوست ساقه هیبرید *Populus tremula* در فنلاند پرداختند بیان کردند که افزایش درجه حرارت سبب کاهش غلظت فنولیک‌ها از جمله سالیسیلات‌ها، فلاونوئیدها، فنولیک اسیدها، سالیرپوساید (salireposide) و لیگنان می‌شود. فلاونوئیدها نقش مهمی در فعل و انفعالات گیاه و میکروب‌ها دارند (Hassan Mathesius, 2012) از جمله، عملکردهای ضد میکروبی گیاه و واکنش‌های متقابل گیاه- میکروب. مطالعات نشان دهنده اهمیت فلاونوئیدها در میزان حساسیت *F.excelsior* به بیماری زوال زبان گنجشک است (Nemesio goriz et al., 2020). به تاثیر وجود فلاونوئیدهایی چون لیگنان در مقاومت *F.excelsior* در برابر بیماری زوال زبان‌گنجشک در پژوهش‌های دیگری چون (Qazi et al., 2018; Villari et al., 2016; Whitehill et al., 2012; Whitehill et al., 2011) نیز اشاره شده است.

هرچند ما در حال حاضر درک محدودی از چگونگی تعامل عوامل مختلف غیرزنده برای تاثیر بر تنوع فیتوشیمیایی داریم (Berini et al., 2018)، اما پژوهش‌ها حاکی از آن است که افراد مختلف یک گونه گیاهی که در محیط‌های متفاوت رشد کرده‌اند ممکن است در غلظت یک متابولیت ثانویه خاص متفاوت باشند (Verma and Shukla, 2015). طی پژوهشی که توسط Tuhami و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی گونه *Fraxinus angustifolia* در کشور تونس انجام شد، نتایج نشان داد که خواستگاه متفاوت این گونه سبب تولید مقادیر متفاوتی از پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، تانن کل و تانن تغلیظ شده در عصاره گیاه می‌شوند. به‌طوری‌که بیشترین میزان ترکیبات ذکر شده در پوست درخت رشد یافته در رویشگاهی با خاک قلیایی‌تر و دارای هدایت‌الکتریکی بیشتر ایجاد شده‌است.

در بین عوامل محیطی، خاک به خودی خود نشان دهنده یک سیستم پیچیده‌ی فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی است که نه تنها تعیین کننده میزان رشد گونه است بلکه بر شدت رشد، توزیع طبیعی آن و چگونگی توسعه و کیفیت گیاه نیز اثرگذار است (Yang et al., 2018; Zhang et al., 2019). به عبارتی ویژگی‌های خاک نقش اساسی در توانایی گیاه برای تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه دارد. در پژوهش حاضر ترکیبات شیمیایی تولید شده در پوست زبان‌گنجشک با اغلب عناصر غذایی خاک دارای ارتباط معکوس بود. Vanekova و همکاران (۲۰۲۰)، نیز در بررسی تاثیر رویشگاه بر متابولیت‌های ثانویه میوه گونه توت آبی (*Vaccinium myrtillus* L.) دریافتند رابطه‌ی معکوسی بین حاصل‌خیزی خاک و تجمع تانن‌های متراکم در گیاه وجود دارد. به عبارتی سطح آنتوسیانین (آنتوسیانین پیش ماده تولید تانن متراکم می‌باشد) در گیاهان رشدیافته در خاک‌های فقیرتر بالاتر است. Liu و همکاران (۲۰۲۰) نیز در پژوهش خود وجود ارتباط منفی میان متابولیت‌های ثانویه موجود در ریشه گیاه شیرین‌بیان با عناصر مغذی خاک مانند کربن، فسفر، پتاسیم و نیتروژن کل، پتاسیم و فسفر قابل‌جذب و موادآلی خاک را گزارش کردند.

نتیجه‌گیری نهایی

به طورکلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده تاثیر ویژگی‌های محیط رشد بر کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی تولید شده در پوست گونه مورد بررسی است. برخی ترکیبات شیمیایی در گونه‌های رشد یافته در برخی رویشگاه کمتر در برخی بیشتر و در برخی دیگر مشاهده نشد. به این ترتیب به منظور دستیابی به بیشترین بازدهی تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند در پوست زبان‌گنجشک پیشنهاد می‌شود که از این گونه درختی در جنگل‌کاری اراضی تخریب یافته و واقع در ارتفاعات بالاتر استفاده شود، همچنین با توجه به اینکه که متابولیت‌های گیاهی اجزای اصلی در تنظیم فعل و انفعالات بیوتیکی در سطح سلول بین عوامل بیماری‌زا و میزبان هستند در انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری زوال زبان‌گنجشک به منظور داشتن پایه‌هایی سالم و مقاوم در نسل‌های بعد به ترکیبات شیمیایی پوست برای شناسایی پایه‌های قوی با حساسیت پایین توجه ویژه‌ای مبذول شود.

References

1. Ali Ahyaei, M., and Behbahanizadeh, A.A. 1993. Description of soil chemical decomposition methods. Research Organization. Agricultural education and promotion. Soil and Water Research Institute. 467P (In Persian).
2. Acebey, A., Kromer, T., Maass, B.L. and Kessler, M. 2010. Ecological distribution of potentially useful species of Araceae and Bromeliaceae as non- timber forest products in Bolivia. Jornal of Biodiversity Conservation, 19: 2553-2564.
3. Alizadeh Banouti, R., Rostami shahraji, T. and Mohebi bijarpas, M. 2017. An investigation on the *Fraxinus excelsior* plantation under different situations of physiography (Case Study: Dooleychal, Masouleh, Guilan province). 70(3): 422-430.
4. Attanzio, A., D'Anneo A., Pappalardo, F., Paolo Bonina, F., Antonia Livera, M., Allegra, M. and Tesoriere, L. 2019. Phenolic composition of hydrophilic extract of Manna from Sicilian *Feaxinus angustifolia* Vahl. and its reducing, antioxidant and anti-inflammatory activity in vitro. Jornal of Antioxidants, 8:1-13.
5. Akter, K., Park, W.S., Kim, H., Khalil, A.A. Kh., and Ahn, M. 2020. Comparative studies of *Fraxinus* species from Korea using microscopic characterization, phytochemical analysis, and anti-lipase enzyme activity. Journal of Plants, 9: 1-18.
6. Belcher, B., Ruiz Peirez, M. and Achdiawan, R. 2005. Global patterns and trends in the use and management of commercial NTFPs: implications for livelihoods and conservation. Jornal of World Development, 33: 1435-1452.
7. Bertome J., Arrillage I.M., and Segura, J. 2007. Essential oil variation whitin and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. Jornal of Biochemical systematics and Ecology, 35: 479-488.
8. Baser, K.H.C. 2008. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. Journal of current pharmaceutical design, 14: 3106-3120.
9. Berini, J., Brockman, S.A., Hegeman, A.D., Reich, P.B., Muthukrishnan, R., Montgomery, R.A. and Forester, J.D. 2018. Combinations of abiotic factors differentially alter production of plant secondary metabolites in five woody plant species in the boreal-temperate transition zone. Journal of Frontiers in Plant Science, 9:1-17.
10. Bernini, R., Carastro, I., Santoni F. and Clemente, M. 2019. Synthesis of lipophilic esters of tyrosol, homovanillyl alcohol and hydroxytyrosol. Journal of Antioxidants, 8:1-9.
11. Cleary, M., Andersson, P., Broberg, A., Elfstrand. M., Daniel, G. and Stenlid, J. 2014.Genotypes of *Fraxinus excelsior* with different susceptibility to the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* and their response to the

phytotoxin viridiol–A metabolomic and microscopic study. Jornal of Phytochemistry, 102: 115-125.
12. Celedon, J.M. and Bohlmann, J. 2017. An extended model of heartwood secondary metabolism informed by functional genomics. Jornal of Tree Physiology, 38: 311-319.
13. Dobrowolska, D., Dein. S., Osterbaan, A., Wagner, S., Clarrk, J. and Skovsgaardg, P. 2011. A review of European ash: implications for silviculture. Jornal of Forestry, 84: 133-148.
14. Douglas, G.C., McNamara, J., O'Connell, K., Dunne, L. and Grant, J. 2017. Vegetative propagation of dieback-tolerant *Fraxinus excelsior* on a commercial scale in:" dieback of European ash (*Fraxinus* spp.): consequences and guidelines for sustainable management" the report on European cooperation in science & technology (COST) action FP1 103 FRAXBACK pp. 288-299 Edited by: Vasaitis R. and Enderle R. Publisher: Swedish University of Agricultural Sciences.
15. Eyles, A., Jones, W., Riedl, K., Cipollini, D., Schwartz, S., Chan, K., Herms, D.A. and Bonello, P. 2007. Comparative phloem chemistry of Manchurian (*Fraxinus mandshurica*) and two North American ash species (*Fraxinus americana* and *Fraxinus pennsylvanica*). Jornal of Chemistry and Ecology, 33: 1430–1448.
16. Gnonlonfin, G.J.B., Sanni, A. and Brimer, L. 2012. Review scopoletin – a coumarin phytoalexin with medicinal properties, Journal of plant Science, 47-54.
17. Hassan, S. and Mathesius, U. 2012. The role of flavonoids in root–rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions. Journal of experimental botany, 63: 3429-3444.
18. Hashimoto, F., Nishiumi, S., Miyake, O., Takeichi H., Chitose, M., Ohtsubo, H., Ishimori, Sh., Ninchojo, T., Hashimura, Y., Kaito, H., Morisada, N., Morioka, I., Fukuoka, H., Yoshida, M. and Iijima, K. 2013. Metabolomics analysis of umbilical cord blood clarifies changes in saccharides associated with delivery method. Journal of Early Human Development, 89: 315-320.
19. Jafari Haghighi, M. 2003. Soil decomposition methods. Nedaye Zoha Publications. 236 P. (in Persian)
20. Jung, H.A., Islam, M.D., Kwon, Y.S., Jin, S.E., Son, Y.K., Park, J.J., Sohn, H.S. and Choi, J.S. 2011. Extraction and identification of three major aldose reductase inhibitors from *Artemisia montana*. Jornal of Food Chem Toxicol, 49: 376-384
21. Kostova, I. and Iossifova, T. 2007. Chemical components of *Fraxinus* species. Journal of Fitoterapia, 78: 85-106.
22. Karuppusamy, S. 2009. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. Journal of Medicinal Plants Research**,** 3(13): 1222-1239**.**
23. Kaveh, M., Tavassoli, A., Azadi, R and Memariani, F. 2014. Morphology and micromorphology of the genus *Fraxinus* L. in Iran. Journal of Botany, 20: 188-200**.**
24. Kachur, K. and Suntres, Z. 2019. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. Journal of Food Science and Nutrition, 51: 1-13.
25. Kalampaliki, A.D., Giannouli, V., Skaltsounis, A.L. and Kostakis, I. 2019. A three-step, gram-scale synthesis of hydroxytyrosol, hydroxytyrosol acetate, and 3, 4 dihydroxyphenylglycol, Journal of molecules, 24: 1-13.
26. Karimi, A., Krahmer, A., Herwig, N., Schulz, H., Hadian, J. and Meiners, T. 2020. Original Research, 11: 1-15.
27. Liu, R., Sun, Q., Sun, A. and Cui, J. 2005. Isolation and purification of coumarin compounds from cortex *Fraxinus* by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatogram, 29: 195–199
28. Li, Q.J., Wang, M.L., Yang, X.S., Ma, L. and Hao, X.J. 2013. Two new coumarin glycosides from *Chimonanthus nitens*. Journal of Asian natural products research, 15: 270-275.

29. Liu Y., Li, Y., Luo W., and Liu, Sh. 2020. Soil potassium is correlated with root secondary metabolites and root-associated core bacteria in licorice of different ages. Journal of Plant soil, 456: 61-79.
30. Middleton, P., Stewart, F., Al-Qahtani, S., Egan, P., O'Rourke, C., Abdulrahman, A., Byres, M., Middleton, M., Kumarasamy, Y., Shoeb, M., Nahar, L., Delazar, A. and Sarker, S.D. 2005. Antioxidant, antibactrial activities and general toxicity of *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior* and *Papaver rhoeas*. Journal of Pharmaceutical Research, 2: 81-86.
31. Mateos, R., Pereira-Caro, G., Saha, S., Cert, R., Redondo-Horcajo, M., Bravo, L. and Kroon, P.A. 2011. Acetylation of hydroxytyrosol enhances its transport across differentiated Caco-2 cell monolayers. Journal of Food chemistry, 125: 865- 872.
32. Mehri-Rad, N., Payamenoor, V., and Nazari, J. 2016. Effect of base age and light on callus production of *Betula litwinowii* and induced botulin in vitro. Journal of genetic research and breeding of range and forest plants of Iran, 23:93-102. (In Persian).
33. Munoz, F., Marçais, B., Dufour, J., and Dowkiw, A. 2016. Rising out of the ashes: additive genetic variation for crown and collar resistance to *Hymenoscyphus fraxineus* in *Fraxinus excelsior*. Journal of Phytopathology, 106:1535-1543.
34. Noguchi, C., Kamitori, K., Hossain, A., Hiroshi, H., Ayako, K., Youyi, D., Li S., Tokuda, M. and Fuminori, Y. 2016. DAllose inhibits cancer cell growth by reducing gLUT1 expression. The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 238: 131-141.
35. Naghdi Badi, H., Abdollahi, M., Mehrafarin, A., Ghorbanpour, M., Toylat, M., Gaderi, A. and Ghiaci, Y. 2017. An overview on two valuable natural and bioactive compounds, thymol and carvacrol, in medicinal plants. Journal of Medicinal Plants, 16(63): 1-32
36. Nemesio-Gorriz, M., Menezes, R.M., Paetz, Ch., Hammerbacher, A., Steenackers, M., Schamp, K., Hofte, M., Svatos, A., Gershenzon, J. and Douglas, G.C. 2020. Metabolomics in *Fraxinus excelsior*; identification and validation of biochemical markers for tolerance to ash dieback. Journal of Experimental Botany, 6-30.
37. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E-coli O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Control, 18 (5):414-420.
38. Ormeno, E. and Fernandez, C. 2012. Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. Journal of Current Bioactive Compounds, 8: 71-79
39. Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J. and Reglero, G. 2006. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: Determination of optimal extraction parameters. Journal of Food Protection, 69 (2): 369-375.
40. Plumb, W.J., Coker, T.L., Stocks, J.J., Woodcock, P., Quine, C.P., Nemesio-Gorriz, M., Douglas, G.C., Kelly, L.J. and Buggs, R.J. 2019. The viability of a breeding programme for as in the British Isles in the face of ash dieback. Journal of Plants People Planet, Issue 1.
41. Qazi, S., Lombardo, D. and Abou-Zaid, M. 2018. A metabolomic and HPLC-MS/MS analysis of the foliar phenolics, flavonoids and coumarins of *the Fraxinus* species resistant and susceptible to emerald ash borer. Journal of Molecules, 23, 2734.
42. Richard, A.G., Mafuru, C.S., Paul, M., Kayombo, C.J., Kashindye, A.M., Chirenje, L.I. and Musamba, E.B. 2011. Human activities influencing deforestation on meru catchment forest Reserve. Tanzania. Journal of Human Ecoligy, 33(1):17-20.
43. Shaza Anwar, A.L. and Frdoos Mohammad, A.F. 2014. Antibacterial activity of various plants extracts against antibiotic-resistant *Aeromonas*

hydrophila. Journal of jondishapur microbial, 7(7): 1-7.

44. Sui, L., Nomura, R., Dong, Y., Fominori, Y., Ken, I. and Massaki, T. 2007. Cryoprotective effects of d-allose on mammalian cells. Journal of Cryobiology, 55: 87–92.
45. Sambles, C.M, Salmon, D.L., Florance, H., Howard, T.P., Smirnoff, N., Nielsen, L.R., cKinney, L.V., Kjaer, E.D., Buggs, R.J.A. and Studholme, D.J. 2017. Ash leaf metabolomes veal differences between trees tolerant and susceptible to ash dieback disease. Journal of cientific data, 4:170-190.
46. Sarfraz, I., Rasul, A., Jabeen, F., Younis, T., Zahoor, M.K., Arshad, M., and Ali, M. 2017. *Fraxinus*: A plant with versatile pharmacological and biological activities. Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 34: 1-12.
47. Sancho-Knapik, D., Sanz, M.A., Peguero-Pina, J.J, Niinemets, U. and Gil-Pelegrin, E. 2017. Changes of secondary metabolites in *Pinus sylvestris* L. needle under increasing soil water deficit. Journal of Annals of Forest Science, 74: 24-29.
48. Sollars, E.S.A., Harper, A.L., Kelly, L.J., Sambles, C.M., Ramirez-Gonzalez, R.H., Swarbreck, D., Kaithakottil, G., Cooper, E.D., Uauy, C. and Havlickova, L. 2017. Genome sequence and genetic diversity of European ash trees. Journal of Nature, 541- 212.
49. Sultana, Sh., Ali, M., Jameel, M. and Sharma, P. 2018. Chemical constituents from the leaves of *Fraxinus excelsior* L., *Senna sulfurea* (Collad.) H.S. Irwin et Barneby and *Prosopis cineraria* (L.) Druce. Journal of Trend phytochemical research, 2(4): 243-252.
50. Shintani, T. 2019. Food industrial production of monosaccharides using microbial, enzymatic, and chemical methods. Journal of Fermentation, 5:47.
51. Sobuj, N., Virjamo, V., Yaodan, Zh., Nybakken, L. and Julkunen-Titto, R. 2019. Impacts of elevated temperature and CO2 concentration on growth and phenolics in the sexually dimorphic *Populus tremula* (L.). Joiurnal of Environmental and Experimental Botany, 146: 34-44.
52. Serreli, G. 2018. Deiana, M. Biological relevance of extra virgin olive oil polyphenols metabolites. Journal of Antioxidants, 7: 170-175.
53. Tanaka, S. 2011. Sakamoto H. effects of d-allose on the endocytic activity of dendritic cells and the subsequent stimulation of T cells. Journal of Cell Immunol, 271: 141–146.
54. Talamond, P., Verdeil, J.L. and Conejero, G. 2015. Secondary metabolite localization by autofluorescence in living plant cells. Journal of Molecules, 20: 5024- 5037.
55. Thomas, P.A. 2016. Biological flora of the British Isles: *Fraxinus excelsior*. Journal of Ecology, 104: 1158-1209.
56. Touhami, I., Ghazghazi, H., Sellimi, H., Khaldi, A. and Mahmoudi, H. 2017. Antioxidant activities and phenolic contents of bark and leave extracts from Tunisian native tree: *Fraxinus angustifolia* Vahl. Subsp. *Angustifolia*, Journal of New sciences, 45(5): 2496-2501.
57. Uddin Khan, N.M.M. and Hossain, Md.S. 2015. Scopoletin and β-sitosterol glucoside from roots of *Ipomoea digitata*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 4(2): 5-7.
58. Vamanu, E. and Ilie, A.M. 2015. Antioxidanet and inhibition of xanthine oxidase potentials of fluidized bed extracts from leaves of the ash tree. Journal of Natural products, 11: 81-89.
59. Verma, N. and Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 1-7.
60. Villari, C., Herms, D.A., Whitehill, J.G., Cipollini, D. and Bonello, P. 2016. Progress and gaps in understanding mechanisms of ash tree resistance to emerald ash borer, a model for wood-boring insects that kill angiosperms. Journal of New Phytologist, 209: 63-79.
61. Vanekova, Z., Vanek, M., Skvarenina, J., and Nagy M. 2020. The influence of local habitat and microclimate on the levels of secondary metabolites in Slovak

bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits. Journal of Plants, 9: 1-11.

62. Whitehill, J.G., Popova-Butler, A., Green-Church, K.B., Koch, J.L, Herms, D.A. and Bonello, P. 2011. Interspecific proteomic comparisons reveal ash phloem genes potentially involved in constitutive resistance to the emerald ash borer, Journal of Chemical ecology, 38: 499-511.
63. Yang, L., Wen. K.S., Ruan, X., Zhao, Y.X., Wei, F. and Wang, Q. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. Journal of Molecules, 23: 762.
64. Yuan, Y., Tang, X., Jia, Zh. , Li, Ch., Ma, Jieyi. and Zhang, J. 2020. The effects of ecological factors on the main medicinal components of *Dendrobium officinale* under different cultivation modes. Journal of Forests, 11: 1-16.
65. Zhang, D., Qi, Q., Tong, S., Wang, X., An, Y., Zhang, M. and Lu, X. 2019. Soil degradation effects on plant diversity and nutrient in tussock meadow wetlands. Journal of Soil Scientific Plant Nutrient, 1–10.
66. Lee, B.Z., Kim, K.M., Chae, S., Jeong, S., Lee, S., Hong, K. and Lee, I.S. 2020. New coumarins isolated from the stem bark of *Fraxinus rhynchophylla* inhibit human neutrophil elastase and LPS-induced inflammation in RAW 264.7 cells, Journal of Phytochemistry Letters, 35: 78-83.

Phytochemical Study of Ethanolic Extract of *Fraxinus excelsior* L. in Different Habitats of Hyrcanian Forests in Mazandaran Province

Soleimany rahimabadi, M.[1], Hosseini nasr, S.M.[2*], Jalilvand, H.[3], Hodjati, S.M.[2], Biparva, P.[4]

[1]Ph.D. Student, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[2]Associate Professor, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[3]Professor, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[4]Assistant Professor Decomposition Chemistry Group, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 7-12-2020 Accepted: 29-5-2021

Abstract

Fraxinus excelsior L. is a forest species with versatile biological and medicinal activities that its extracts are used as a model for making new compounds in the treatment of various human diseases. In this study, in order to investigate how the biochemical characteristics of this forest species are affected by environmental conditions, four habitats of Perchink, Amreh, Alandan and Qarnsara with an altitude of 200 to 1400 meters, were selected in Tajan and Siahroud watersheds located in Mazandaran province. In each habitat, skin samples were taken from 3 trees (repeated) in summer. Ethanol extracts were obtained by maceration and were analyzed by GC/MS and the physical and chemical properties of the soil samples were measured. The most important compounds of extracts were included: benzeneethanol (30.33-51.35%), d-allose (6.20-31.72%), scopoletin (14.65-26.83%), tyrosol acetate (5.37-9.06%), carvacrol (0-4.93%), homovanillyl alcohol (3.84- 6.53%) which increased with increasing altitude. Also, there was negative relationship between the identified compounds and soil nutrients. Among them, only polyphenol tyrosol acetate behaved differently from the other compounds in a way that showed a negative relationship with the altitude factor and a positive correlation with the amount of carbon and absorbable phosphorus in the soil. Also, the chemical composition of d-allose was not observed in Perchink habitat. These results were showed that the chemical properties of this tree skin are affected by habitat conditions, which caused increases the species' resistance to pathogens. As a result, considering that the amount of active ingredients in this species was higher at higher altitudes and the presence of these compounds increases the resistance to pathogens, it seems planting this species is more productive at higher altitudes to achieve multiple goals in afforestation.

***Keywords*:** *Fraxinus excelsior* L., Skin extract, Scopoltin, Carvacrol, Mazandaran province

*Corresponding author; mhn1946@gmail.com