

## Evaluation of physiological and phytochemical in four different species of *Alcea* spp. collected from central region of Iran

Bit a Sharifi<sup>1</sup>, Kramatollah Saeidi<sup>1\*</sup> , Behrouz Shiran<sup>2</sup>, Ehsan Shahbazi<sup>2</sup>,  
Zahra Lori Gooini<sup>3</sup>, Mahshid Rahimifard<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, Email: saeidi@sku.ac.ir

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

<sup>3</sup>Department of Agronomy and Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

<sup>4</sup>Medical Plants Research Centre, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, Iran.

<sup>4</sup>Medical Plants Research Centre, Research institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran.

### Article type:

Research article

### Abstract

In view of enriched secondary metabolites in *Alcea* L., this study was carried out in order to determine and compare the bioactive compounds and their correlation with antioxidant activity in flowers and roots of different species of *Alcea*. Seeds of different ecotypes of *Alcea* collected from Isfahan, Chaharmahal and Bakhtiari, Lorestan, and Markazi provinces. The study was arranged in a randomized complete block design in the Research Farm of Shahrekord University in summer 2018. Herbarium specimen were prepared and transferred to the Research Institute of Forests and Rangelands, and ultimately four different species of *A. rufecense*, *A. schiraziana*, *A. lavateriflora*, and *A. rechingeri* were identified. Physiological traits including percentage of extract and mucilage of flowers and roots were measured along with phytochemical traits, namely total phenolics, flavonoids, anthocyanins, and antioxidant activity of flowers using spectrophotometry. The results of analysis of variance indicated a significant difference between species and ecotypes ( $P \leq 0.01$ ). Results of mean comparisons showed the highest percentage of extract, mucilage, total phenolics, and flavonoids contents were recorded in flowers of *A. rufecense* species. Also, the highest root mucilage and total anthocyanins contents and also the lowest  $IC_{50}$  of the flowers were recorded in *A. lavateriflora* species. In addition, the highest percentage of flower extract, root mucilage, flower mucilage, and total flavonoid content were observed in Sch6, Rech3, Ruf1, Sch4, respectively. Also, the highest total phenol and anthocyanin content and the lowest  $IC_{50}$  of flowers were observed in Lav4. Findings suggest that physiological and phytochemical studies can be used along with morphological studies for more accurate identification of ecotypes and species. It was also found that this plant is a very rich and affordable source of mucilage and antioxidant compounds, and by choosing the suitable species and ecotype, the highest number of these compounds can be achieved.

### Article history

Received: 22-12-2022

Revised: 16-01-2023

Accepted: 18-01-2023

### Keywords

*Alcea* sp.  
Anthocyanin  
Antioxidant  
Ecotype  
Flavonoid  
Mucilage  
phenolic

**Cite this article as:** Sharifi, B., Saeidi, K., Shiran, B., Shahbazi, E., Lori Gooini, Z., Rahimifard, M. (2023). Evaluation of physiological and phytochemical traits in four different species of *Alcea* spp. collected from central region of Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plant.*, 11(2): 21-39.



©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Doi: 10.30495/ejmp.2023.1975643.1712

Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.2.2.5



## بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیائی ۴ گونه مختلف از جنس گیاه دارویی *Alcea spp.* جمع‌آوری شده از مناطق مرکزی ایران

بی‌تا شریفی<sup>۱</sup>، کرامت‌اله سعیدی<sup>۱\*</sup> (ORCID ID)، بهروز شیران<sup>۲</sup>، احسان شهبازی<sup>۲</sup>، زهرا لری گوئینی<sup>۳</sup>، مهشید رحیمی‌فرد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، رایانامه: [saeidi@sku.ac.ir](mailto:saeidi@sku.ac.ir)

<sup>۲</sup> گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشگاه علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۴</sup> بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	مطالعه اخیر با توجه به غنی بودن گیاه <i>Alcea L.</i> از نظر متابولیت‌های ثانویه، با هدف اندازه‌گیری و مقایسه ترکیبات موثره و بررسی ارتباط بین این ترکیبات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، در گل و ریشه گیاه ختمی انجام گرفت. بذر ۲۲ اکوتیپ مختلف از گیاه ختمی از استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، لرستان و مرکزی جمع‌آوری و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد، در تابستان ۱۳۹۷، کشت گردید. نمونه‌های هرباریومی برای هر اکوتیپ تهیه و برای شناسایی به موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور منتقل شدند که نهایتاً ۴ گونه <i>A. lavateriflora</i> ، <i>A. schiraziana</i> ، <i>A. rufecense</i> و <i>A. rechingeri</i> شناسائی گردید. صفات فیزیولوژیکی (درصد عصاره، موسیلاژ گل و موسیلاژ ریشه) اکوتیپ‌ها اندازه‌گیری شدند. صفات فیتوشیمیائی گل (محتوای فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) اکوتیپ‌ها نیز با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردیدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گونه‌ها و اکوتیپ‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بود. نتایج مقایسه میانگین صفات بیشترین درصد عصاره، موسیلاژ، محتوای فنول و فلاونوئید کل گل را در گونه <i>A. rufecense</i> و بیشترین موسیلاژ ریشه، محتوای آنتوسیانین کل و کمترین $IC_{50}$ گل را در گونه <i>A. lavateriflora</i> نشان داد. همچنین بیشترین درصد عصاره گل، موسیلاژ گل، موسیلاژ ریشه و محتوای فلاونوئید کل گل به ترتیب در اکوتیپ‌های Sch6، Ruf1، Sch4 و Rec3 و بیشترین محتوای فنول و آنتوسیانین کل و کمترین $IC_{50}$ گل در اکوتیپ Lav4 مشاهده گردید. بنابراین می‌توان از مطالعات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیائی در کنار مطالعات مورفولوژیکی برای تشخیص دقیق‌تر گونه‌ها، استفاده نمود. همچنین مشخص گردید این گیاه منبع بسیار غنی و مقرون به صرفه‌ای از موسیلاژ و ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشد که با انتخاب صحیح گونه و اکوتیپ می‌توان به بالاترین میزان ترکیبات یاد شده، دست یافت.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۱	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۲۶	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸	
<b>واژه‌های کلیدی:</b>	
آنتوسیانین	
آنتیاکسیدان	
اکوتیپ	
ختمی	
فلاونوئید	
فنول	
موسیلاژ	

**استناد:** شریفی، بی‌تا؛ سعیدی، کرامت‌اله؛ شیران، بهروز؛ شهبازی، احسان؛ لری گوئینی، زهرا؛ رحیمی‌فرد، مهشید. (۱۴۰۲). بررسی ویژگی‌های

فیزیولوژیکی و فیتوشیمیائی ۴ گونه مختلف از جنس گیاه دارویی *Alcea spp.* جمع‌آوری شده از مناطق مرکزی ایران. فصلنامه

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۲)، ۲۱-۳۹.



## مقدمه

بیشترین تنوع آن به جنوب غربی آسیا محدود شده است. ارتفاعات ارمنستان و کردستان منطقه اختصاصی این جنس در نظر گرفته می‌شود. در فلور ایران ۳۴ گونه *Alcea* یافت می‌گردد که ۱۵ گونه بومی ایران هستند (Arabameri et al., 2020). در طب سنتی ایران از ریشه *Alcea rosea* برای درمان بیماری‌های مختلفی نظیر برونشیت، اسهال، التهاب، سرفه و آئزین استفاده می‌گردد (Saima et al., 2021).

بر اساس تحقیقاتی که در مورد خواص فیتوشیمیایی عصاره برگ *Alcea rosea* انجام گرفت، این گیاه از نظر ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH با اسید اسکوربیک کاملاً قابل مقایسه بوده است و این نشان‌دهنده غنی بودن این گیاه از نظر ترکیبات آنتی‌اکسیدان است. همچنین ارزیابی محتوای فنول و فلاونوئید کل در این گیاه، وجود مقادیر قابل توجهی از این ترکیبات را نشان داد. واضح است که بخش اعظم فعالیت و خواص دارویی در گیاهان، مربوط به وجود متابولیت‌های ثانویه در آن‌ها می‌باشد که در بسیاری از موارد، ترکیبات فنولی بخش عمده این متابولیت‌ها را تشکیل می‌دهند (Akhtar akhi, 2020).

اگرچه تاکنون ۱۷ آنتوسیانیدین از بافت‌های گیاهی استخراج شده است و اغلب آنها فقط در ساختارهای زایشی مشاهده شده‌اند، تعداد ۶ آگلیکون (پلارگونیدین، سیانیدین، پتونیدین، دلفینیدین، پتونیدین و مالویدین) در اندام‌های رویشی تشخیص داده شده‌اند (Landi et al, 2015). در عصاره گل *A.rosea* اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، فلاونوئید گلیکوزیدها و آنتوسیانوزایدها مشاهده شده‌اند (Nicolau and Gostin, 2016). طی مطالعه‌ای رنگیزه‌های گل ختمی سیاه از گونه '*Alcea rosea* 'Nigra' آنتوسیانیدین‌هایی نظیر سیانیدین، دلفینیدین، پتونیدین و مالویدین و ترکیبات فلاونوئیدی شامل میریستین، کامفرول و لوتولین گزارش گردیدند (Hosaka et al.,

گیاه ختمی از دسته نهانانگان، دو لپه‌ای‌ها، راسته پنیرک‌سانان<sup>۱</sup> و تیره پنیرک<sup>۲</sup> می‌باشد. در ایران از این تیره جنس‌های *Hibiscus* با پنج گونه که گاهی درختی یا درختچه‌ای هستند، یافت می‌گردد. جنس‌های *Alcea* و *Althaea* از دیگر جنس‌های این تیره می‌باشند که گونه‌های متعلق به آنها همگی علفی، چند ساله و به ندرت یکساله هستند (Mozaffarian, 2015). این گیاه در گرگان، آذربایجان‌های غربی و شرقی، کردستان، اصفهان، اراک، لرستان و خراسان (کلات نادری) پراکندگی دارد. جنس *Alcea* در ایران بیش از ۳۰ گونه دارد که در سراسر ایران و اغلب در باغ‌ها، کناره‌های مزارع و بعضاً در نقاط دامنه‌ای کوهستانی پراکنده‌اند. گل‌های گونه‌های مختلف، به ویژه آنهایی که به رنگ زرد یا سفید هستند توسط مردم محلی برای رفع سرفه و معالجه سرماخوردگی بکار می‌روند که شاید بتوان گفت شباهت اسمی سبب این کاربرد گردیده است، زیرا در ایران به گونه‌های مختلف جنس‌های *Althaea* و *Alcea Hibiscus* ختمی گفته می‌شود. این گیاهان در طب سنتی ایران شهرت داشته و برخی از گونه‌های آن عبارتند از ختمی گوشه‌دار، شیرازی، تبریزی، تهرانی، همدانی، قفقازی، برگ انجیری، رگه‌دار، بدون کرک، مزرعه روی، دمگل دراز و موصلی (Mozaffarian, 2015). در میان گیاهان این تیره ختمی دارویی<sup>۳</sup> و گل ختمی یا ختمی بری<sup>۴</sup>، پنیرک موریتانی<sup>۵</sup> و پنیرک<sup>۶</sup> در صنایع داروسازی اهمیت دارند. جنس *Alcea* حدود ۷۰ گونه را شامل می‌شود. اگرچه گستره جغرافیایی *Alcea* از شرق اروپا به آسیا گسترش یافته است، اما

1. Malvales
2. Malvaceae
3. *Althaea officinalis* L.
4. *Althaea rosaea* L.
5. *Malva sylvestris* subsp. *Mauritiana* L A.et.Gr
6. *Malva sylvestris* L.

2012). ساختار این آنتوسیانین‌ها بر حسب محل قرارگیری گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی، تفاوت و تمایز می‌یابد (Ekici et al, 2014).

آزاده و همکاران (Azadeh et al., 2020)، طی مطالعه چندین گونه از جنس *Alcea* نشان دادند محتوای فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین کل در گل‌ها بیشتر از اندام رویشی گیاه است. در مطالعه دیگری نیز که در مورد *Alcea.aucheri* انجام شد، حضور ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و پلی‌ساکاریدها، تأیید گردید (Mombeini, 2017).

برای گیاه ختمی خواصی نظیر ضد میکروب، جلوگیری از ایجاد سنگ کلیه، اثرات ضد استروژن و تاثیر مثبت بر سیستم ایمنی ذکر گردیده است (Al-snafi, 2013). موسیلاژ مهمترین ترکیب موجود در ریشه ختمی است که در زمستان به حداکثر مقدار خود می‌رسد. در منابع مختلف میزان موسیلاژ ریشه ۳۵-۱۰ درصد گزارش گردیده است (Zarei Mahmoudabadi et al., 2019). گونه‌های مختلف از جنس *Alcea* در بین گیاهان به داشتن مقادیر فراوان موسیلاژ شناخته شده‌اند که محتوای موسیلاژ کل غالباً در گل‌ها در مقایسه با برگ و ساقه بالاتر است این مقدار در گل‌ها ۸/۶-۳۲ درصد گزارش گردیده است (Azadeh et al., 2020). موسیلاژها، هیدروکلوئیدهای پلی‌ساکاریدی با خواص منحصر بفرد می‌باشند. از دیدگاه شیمیایی موسیلاژها، ملکول‌های بزرگی هستند که اساساً حاوی کربوهیدرات‌ها، اورونیک اسیدها، گلیکوپروتئین‌ها و ترکیبات زیست فعال می‌باشند. این ترکیبات با ارزش در صنایع غذایی، داروسازی، بهداشتی و آرایشی کاغذسازی، رنگسازی و نساجی کاربردهای فراوانی دارند (Dybka-Stepien et al., 2021). ریشه *Althaea officinalis* حاوی مقادیر زیادی موسیلاژ است که ترکیب آن گلوکز، زایلوز، اورونیک اسید، متیل پنتوز و

هگزوز، گزارش گردیده است (Husain et al., 2019). در بررسی موسیلاژ برگ گیاه پنیرک گل ریز<sup>۱</sup> وجود منوساکاریدهای خنثی نظیر گالاکتوز، رامنوز، آرابینوز، گلوکز و مانوز تأیید گردیده است و گالاکترونیک اسید تنها منوساکارید اسیدی مشاهده شده در این مطالعه بود (Munir et al., 2021). در این مطالعه بررسی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی بر روی گونه‌های مختلف ختمی به منظور گروه‌بندی اکوتیپ‌های جمع‌آوری شده، یافتن اکوتیپ یا اکوتیپ‌های دارای بیشترین مواد موثره و معرفی آنها، انجام گرفته است.

### مواد و روش‌ها

**جمع‌آوری مواد گیاهی:** در این آزمایش بذر اکوتیپ‌هایی از گونه‌های مختلف گیاه دارویی ختمی در تابستان ۱۳۹۷ از مناطق مختلف استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، لرستان و مرکزی، جمع‌آوری گردید و در اواخر شهریور و اوائل مهر ماه همان سال در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد با ارتفاع ۲۰۶۶ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی با فاصله ردیف‌های ۵۰ و روی ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی کشت شدند. کلیه عملیات داشت و آبیاری در طی دوره رشد انجام گرفت. با تهیه نمونه مرکب از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک تعیین شد (جدول‌های ۱ و ۲). در سال اول و دوم و پس از گل دادن بوته‌ها، نمونه‌های هرباریومی تهیه و برای شناسایی به موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور منتقل شدند. لیست گونه‌های شناسایی شده و اکوتیپ‌های مربوط به هر گونه مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است.

1. *Malva parviflora*

جدول ۱: بافت و ویژگی‌های فیزیکی (هدایت الکتریکی (EC)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) و (pH) خاک محل کاشت نمونه‌ها در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد.

رس	سیلت	شن	pH	EC(ds/m)	CEC (cmol <sup>+</sup> /kg)
۴۰	۲۸	۳۲	۷/۹۰	۰/۳۸	۱۵/۸

جدول ۲: آنالیز خاک محل کاشت نمونه‌ها در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد.

درصد	درصد کربنات	درصد	فسفر	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	سدیم	آهن	روی
کربن آلی	کلسیم	ازت	(mg/kg)						
۴۵	۳۴	۰/۰۴	۲۰	۱۰۸/۷۳	۹۰	۸۴	۸۹/۲۷	۴/۶	۰/۷۴۲

جدول ۳: مشخصات محل جمع‌آوری بذر، اکوتیپ‌ها و گونه‌های شناسایی شده

گونه	اکوتیپ	محل جمع‌آوری بذر	استان	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
<i>A. rufescense</i>	Ruf1	جاده اصفهان - زرین شهر	اصفهان	۱۷۴۲	۵۱° ۳۳' ۴۴"	۳۲° ۲۱'
	Ruf2	جاده اصفهان - زرین شهر	اصفهان	۱۷۴۲	۵۱° ۳۳' ۴۴"	۳۲° ۲۱'
<i>A. schiraziana</i>	Sch1	جاده شهرکرد - فارسان	چهارمحال و بختیاری	۲۱۱۲	۵۰° ۳۶' ۴۶"	۳۲° ۱۶' ۳۷"
	Sch2	جاده شهرکرد - فارسان	چهارمحال و بختیاری	۲۰۵۶	۵۰° ۳۶' ۵۱"	۳۲° ۱۶' ۲۱"
	Sch3	جاده شهرکرد - فارسان	چهارمحال و بختیاری	۲۰۶۳	۵۰° ۳۶' ۴۵"	۳۲° ۱۶' ۲۱"
	Sch4	جاده شهرکرد - فارسان	چهارمحال و بختیاری	۲۰۶۳	۵۰° ۳۶' ۴۵"	۳۲° ۱۶' ۲۱"
	Sch5	جاده شهرکرد - فارسان	چهارمحال و بختیاری	۲۰۶۳	۵۰° ۳۶' ۴۵"	۳۲° ۱۶' ۲۱"
	Sch6	اصفهان - خانه اصفهان	اصفهان	۱۵۷۲	۵۱° ۳۸' ۵۰"	۳۲° ۴۲' ۳۸"
	Sch7	اصفهان - خیابان جی	اصفهان	۱۵۶۵	۵۱° ۴۴' ۲۱"	۳۲° ۶۱'
	Sch8	نهر خلیج	اصفهان	۲۳۲۶	۵۰° ۱۸' ۳۴"	۳۲° ۵۹' ۴۱"
	Sch9	دانشگاه شهرکرد	چهارمحال و بختیاری	۲۱۰۵	۵۰° ۴۹' ۲۲"	۳۲° ۲۱' ۲۹"
	Sch10	جاده دلجان محلات	مرکزی	۱۵۲۲	۵۰° ۳۴' ۲۷"	۳۳° ۵۳' ۲۱"
<i>A. lavateriflora</i>	Lav1	دورود، ابتدای جاده دریاچه گهر	لرستان	۱۴۴۴	۴۹° ۰۴' ۰۲"	۳۳° ۲۸' ۳۷"
	Lav2	دورود، ابتدای جاده دریاچه گهر	لرستان	۱۴۴۴	۴۹° ۰۴' ۰۲"	۳۳° ۲۸' ۳۷"
	Lav3	دورود، ابتدای جاده دریاچه گهر	لرستان	۱۴۴۴	۴۹° ۰۴' ۰۲"	۳۳° ۲۸' ۳۷"
	Lav4	دورود - جاده ازنا	لرستان	۱۴۷۹	۴۹° ۰۵' ۳۶"	۳۳° ۲۹' ۴۲"
	Lav5	نهر خلیج	اصفهان	۲۳۲۶	۵۰° ۱۸' ۳۴"	۳۲° ۵۹' ۴۱"
	Lav6	نهر خلیج	اصفهان	۲۳۲۶	۵۰° ۱۸' ۳۴"	۳۲° ۵۹' ۴۱"
	Lav7	جاده بروجن - فلارد	چهارمحال و بختیاری	۱۸۰۸	۵۱° ۱۳' ۳۱"	۳۱° ۱۷' ۳۶"
<i>A. rechingeri</i>	Rec1	دورود، ابتدای جاده دریاچه گهر	لرستان	۱۴۴۴	۴۹° ۰۴' ۰۲"	۳۳° ۲۸' ۳۷"
	Rec2	نهر خلیج	اصفهان	۲۳۲۶	۵۰° ۱۸' ۳۴"	۳۲° ۵۹' ۴۱"
	Rec3	الیگودرز	لرستان	۲۰۰۲	۴۹° ۴۱' ۴۰"	۳۳° ۲۴' ۳۳"

قطعات کوچک بریده شده و در سایه خشک و نگهداری شدند.

استخراج و اندازه‌گیری درصد عصاره گل: برای تهیه عصاره اتانولی از روش احمد و همکاران ( Ahmad et al., 2016) با اندکی تغییرات استفاده گردید. میزان ۲۰

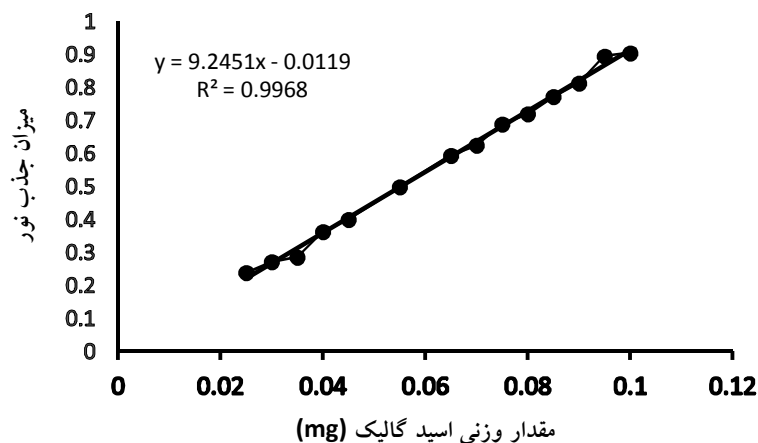
برداشت اندام‌های گیاهی: در طی سال دوم از اواخر بهار تا اواخر تابستان گل‌ها برداشت شده و پس از هر برداشت خشک کردن در سایه انجام شد. در انتهای فصل رشد در دی ماه ریشه‌ها از خاک خارج شدند و پس از شستشو و حذف خاک و سایر آلودگی‌ها، به

توزین شده بود، موسیلاژ جدا گردید و برای خشک شدن، کاغذ صافی حاوی موسیلاژ در خشک کن در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از خشک شدن کامل، کاغذ صافی به همراه موسیلاژ توزین گردید. اختلاف وزن کاغذ صافی حاوی موسیلاژ خشک و وزن اولیه کاغذ صافی معادل وزن موسیلاژ استخراج شده از ۱ گرم گل خشک/ ریشه می باشد که بر اساس آن درصد موسیلاژ محاسبه گردید.

**اندازه گیری محتوای فنول کل:** محتوای فنول کل با استفاده از واکنشگر فولین- سیوکالتیو طبق روش اختر اخی (Akhtar Akhi, 2020) با اندکی تغییرات انجام گرفت. به طور خلاصه محلول استوک عصاره با انحلال مقدار ۲۰ میلی گرم از هر نمونه عصاره گل در ۵ میلی لیتر متانول ۶۰ درصد تهیه گردید. به ۲۵ میکرولیتر از عصاره مذکور، ۱۷۵ میکرولیتر متانول ۶۰ درصد و ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول فولین ۱۰ درصد افزوده و به مدت ۵ دقیقه نگهداری شد و سپس به این محلول ۸۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد افزوده شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. محلول شاهد شامل ۲۰۰ میکرولیتر متانول ۶۰ درصد، ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول فولین ۱۰ درصد و ۸۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد بود که همراه با سایر نمونه ها آماده گردید. میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis مدل (PGInstrument T80<sup>+</sup>)، قرائت شد. همزمان با انجام آزمایش رقت های مختلف اسیدگالیک تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد (شکل ۱) تهیه گردید ( $y=9/245x - 0/11$ ) و  $R=0/996$  که همبستگی تقریباً ۱۰۰ درصد بین مقدار وزنی اسید گالیک و میزان جذب را نشان می دهد. به این ترتیب مقدار فنول کل عصاره گل برحسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک محاسبه گردید.

گرم از هر نمونه گل خشک پودر شد و مقدار ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به عنوان حلال به آن ها اضافه شد و فرآیند استخراج همراه با شیکر کردن نمونه ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و مکان تاریک صورت گرفت. پس از فیلتر کردن عصاره ها با استفاده از روش تقطیر در خلأ و با استفاده از دستگاه روتاری ( IKA RV 10) در دمای  $2 \pm 38$  درجه سانتی گراد تغلیظ شدند و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد خشک شدند. عصاره خشک شده پس از توزین به ظروف دربسته منتقل گردید و تا زمان اندازه گیری خواص فیتوشیمیایی در فریزر در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. درصد عصاره خشک بر اساس ۱۰۰ گرم گل خشک محاسبه گردید.

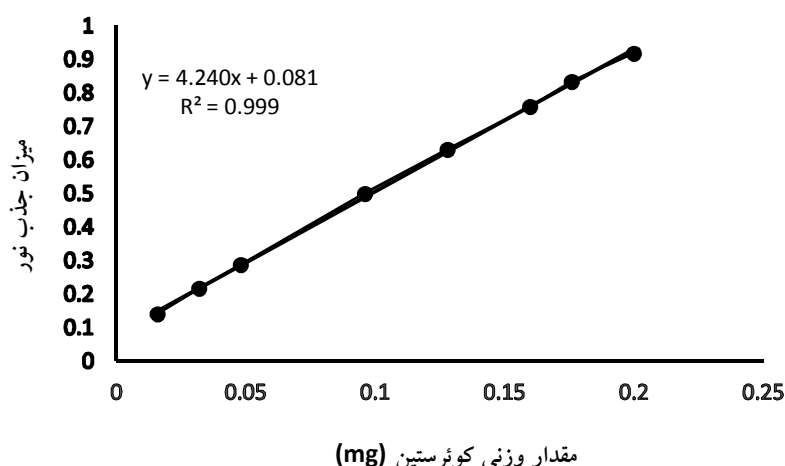
**استخراج و اندازه گیری موسیلاژ گل و ریشه:** بر اساس روش حسین و همکاران ( Husain et al., 2019) و با اندکی تغییرات مقدار ۱ گرم از پودر گل خشک/ ریشه در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اسیدی ( $pH=3/7$ ) سائیده شد و به یک بشر منتقل و مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اسیدی به آن افزوده گردید و به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. سپس تا رسیدن به دمای محیط به آن زمان داده شد و پس از آن توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی معمولی بقایای گیاهی از محلول غلیظ موسیلاژ جدا گردید. بقایای گیاهی مجدداً با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اسیدی جوشانده شد و مراحل قبل تکرار گردید و محلول موسیلاژ به دست آمده در مرحله دوم به محلول حاصل از مرحله اول افزوده شد. برای جداسازی موسیلاژ از این محلول، معادل ۱/۵ برابر حجم محلول بدست آمده اتانول ۹۶ درصد به آن افزوده شد و برای تکمیل فرآیند جدایش موسیلاژ این مخلوط به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از این مدت توسط قیف بوخنر و با کاغذ صافی (medium 102 از شرکت Double Rings) که قبلاً



شکل ۱: منحنی کالیبراسیون مقادیر مختلف از استاندارد اسید گالیک و میزان جذب نور در طول موج ۲۶۵ نانومتر

آزمایش رقت‌های مختلف کوئرستین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب قرائت شده در طول موج ۴۱۵ نانومتر نمونه‌ها را در معادله نمودار استاندارد (نمودار ۲) قرار داده و میزان فلاونوئید کل بر اساس معادله خطی منحنی استاندارد کوئرستین ( $y = 4.240x - 0.081$ ) و  $R = 0.999$  که همبستگی تقریباً ۱۰۰ درصد بین مقدار وزنی کوئرستین و میزان جذب را نشان می‌دهد. محاسبه شد و مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک گزارش گردید.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل: اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل بر اساس روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، طبق روش شرح داده شده توسط اختر اخی (Akhtar Akhi, 2020) با اندکی تغییرات انجام شد. استوک عصاره با غلظت ۲۰ میلی گرم در ۵ میلی لیتر متانول ۶۰ درصد تهیه گردید. ۱۲۵ میکرولیتر از استوک مذکور با اتانول ۶۰ درصد به حجم ۲۵۰ میکرولیتر رسانده شد و به آن ۱/۵ میلی لیتر محلول ۵ درصد پتاسیم استات و ۲۵۰ میکرولیتر محلول ۲ درصد آلومینیوم کلرید اضافه گردید و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. هم‌زمان با انجام



شکل ۲: منحنی کالیبراسیون غلظت‌های مختلف از استاندارد کوئرستین و میزان جذب نور در طول موج ۴۱۵ نانومتر

(2005) و براساس تفاوت رنگ با تغییر pH، با اندکی تغییر انجام گرفت. استوک عصاره با استفاده از انحلال

اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل: محتوای آنتوسیانین کل طبق روش لی و همکاران (Lee et al., )

۱/۰۳۳ تنظیم گردید، اضافه شد. نمونه شاهد حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر متانول ۹۹/۶ درصد و ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH بود و متانول ۹۹/۶ درصد به عنوان بلانک مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها به همراه نمونه شاهد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفتند و سپس میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. و طبق فرمول زیر درصد میزان مهار رادیکال آزاد محاسبه گردید.

$$\text{میزان مهار (درصد)} = [(Ac - As)/Ac] \times 100$$

که در آن Ac، میزان جذب نمونه شاهد و As میزان جذب نمونه عصاره گل می‌باشد. برای هر نمونه با حداقل ۶ غلظت و نمونه شاهد منحنی کالیبراسیون رسم گردید و از طریق معادله خط به دست آمده  $(y = ax \pm b)$  مقدار غلظتی از عصاره (x) که در آن ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH ( $y = 50$ ) مهار شده باشد، محاسبه گردید. این مقدار تحت عنوان  $IC_{50}$ ، بیان می‌گردد.

### آنالیز آماری

کلیه داده‌های به دست آمده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد آنالیز قرار گرفتند و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel و برای تعیین همبستگی صفات از روش پیرسون استفاده گردید.

### نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مطالعه حاضر نشان داد که همه صفات مورد مطالعه شامل درصد عصاره گل، درصد موسیلاژ گل، درصد موسیلاژ ریشه، محتوی فنول کل، فلاونوئید کل،

وزن مشخصی از نمونه‌های عصاره گل در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر، تهیه گردید. در این روش از دو بافر به عنوان واکنشگر استفاده گردید. بافر کلرید پتاسیم pH ۱ و بافر استات سدیم pH ۴/۵. ۵ میلی‌لیتر از استوک عصاره با هر یک از بافرها به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس میزان جذب در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. محتوای آنتوسیانین کل طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$1 \times 10^3 / \epsilon \times (A \times MW \times DF) = \text{محتوای آنتوسیانین کل (معادل سیانیدین-۳-گلوکوزاید، میلی‌گرم بر لیتر)}$$

که در آن،  $A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$  (وزن ملکولی سیانیدین-۳-گلوکوزاید) معادل ۴۴۹/۲، DF (ضریب رقت) معادل ۴ (یک قسمت استوک عصاره، ۴ قسمت بافر)، ۱ (عرض کووت) معادل ۱ سانتی‌متر،  $\epsilon$  (ضریب تضعیف مولی برای سیانیدین-۳-گلوکوزاید معادل ۲۶۹۰۰ لیتر بر مول سانتی‌متر) و  $10^3$  ضریب تبدیل گرم به میلی‌گرم، است. در نهایت محتوای آنتوسیانین کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاهی (mg/g DW) محاسبه گردید.

**ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل طبق روش شیمامورا و همکاران (Shimamura et al., 2014) با استفاده از رادیکال آزاد DPPH، ارزیابی گردید. استوک عصاره با انحلال ۵ میلی‌گرم عصاره گل در ۵ میلی‌لیتر متانول ۹۹/۶ درصد، تهیه گردید. از این استوک در تعداد ۱۰ لوله آزمایش حجم‌های ۱۸۰، ۲۰۰، ۱۶۰، ...، ۶۰، ۴۰، ۲۰ میکرولیتر ریخته شد و با متانول ۹۹/۶ درصد به حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر رسانده شدند. به مقادیر فوق ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH که میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر معادل**



معادل کورستین بر گرم ماده خشک و در گونه *A.rechingeri* کمترین مقدار ۶/۶۶ میلی گرم معادل کورستین بر گرم ماده خشک، مشاهده گردید. بیشترین محتوای آنتوسیانین کل عصاره گل، ۲/۸۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک و در گونه *A.lavateriflora* بدست آمد که با سایر گونه‌ها تفاوت معنی دار نشان داد. کمترین مقدار آن در گونه *A.rufecense* و معادل ۰/۱۲ میلی گرم بر گرم ماده خشک حاصل شد. در بین گونه‌های *A.schiraziana* و *A.rechingeri* اختلاف معنی داری در محتوای آنتوسیانین کل مشاهده نگردید. میزان  $IC_{50}$  نیز در بین گونه‌ها تفاوت معنی داری نشان داد که بیشترین مقدار آن ۰/۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر در گونه *A.rufecense* و کمترین مقدار آن ۰/۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر در گونه *A.lavateriflora* مشاهده گردید.

طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی (درصد عصاره و موسیلاژ گل و موسیلاژ ریشه) مورد مطالعه (جدول ۶)، بیشترین درصد عصاره گل (۳۴/۰۵) در اکوتیپ Sch6، بدست آمد که با سایر اکوتیپ‌ها تفاوت معنی دار نشان داد. کمترین درصد عصاره گل (۲۲/۸۵) در اکوتیپ Lav1 مشاهده گردید که با اکوتیپ Sch8 تفاوت معنی داری نشان نداد ولی اختلاف آن با سایر اکوتیپ‌ها معنی دار بود. بیشترین درصد موسیلاژ گل در اکوتیپ Ruf1 (۲۱/۰۸) مشاهده گردید که با اکوتیپ‌های Sch2 و Sch3 تفاوت معنی داری نداشت، اما با سایر اکوتیپ‌ها تفاوت معنی دار بود و کمترین درصد موسیلاژ گل (۱۲/۲۳) در اکوتیپ Lav5 مشاهده گردید که با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف معنی دار نشان داد. در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه بیشترین درصد موسیلاژ ریشه (۲۶/۴۳) در اکوتیپ Rec3 مشاهده گردید که اختلاف آن با سایر اکوتیپ‌ها معنی دار بود. کمترین درصد موسیلاژ ریشه در اکوتیپ Sch5، ۱۱/۳۳ بدست آمد که با اکوتیپ Rec1 اختلاف

آنتوسیانین کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره گل، در همه گونه‌ها و اکوتیپ‌های مورد مطالعه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بودند (جدول ۴). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات بر اساس گونه‌های مورد مطالعه (جدول ۵)، درصد عصاره گل در بین گونه‌ها تفاوت معنی داری نشان داد. بیشترین درصد عصاره گل در گونه *A.rufecense* (۳۰/۴۶) بدست آمد که با درصد عصاره گل در دیگر گونه‌ها تفاوت معنی دار نشان داد. کمترین درصد عصاره گل در گونه *A.schiraziana* مشاهده گردید.

میزان موسیلاژ گل نیز در بین گونه‌ها تفاوت معنی داری نشان داد بطوریکه بیشترین درصد موسیلاژ در گونه *A.rufecense* و کمترین درصد موسیلاژ (۱۵/۹۴) در گونه *A.lavateriflora* مشاهده گردید. حداکثر درصد موسیلاژ ریشه در بین گونه‌های مورد مطالعه در گونه *A.lavateriflora* و به میزان ۱۸/۸۷ درصد بدست آمد که با سایر گونه‌ها تفاوت معنی داری نشان داد. کمترین میزان موسیلاژ ریشه در گونه *A.schiraziana* معادل ۱۶/۵۵ درصد حاصل شد. درصد موسیلاژ ریشه در گونه‌های *A.rufecense* و *A.schiraziana* تفاوت معنی دار نشان نداد.

حداکثر محتوای فنول کل عصاره گل، نیز در گونه *A.rufecense* به مقدار ۲۹/۴۵ میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک بدست آمد که با سایر گونه‌ها تفاوت معنی دار نشان داد و کمترین مقدار آن ۲۴/۸۴ میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک در گونه *A.schiraziana* مشاهده گردید. بین دو گونه *A.lavateriflora* و *A.rufecense* محتوای فنول کل تفاوت معنی دار نداشت. در بین گونه‌های مورد مطالعه، محتوای فلاونونوئید کل عصاره گل تفاوت معنی داری نشان داد. بیشترین مقدار فلاونونوئید کل در گونه *A.rufecense* و با میزان ۱۲/۹۰ میلی گرم

معنی دار نداشت اما اختلاف آن با سایر اکوتیپ‌ها معنی دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی گل (محتوای فنول کل، فلاوونوئید کل، آنتوسیانین کل و IC<sub>50</sub>) که در جدول ۷ آورده شده است، نشان می‌دهند بیشترین محتوای فنول کل (۴۱/۷۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک) مربوط به اکوتیپ Lav4 بود که اختلاف آن با سایر اکوتیپ‌ها معنی دار بود و کمترین مقدار (۱۵/۷۶ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک) در اکوتیپ Sch8 مشاهده گردید که با اکوتیپ‌های Sch7 و Lav7 اختلاف معنی‌داری نداشت اما با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف آن معنی‌دار بود. بیشترین محتوای فلاوونوئید کل (۱۸/۳۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم ماده خشک) در اکوتیپ Sch4 مشاهده گردید که اختلاف آن با سایر اکوتیپ‌ها معنی‌دار بود و کمترین آن (۴/۷۱ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم ماده خشک) در اکوتیپ Sch7 مشاهده گردید که با

اکوتیپ‌های Sch9 و Lav3 اختلاف معنی‌داری نشان نداد، اما با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف آن معنی‌دار بود. بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه، از نظر محتوای آنتوسیانین اکوتیپ Lav4 بیشترین مقدار (۱۲/۸۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) را نشان داد و با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار داشت و کمترین مقدار (۰/۰۲ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) در اکوتیپ Lav7 بدست آمد که اختلاف آن با اکوتیپ‌های Sch4، Sch6، Sch7، Lav1، Lav2، Lav3، Lav4، Lav5 و Lav6 معنی‌دار بود اما با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار نشان نداد. حداکثر میزان IC<sub>50</sub> (۰/۲۲ میلی‌گرم میلی‌لیتر) در اکوتیپ Sch5 مشاهده گردید که با اکوتیپ Ruff1 اختلاف معنی‌دار نشان نداد اما با سایر اکوتیپ‌ها این اختلاف معنی‌دار بود. کمترین مقدار IC<sub>50</sub> در اکوتیپ ۳-۴ و به میزان ۰/۰۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد که با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد.

جدول ۴: تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در گونه و اکوتیپ

میانگین مربعات (MS)								
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد عصاره گل	درصد موسیلاژ گل	درصد موسیلاژ ریشه	محتوای فنول کل (mgGAE/gDW)	محتوای فلاوونوئید کل (mgQE/gDW)	محتوای آنتوسیانین کل (mg/gDW)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
تکرار	۳	۰/۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۳ <sup>ns</sup>	۱/۸ <sup>ns</sup>	۱۳/۴۹ <sup>**</sup>	۱/۷۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳*
گونه	۳	۳۴/۳۶ <sup>**</sup>	۴۰/۰۴ <sup>**</sup>	۳۱/۳۶ <sup>**</sup>	۱۱۲/۷۳ <sup>**</sup>	۶۷/۹۸ <sup>**</sup>	۳۶/۹۴ <sup>**</sup>	۰/۰۰۴۸ <sup>**</sup>
اکوتیپ‌داخل گونه	۱۸	۳۹/۶۶ <sup>**</sup>	۱۷/۱۶ <sup>**</sup>	۷۹/۴۳ <sup>**</sup>	۱۷۲/۴۴ <sup>**</sup>	۴۰/۴۵ <sup>**</sup>	۲۷/۱۹ <sup>**</sup>	۰/۰۰۵۴ <sup>**</sup>
خطا	۶۳	۱/۰۷	۰/۶۵	۰/۹۶	۳/۰۴	۰/۷۸	۰/۰۸	۰/۰۰۰۱

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، \* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ns عدم معنی‌داری

بررسی همبستگی صفات در نمودار ۳ نشان داد درصد موسیلاژ گل با محتوای آنتوسیانین کل عصاره گل همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و با IC<sub>50</sub> در سطح احتمال ۰/۰۱ همبستگی معنی‌دار و مثبت دارد. بین درصد موسیلاژ ریشه و درصد عصاره گل با سایر صفات همبستگی‌های ضعیف دیده شد که

معنی‌دار نیستند. بین محتوای فنول کل با محتوای آنتوسیانین در سطح احتمال ۰/۰۱ همبستگی مثبت و معنی‌دار و با مقدار IC<sub>50</sub> همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ دیده شد. محتوای آنتوسیانین با مقدار IC<sub>50</sub> همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ نشان داد.

جدول ۵: مقایسه میانگین درصد عصاره گل، درصد موسیلاژ گل و ریشه، محتوای فنول کل (mgGAE /gDW)، فلاونونوئید کل (mgQE /gDW)، آنتوسیانین کل (mg/g DW) و IC<sub>50</sub>(mg/ml) در عصاره گل گونه‌های مورد مطالعه.

صفت / اکوتیپ	<i>A. rufescense</i>	<i>A. schiraziana</i>	<i>A. lavateriflora</i>	<i>A. rechingeri</i>
درصد عصاره گل	۳۰/۴۶ <sup>a</sup> ±۰/۵۴	۲۶/۸۰ <sup>c</sup> ±۰/۵۷	۲۶/۹۰ <sup>c</sup> ±۰/۵۴	۲۸/۱۶ <sup>b</sup> ±۰/۵۰
درصد موسیلاژ گل	۲۰/۰۹ <sup>a</sup> ±۰/۴۹	۱۷/۶۸ <sup>b</sup> ±۰/۳۵	۱۵/۹۴ <sup>d</sup> ±۰/۴۳	۱۷/۰۷ <sup>c</sup> ±۰/۲۶
درصد موسیلاژ ریشه	۱۷/۱ <sup>c</sup> ±۰/۶۶	۱۶/۵۵ <sup>c</sup> ±۰/۵۶	۱۸/۸۷ <sup>a</sup> ±۰/۷۱	۱۸/۱ <sup>b</sup> ±۰/۸۸
محتوای فنول کل	۲۹/۴۵ <sup>a</sup> ±۰/۲۶	۲۴/۸۴ <sup>c</sup> ±۰/۹۹	۲۸/۹ <sup>a</sup> ±۰/۳۹	۲۷/۵۲ <sup>b</sup> ±۰/۳۸
محتوای فلاونونوئید کل	۱۲/۹۰ <sup>a</sup> ±۰/۴۲	۱۰/۰۵ <sup>b</sup> ±۰/۶	۹/۱۹ <sup>c</sup> ±۰/۴۸	۶/۶۶ <sup>d</sup> ±۰/۴۹
محتوای آنتوسیانین کل	۰/۱۲ <sup>c</sup> ±۰/۰۲	۰/۵۳ <sup>b</sup> ±۰/۰۹	۲/۸۴ <sup>a</sup> ±۰/۰۸	۰/۳۵ <sup>b</sup> ±۰/۰۲
IC <sub>50</sub>	۰/۱۶ <sup>a</sup> ±۰/۰۲	۰/۱۴ <sup>b</sup> ±۰/۰۰۶	۰/۱۲ <sup>d</sup> ±۰/۰۰۷	۰/۱۳ <sup>c</sup> ±۰/۰۰۴

حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۶: مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی (درصد عصاره گل، موسیلاژ گل و ریشه) در اکوتیپ‌های مورد مطالعه

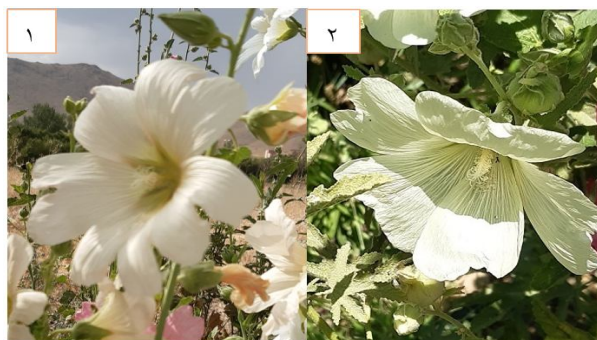
صفت / اکوتیپ	درصد عصاره گل	درصد موسیلاژ گل	درصد موسیلاژ ریشه
Ruf1	۳۱/۳ <sup>b</sup> ±۰/۲۰	۲۱/۰۸ <sup>a</sup> ±۰/۲۷	۱۲/۹ <sup>ij</sup> ±۰/۷۱
Ruf2	۲۹/۶۳ <sup>c</sup> ±۰/۰۹۳	۱۹/۱ <sup>b</sup> ±۰/۶۳	۲۱/۳ <sup>c</sup> ±۰/۰۷۳
Sch1	۲۳/۵۵ <sup>hi</sup> ±۰/۰۱۸	۱۴/۷۵ <sup>ij</sup> ±۰/۰۳۸	۱۳/۴۳ <sup>hi</sup> ±۰/۰۲۳
Sch2	۲۳/۳۸ <sup>hi</sup> ±۰/۰۱۱	۲۰/۶۵ <sup>a</sup> ±۰/۰۱۶	۱۹/۲ <sup>d</sup> ±۰/۰۲۱
Sch3	۳۰/۴۸ <sup>bc</sup> ±۰/۰۲۹	۲۰/۴۳ <sup>a</sup> ±۰/۰۲۵	۱۳/۲۸ <sup>i</sup> ±۰/۰۵۱
Sch4	۲۴/۶۵ <sup>gh</sup> ±۰/۰۲۷	۱۸/۸۵ <sup>bc</sup> ±۰/۰۴۹	۱۴/۰۵ <sup>ghi</sup> ±۰/۰۴۴
Sch5	۲۵/۸۵ <sup>fg</sup> ±۰/۰۵۶	۱۹/۱۵ <sup>b</sup> ±۰/۰۴۳	۱۱/۳۳ <sup>k</sup> ±۰/۰۱۵
Sch6	۳۴/۰۵ <sup>a</sup> ±۰/۰۴۰	۱۵ <sup>hi</sup> ±۰/۰۱۷	۱۹/۳ <sup>d</sup> ±۰/۰۵۶
Sch7	۲۹/۲ <sup>cd</sup> ±۰/۰۳۷	۱۷/۶۳ <sup>cdef</sup> ±۰/۰۴۸	۲۱/۲۸ <sup>c</sup> ±۰/۰۳۳
Sch8	۲۳/۱۵ <sup>hi</sup> ±۰/۰۶۳	۱۵/۷۸ <sup>ghi</sup> ±۰/۰۴۱	۲۱/۴۸ <sup>c</sup> ±۰/۰۳۸
Sch9	۲۹/۰۳ <sup>cd</sup> ±۰/۰۴۹	۱۵/۹۵ <sup>gh</sup> ±۰/۰۲۲	۱۵/۱۵ <sup>fg</sup> ±۰/۰۲۵
Sch10	۲۴/۷ <sup>gh</sup> ±۰/۰۸۳	۱۸/۶۵ <sup>bcd</sup> ±۰/۰۵۷	۱۷ <sup>c</sup> ±۰/۰۹۲
Lav1	۲۲/۸۵ <sup>i</sup> ±۰/۰۷۵	۱۶/۰۵ <sup>gh</sup> ±۰/۰۳۳	۲۴/۱۳ <sup>b</sup> ±۰/۰۴۰
Lav2	۲۴/۷۸ <sup>gh</sup> ±۰/۰۲۵	۱۵/۷ <sup>ghi</sup> ±۰/۰۳۲	۱۸/۶۵ <sup>d</sup> ±۰/۰۴۹
Lav3	۲۵/۶ <sup>fg</sup> ±۰/۰۹۰	۱۸/۱۳ <sup>bcd</sup> ±۰/۰۳۲	۲۴/۵۳ <sup>b</sup> ±۰/۰۲۷
Lav4	۳۱/۲۸ <sup>b</sup> ±۰/۰۲۰	۱۳/۷ <sup>i</sup> ±۰/۰۱۶	۱۵/۹۸ <sup>ef</sup> ±۰/۰۶۰
Lav5	۲۹/۵۳ <sup>ef</sup> ±۰/۰۲۹	۱۲/۲۳ <sup>k</sup> ±۰/۰۳۴	۱۷/۰۵ <sup>e</sup> ±۰/۰۴۲
Lav6	۲۷/۱ <sup>ef</sup> ±۰/۰۳۷	۱۸/۳۵ <sup>bcd</sup> ±۰/۰۶۰	۱۶/۹۳ <sup>e</sup> ±۰/۰۳۸
Lav7	۲۷/۱۵ <sup>ef</sup> ±۰/۰۴۶	۱۷/۴۵ <sup>def</sup> ±۰/۰۳۱	۱۴/۸۳ <sup>fgh</sup> ±۰/۰۵۴
Rec1	۲۷/۷۸ <sup>de</sup> ±۰/۰۲۷	۱۷/۳ <sup>ef</sup> ±۰/۰۳۷	۱۱/۷۸ <sup>jk</sup> ±۰/۰۴۴
Rec2	۲۶/۶۵ <sup>ef</sup> ±۰/۰۷۹	۱۷/۲۸ <sup>ef</sup> ±۰/۰۵۷	۱۶/۱ <sup>ef</sup> ±۰/۰۴۵
Rec3	۳۰/۰۵ <sup>bc</sup> ±۰/۰۱۷	۱۶/۶۳ <sup>fg</sup> ±۰/۰۴۵	۲۶/۴۳ <sup>a</sup> ±۰/۰۷۲

حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۷: مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی (محتوای فنول کل (mgGAE /gDW)، فلاوونوئید کل (mgQE /gDW)، آنتوسیانین کل (mg/gr DW) و  $IC_{50}$  (mg/ml) در عصاره گل) در اکوتیپ‌های مورد مطالعه.

اکوتیپ/ صفت	محتوای فنول کل	محتوای فلاوونوئید کل	محتوای آنتوسیانین کل	$IC_{50}$
Ruf1	۲۶/۱۴ <sup>f</sup> ± ۰/۲۲	۱۳/۷۹ <sup>b</sup> ± ۰/۲۶	۰/۱۷ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۳	۰/۲۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۰۳
Ruf2	۳۲/۷۷ <sup>c</sup> ± ۰/۱۱	۱۲/۰۳ <sup>cd</sup> ± ۰/۴۹	۰/۰۷ <sup>j</sup> ± ۰/۰۱	۰/۱۲ <sup>efg</sup> ± ۰/۰۰۵
Sch1	۲۹/۳۰ <sup>e</sup> ± ۰/۱۴	۱۱/۷۳ <sup>cd</sup> ± ۰/۲۳	۰/۰۸ <sup>hi</sup> ± ۰/۰۰۷	۰/۱۳ <sup>de</sup> ± ۰/۰۰۵
Sch2	۲۸/۰۵ <sup>ef</sup> ± ۰/۱۷	۱۱/۰۷ <sup>de</sup> ± ۰/۱۱	۰/۲۶ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۳	۰/۱۹ <sup>b</sup> ± ۰/۰۰۳
Sch3	۲۳/۵۱ <sup>gh</sup> ± ۰/۶۸	۱۲/۶۷ <sup>bc</sup> ± ۰/۹۸	۰/۲۶ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۵	۰/۱۲ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۳
Sch4	۲۵/۷۳ <sup>fg</sup> ± ۱/۰۵	۱۸/۳۳ <sup>a</sup> ± ۰/۸۴	۱/۰۹ <sup>e</sup> ± ۰/۴۵	۰/۱۲ <sup>fg</sup> ± ۰/۰۰۴
Sch5	۲۶/۲۹ <sup>f</sup> ± ۰/۵۴	۹/۷۴ <sup>ef</sup> ± ۰/۴۴	۰/۱۶ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۵	۰/۲۲ <sup>a</sup> ± ۰/۰۰۳
Sch6	۳۸/۳۱ <sup>b</sup> ± ۱/۲۰	۹/۰۹ <sup>fg</sup> ± ۰/۲۰	۱/۷۱ <sup>cd</sup> ± ۰/۱۹	۰/۱ <sup>hi</sup> ± ۰
Sch7	۱۷/۸۹ <sup>i</sup> ± ۰/۸۳	۴/۷۱ <sup>j</sup> ± ۰/۲۲	۰/۶۴ <sup>fg</sup> ± ۰/۰۴	۰/۱۵ <sup>c</sup> ± ۰/۰۱
Sch8	۱۵/۷۶ <sup>i</sup> ± ۱/۳۴	۸/۷۷ <sup>fg</sup> ± ۰/۴۱	۰/۵۰ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۷	۰/۱۴ <sup>cd</sup> ± ۰/۰۰۴
Sch9	۲۱/۲۶ <sup>h</sup> ± ۰/۴۹	۵/۱۹ <sup>j</sup> ± ۰/۱۹	۰/۲۴ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۱	۰/۱۴ <sup>cd</sup> ± ۰/۰۱
Sch10	۲۲/۳۳ <sup>h</sup> ± ۰/۶۳	۹/۲۳ <sup>f</sup> ± ۰/۴۹	۰/۴۰ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۵	۰/۱۳ <sup>de</sup> ± ۰/۰۰۳
Lav1	۲۷/۶۲ <sup>ef</sup> ± ۰/۴۴	۹/۸۴ <sup>ef</sup> ± ۰/۰۶	۰/۹۵ <sup>ef</sup> ± ۰/۰۴	۰/۱۰ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۵
Lav2	۲۹/۹۹ <sup>de</sup> ± ۰/۶۱	۱۱/۲۵ <sup>d</sup> ± ۰/۸۰	۰/۵۷ <sup>fg</sup> ± ۰/۰۲	۰/۱۲ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۱
Lav3	۲۶/۳۵ <sup>f</sup> ± ۰/۰۹	۵/۸۲ <sup>ij</sup> ± ۰/۱۱	۱/۹۹ <sup>bc</sup> ± ۰/۲۳	۰/۱۲ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۰۹
Lav4	۴۱/۷۱ <sup>a</sup> ± ۰/۲۴	۹/۸۲ <sup>ef</sup> ± ۰/۴۶	۱۲/۸۳ <sup>a</sup> ± ۰/۴۱	۰/۰۷ <sup>j</sup> ± ۰/۰۰۵
Lav5	۲۷/۷۲ <sup>ef</sup> ± ۰/۵۴	۶/۸۷ <sup>hi</sup> ± ۰/۱۶	۲/۱۹ <sup>b</sup> ± ۰/۱۰	۰/۱۰ <sup>i</sup> ± ۰/۰۰۳
Lav6	۳۲/۱ <sup>cd</sup> ± ۰/۴۷	۷/۷۵ <sup>gh</sup> ± ۰/۷۲	۱/۳۲ <sup>de</sup> ± ۰/۰۴	۰/۱۵ <sup>c</sup> ± ۰/۰۰۳
Lav7	۱۶/۸۳ <sup>j</sup> ± ۰/۹۳	۱۲/۹۹ <sup>bc</sup> ± ۰/۴۳	۰/۰۲ <sup>i</sup> ± ۰/۰۰۳	۰/۱۸ <sup>b</sup> ± ۰/۰۰۵
Rec1	۲۷/۷۵ <sup>ef</sup> ± ۰/۲	۵/۷۰ <sup>ij</sup> ± ۰/۰۶	۰/۳۰ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۰۵	۰/۱۲ <sup>efg</sup> ± ۰/۰۰۴
Rec2	۳۲/۷۵ <sup>c</sup> ± ۰/۲۹	۸/۹۰ <sup>fg</sup> ± ۰/۳۴	۰/۴۶ <sup>ghi</sup> ± ۰/۰۲	۰/۱۳ <sup>def</sup> ± ۰/۰۰۳
Rec3	۲۲/۰۶ <sup>h</sup> ± ۰/۳۶	۵/۳۸ <sup>j</sup> ± ۰/۱۹	۰/۲۹ <sup>ghi</sup> ± ۰	۰/۱۵ <sup>c</sup> ± ۰

حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.





شکل ۴: رنگ گل در برخی اکوتیپ‌های مورد مطالعه؛ ۱: Ruf1، ۲: Ruf2، ۳: Sch4، ۴: Sch5، ۵: Sch7، ۶: Sch8، ۷: Lav3، ۸: Rec3، ۹: Lav5، ۱۰: Lav7، ۱۱: Rec1، ۱۲: Rec2، ۱۳: Rec3



شکل ۳: ضریب همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی

\*\* و \* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد گونه‌های مورد مطالعه از نظر صفات فیتوشیمیایی با هم تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۴). طبق نتایج این تحقیق مشخص گردید میزان ترکیبات فنولی در گونه *A. rufecense* از سایر گونه‌ها بیشتر بود بطوریکه این اختلاف با گونه‌های *A. schiraziana* و *A. rechingeri* معنی‌دار بود ولی نسبت به گونه *A. lavateriflora* معنی‌دار نگردید. (جدول ۵). همچنین نتایج نشان داد بین محتوای فنول کل و محتوای آنتوسیانین کل همبستگی معنی‌دار و مثبت وجود دارد (نمودار ۱). طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه در گونه *A. rufecense* با داشتن بالاترین محتوای فنول کل، محتوای آنتوسیانین کل با اختلاف معنی‌دار، کمتر از سایر گونه‌های مورد مطالعه بود (جدول ۵). وجود گل‌های زرد رنگ در دو اکوتیپ مورد مطالعه این گونه می‌تواند نشانگر کم بودن محتوای رنگدانه‌های آنتوسیانینی باشند (شکل ۴). آنتوسیانین‌ها ترکیباتی از گروه فلاونوئیدها هستند که عامل ایجاد طیف‌های رنگی قرمز، آبی و بنفش در اندامها و مراحل مختلف رشد در گیاهان می‌باشند (Lafountain and Yuan, 2021). بنابراین احتمالاً محتوای فنول در این گونه مربوط به وجود سایر ترکیبات فنولی غیر آنتوسیانینی می‌باشد. طبق نتایج این تحقیق در این گونه محتوای فلاونوئید کل با اختلاف معنی‌دار، بیشتر از سایر گونه‌های مورد مطالعه بدست آمد (۱/۳ برابر بیشتر از گونه *A. schiraziana*، ۱/۴ برابر بیشتر از گونه *A. lavateriflora* و ۱/۹ برابر بیشتر از گونه *A. rechingeri* (جدول ۵). بنابراین احتمالاً ترکیبات فنولی در این گونه با دو اکوتیپ مورد تحقیق در این مطالعه بیشتر از نوع ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشند. حضور کامفرول در تمامی وارته‌های گیاه ختمی در گل‌ها گزارش گردیده است.

در کنار کامفرول در گل‌های سفید و زرد، حضور هریاستین به‌عنوان رنگدانه اصلی گزارش گردیده است (Shehzad et al., 2020). کامفرول و کوئرستین فلاونول‌هائی هستند که در مراحل انتهایی مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها شرکت دارند (Alappat ana Alappat, 2022). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد بین محتوای آنتوسیانین و میزان همبستگی منفی معنی‌دار وجود دارد (شکل ۳). بنابراین در گونه *A. rufecense* انتظار می‌رود میزان  $IC_{50}$  نسبت به سایر گونه‌ها بیشتر باشد که نتایج اندازه‌گیری‌ها نیز آن را تأیید نمودند (جدول ۵). به عبارت دیگر در این گونه برای مهار ۵۰ درصد از رادیکال آزاد DPPH نسبت به سایر گونه‌ها به غلظت بیشتری از عصاره نیاز است و می‌توان گفت عصاره گل در گونه *A. rufecense* نسبت به سایر گونه‌ها کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. وجود ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردند (Patle et al., 2020, Akhtar Akhi, 2020, Saima et al., 2021). ترکیبات فیتوشیمیایی، نظیر فنول‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها که به‌طور طبیعی در گیاهان ساخته می‌شوند، ترکیبات زیست فعال هستند و از نظر اثرات دارویی دارای اهمیت زیادی می‌باشند. این ترکیبات به دلیل داشتن توانایی اهدا هیدروژن، دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند. حضور اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و تانن‌ها در مقادیر قابل توجه در اندام‌های مختلف گیاه *Alcea rosea*، آن را به‌عنوان یک منبع با ارزش از ترکیبات فیتوشیمیایی و دارای کاربردهای دارویی زیادی مطرح می‌نماید (Nawaz et al., 2022). براساس نتایج این تحقیق، میزان  $IC_{50}$  با ترکیبات فنولی همبستگی منفی و معنی‌دار نشان داد (شکل ۳) بنابراین خاصیت آنتی‌اکسیدانی که یکی از علل ارزشمندی گیاه از نظر خواص دارویی می‌باشد،

تنظیمی ژن‌های مربوطه به سمت تولید پلی‌ساکاریدها و موسیلاژ پیش‌رفته است و سنتز آنتوسیانین سرکوب شده است. بنابراین محتوای آنتوسیانین‌ها در گل‌هائی که درصد موسیلاژ بالاتری دارند، کمتر مشاهده گردید.

طبق نتایج این مطالعه درصد موسیلاژ ریشه در گونه *A. rufecense* نسبت به گونه‌های *A. lavateriflora* و *A. rechingeri* با اختلاف معنی‌دار، کمتر بود. درصد موسیلاژ ریشه در چهار گونه مورد مطالعه تقریباً  $1/87 - 16/55$  درصد بدست آمد. در مطالعه‌ای که توسط حسین و همکاران (Husain et al., 2019) بر روی ریشه *Althaea officinalis* Linn انجام گرفت درصد موسیلاژ ریشه معادل  $42/93$  درصد گزارش گردید. این اختلاف می‌تواند مربوط به تفاوت در جنس، فصل برداشت ریشه و شرایط استخراج موسیلاژ باشد. زارعی محمودآبادی و همکاران (Zarei Mahmoudabadi et al., 2019). گل‌ها و برگ‌های ختمی را حاوی حدود  $6-9$  درصد موسیلاژ گزارش نمودند و مشاهده کردند که بالاترین مقدار موسیلاژ کمی قبل از باز شدن گل دیده می‌شود. نتایج مطالعه اخیر درصد موسیلاژ گل در بین اکوتیپ‌های مختلف را حدود  $21-11$  درصد و موسیلاژ ریشه را حدود  $26-11$  درصد نشان داد (جدول ۶). همچنین در پژوهش حاضر مشاهده گردید بین درصد موسیلاژ گل و ریشه همبستگی منفی ضعیفی وجود دارد (شکل ۳).

طبق نتایج حاصل از این تحقیق گونه *A. schiraziana* با اکوتیپ‌های عمدتاً دارای رنگ گل در طیف صورتی (شکل ۴) عصاره گل، موسیلاژ ریشه و محتوای فنول کل از سایر گونه‌ها کمتر بود اما به دلیل داشتن رنگدانه‌های آنتوسیانینی بیشتر (تقریباً ۴ برابر)، نسبت به گونه *A. rufecense* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد. این گونه نسبت به

با ترکیبات فنولی مرتبط است و احتمالاً در بین این ترکیبات آنتوسیانین‌ها نقش بیشتری در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌نمایند. ابودیاک و همکاران (Abudayyak et al., 2022) نشان دادند عصاره متانولی از اندام هوایی *Alcea calvertii* با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر،  $IC_{50}$  معادل  $0/2311$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را نشان می‌دهد. در همه گونه‌های مورد مطالعه این تحقیق میزان  $IC_{50}$  کمتر و به عبارت دیگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری مشاهده گردید (جدول ۵). این اختلاف می‌تواند ناشی از نوع گونه، اندام مورد مطالعه و شرایط عصاره‌گیری باشد. نتایج این تحقیق نشان داد درصد موسیلاژ گل در این گونه نیز نسبت به سایر گونه‌های مورد مطالعه با اختلاف معنی‌دار، بیشتر بود (جدول ۵).

بر اساس نتایج این مطالعه بین درصد موسیلاژ گل و محتوای آنتوسیانین کل همبستگی منفی و معنی‌دار مشاهده گردید (شکل ۳). در بین گونه‌های مورد مطالعه گونه‌هائی با محتوای آنتوسیانین کمتر دارای گل‌هائی با رنگ‌های روشن‌تری بودند (شکل ۴) و درصد موسیلاژ گل بیشتری نیز داشتند (جدول ۵). شی و همکاران (Shi et al., 2012)، در گیاه مدل آرابیدوپسیس نشان دادند ژن  $GL2$  با اثر تنظیمی مثبت بر ژن  $MUM4/RHM2$  که آنزیم راموز سیتاز را کد می‌کند سبب تولید راموز می‌گردد که سوبسترای کلیدی برای بیوسنتز موسیلاژ است. همچنین طی مطالعه دیگری مشخص گردید در سلول‌های اپیدرم پوسته بذر گیاه آرابیدوپسیس ژن  $GL2$  علاوه بر تنظیم تمایز سلولی، بیوسنتز موسیلاژ و تولید روغن در بذر، از طریق سرکوب مستقیم بیان برخی ژن‌های فعال‌کننده، بیوسنتز آنتوسیانین‌ها را سرکوب و مهار می‌نماید (Wang et al., 2015). براساس مطالعات و نتایج فوق احتمالاً در اکوتیپ‌هایی که درصد موسیلاژ گل بالاتری دارند، مسیر بیوسنتز بر اساس بیان و اثر

بررسی قرار دادند و در آن تعداد ۹ ترکیب آنتوسیانینی و ۴ ترکیب فلاونوئیدی گزارش نمودند. این محققین برخی ترکیبات آنتوسیانینی غالب را دلفینیدین ۳-۰- و گلوکوزاید، دلفینیدین ۳-۰-روتینوزاید و برخی ترکیبات فلاونوئیدی غالب را میرستین ۳-۰- گلوکوزاید و کامفرول ۳-۰-روتینوزاید گزارش نمودند. در تحقیقی که آزاده و همکاران (Azadeh et al., 2020) در مورد چندین گونه از جنس *Alcea* انجام دادند، مشخص گردید محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، موسیلاژ و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به‌طور مشخص تحت تاثیر ساختار ژنتیکی، شرایط محیطی و اندام مورد بررسی گیاه می‌باشند. این محققین دریافتند در اکثر گونه‌های مورد بررسی، محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی در گل‌ها بیشتر از سایر اندامهای مورد مطالعه است. آنها همچنین رابطه معنی‌داری بین رنگ گل و محتوای آنتوسیانین مشاهده نمودند. وجود همبستگی نسبتاً قوی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رنگ گل از دیگر نتایج این تحقیق بود. این محققین مشاهده نمودند در گونه‌های دارای گل‌های صورتی و بنفش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گل‌ها نسبت به سایر اندامها قوی‌تر است. درحالی‌که در گونه‌های دارای گل‌های سفید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سایر اندامها نسبت به گل‌ها قوی‌تر است. در مطالعه اخیر نیز در اکوتیپ‌های دارای گل‌های زرد (*Ruf1*, *Ruf2*) محتوای آنتوسیانین کل، پائین تر بود و مشابه مطالعه فوق این اکوتیپ‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمتری از خود نشان دادند (جدول ۷). همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین رنگ گل که محتوای آنتوسیانین شاخص آن بود با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید (شکل ۳). سایما و همکاران (Saima et al., 2021)، خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتیل‌استاتی و عصاره متانولی کل گیاه *Alcea rosea* را مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده نمودند عصاره

سایرین از نظر درصد عصاره و موسیلاژ گل در حد متوسط قرار داشت (جدول ۵). سایر نتایج نشان داد در گونه *A. lavateriflora* که شامل اکوتیپ‌هایی با گل‌های طیف رنگی قرمز، ارغوانی و بنفش تیره، بودند (شکل ۴)، از نظر درصد عصاره گل مشابه با گونه *A. schiraziana* بود ولی از نظر موسیلاژ گل نسبت به سایرین در حداقل قرار داشت. نتایج این مطالعه نشان داد موسیلاژ ریشه در این گونه بیشتر از سایر گونه‌ها بود و محتوای فنول کل آن مشابه گونه *A. rufecense* بالا بود در این گونه محتوای آنتوسیانین ۵ برابر بیشتر از گونه *A. schiraziana* و تقریباً ۲۴ برابر بیشتر از محتوای آنتوسیانین در گونه *A. rufecense* بدست آمد، که می‌تواند بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا به عبارت دیگر کمترین  $IC_{50}$  که در این گونه مشاهده می‌شود؛ (جدول ۵) را توجیه نماید. آنتی‌اکسیدان‌ها با مهار نمودن رادیکال‌های آزاد سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردند (Saima et al., 2021). طبق نتایج این تحقیق در گونه *A. rechingeri* که اکوتیپ‌ها غالباً دارای گل‌هایی با رنگ‌های تیره‌تر از گونه *A. schiraziana* هستند (شکل ۴)، محتوای فنول کل بیشتر از گونه *A. schiraziana* مشاهده گردید؛ در حالیکه محتوای آنتوسیانین و فلاونوئید کمتری نسبت به این گونه بدست آمد؛ اما خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دیده شد (جدول ۵)، که ممکن است این ویژگی مربوط به سایر ترکیبات فنولی باشد. احمد بالا و همکاران (Ahmad Bala et al., 2016)، طی تحقیقی ترکیبات موجود در گل‌های *Althea Rosea* که سبب وجود فعالیت و اثرات دارویی می‌گردند را شامل آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، ساپونین‌ها، تانن‌ها و ترکیبات فنولی دیگر گزارش نمودند. هوساکا و همکاران (Hosaka et al., 2012)، نیز طی مطالعه‌ای ترکیبات موجود در عصاره متانولی گلبرگ‌های *Alcea rosea* L. Nigra را مورد



می‌توان تولید ترکیبات مذکور را افزایش داد.

### نتیجه‌گیری نهایی

مطالعات صورت گرفته در رابطه با گونه‌های مختلف گیاه ختمی وجود متابولیت‌های ثانویه مفید در اندام‌های مختلف این گیاه و اثرات دارویی آنها را به اثبات رسانده‌اند. نتایج این مطالعه که در آن به بررسی چهار گونه گیاه ختمی پرداخته شد نیز وجود این ترکیبات مفید در مقادیر قابل توجه و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی آن را مورد تأیید قرار داد. در بین چهار گونه مورد مطالعه گونه *A. rufecense* با داشتن بالاترین درصد موسیلاژ گل می‌تواند انتخاب مناسبی برای تولید موسیلاژ باشد. اما انتخاب گونه *A. lavateriflora* با دارا بودن بیشترین میزان موسیلاژ ریشه، ترکیبات فنولی به‌ویژه رنگیزه‌های آنتوسیانینی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی برای تولید موسیلاژ ریشه، ترکیبات آنتی‌اکسیدان و رنگ‌های خوراکی قابل استفاده در صنایع غذایی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی ارجحیت دارد.

### سپاسگزاری

با تشکر از همه اساتید و مسئولان محترم موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به ویژه جناب آقای دکتر مظفریان که زحمت شناسایی گونه‌ها را متقبل گردیدند. همچنین از گروه علوم باغبانی دانشگاه شهرکرد که ما را در انجام این طرح یاری نمودند صمیمانه سپاسگزاریم.

متانولی قدرت بیشتری برای مهار رادیکال آزاد DPPH دارد بطوری‌که  $IC_{50}$  برای عصاره متانولی معادل ۳۱/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره اتیل استاتی، ۳۶/۷۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید. بر اساس نتایج مطالعه اخیر قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH، که با شاخص  $IC_{50}$  بیان گردید در عصاره اتانولی گل در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه، ۰/۲۱ - ۰/۰۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد (جدول ۷) که نسبت به نتایج مطالعه فوق قدرت مهار کمتری را نشان داد. علت آن می‌تواند اختلاف در گونه، شرایط محیطی محل کشت و یا شرایط آزمون باشد (Azadeh et al., 2020).

با توجه به جایگاه و اهمیت گیاه ختمی در طب سنتی ایران و مطابق با یافته‌های این تحقیق چنانچه هدف داشتن موسیلاژ باشد می‌توان گونه‌هایی که دارای گل‌هایی به رنگ سفید تا زرد هستند و چنانچه هدف، داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا باشد، گونه‌هایی با گل‌هایی غنی از رنگدانه‌های آنتوسیانینی را برای کشت انتخاب نمود. همچنین از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که از مطالعات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی در کنار مطالعات مورفولوژیکی برای تشخیص دقیق‌تر اکوتیپ‌ها و گونه‌ها می‌توان استفاده نمود و با در نظر گرفتن اینکه این گیاه منبع بسیار غنی و مقرون به صرفه‌ای از موسیلاژ و ترکیبات آنتی‌اکسیدان و قابل استفاده گسترده‌تر در صنایع دارویی می‌باشد، با انتخاب صحیح گونه و اکوتیپ

### References

- Abudayyak, M., Kanbolat, S., Ergene, R. and Batur, S. 2022. Investigation of the biological activities of *Alcea calvertii*. KSU Journal of agriculture and nature, 25(5): 955-964.
- Ahmad, A.B., Muhammad, N.A., Idris, M.B. and Da'u Khalid, K. 2016. Phytochemicals screening and acid- base indicator property of ethanolic extract of *Althea rosea* flower. Journal of Advanced Scientific Research, 7(2): 30-32.
- Akhtar Akhi, M. 2020. An in-vitro study on antioxidant properties of *Alcea rosea* leaves. A thesis for the degree of Bachelor of Pharmacy, Department of Pharmacy, Brac University, Dhaka. Bangladesh, 14-18.

- Alappat, B. and Alappat, J. 2022. Anthocyanin pigments: beyond aesthetics. *Molecules*, 25, 5500.
- Arabameri, M., Khodayari, H. and Zarre, S. 2020. Trichome micromorphology in *Alcea* L. and allied genera (Malvaceae) and its systematic implication. *Nordic Journal of Botany*, 00:1-16.
- Azadeh, Z., Saeidi, K., Lorigooini, Z., Kiani, M. and Maggi, F. 2020. Organ-oriented phytochemical profiling and radical scavenging activity of *Alcea* spp. (Malvaceae) from Iran. *SN Applied Sciences*, 2:927.
- Dybka-Stepie Ń, K., Otlewska, A., Gózd ų, P. and Piotrowska, M. 2021. The Renaissance of plant mucilage in health promotion and industrial applications: A Review. *Nutrients*, 13, 3354.
- Ekici, L., Simsek, Z., Ozturk, I., Sagdic, O. and Yetim, H. 2014. Effects of temperature, time, and pH on the stability of anthocyanin extracts: prediction of total anthocyanin, content using nonlinear models. *Food Anal. Methods*, 7:1328–1336.
- Hosaka, H., Mizuno, T. and Iwashina, T. 2012. Flavonoid pigments and color expression in the flowers of black Hollyhock (*Alcea rosea*'Nigra'). *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Ser. B*, 38(2): 69–75.
- Husain, M., Wadud, A., Hamiduddin., Sofi, G., Perveen, S. and Abdul Hafeez, K. 2019. Physicochemical standardization of mucilage obtained from *Althaea officinalis* Linn – root. *Pharmacogn. Mag.*, 15: S155-S161.
- Lafountain, A.M. and Yuan, Y.W. 2021. Repressors of anthocyanin biosynthesis. *New Phytologist*, 231: 933–949.
- Landi, M., Tattini, M. and Gould, K.S. 2015. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*, 05.012.
- Lee, J., Durst, R.W., Wrolstadk, R.E., Barnes, K.W., Eisele, T., Giusti, M, M., Haché, J., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D.A., Kupina, S., Martin, S, K., Martinsen, B.K., Miller, T.C., Paquette, F., Ryabkova, A., Skrede, G., Trenn, U. and Wightman, J.D. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC international*, 5(88): 1269-1278.
- Mombeini, T., Gholami Pourbadie, H., Kamalinejad, M., Mazloumi, S. and Dehpour, A.R. 2017. Anxiolytic- like and sedative effects of *Alcea aucheri* (Boiss) Alef flower extract in the laboratory rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16 (4): 1495-1508.
- Mozaffarian, V. 2015. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Farhang Moaser Publications. Tehran. 1315 p.
- Munir, A., Youssef, F.S., Ishtiaq, S., Kamran, H., Sirwi, A., Ahmed, S.A., Ashour, M.L. and Elhady, S.S. 2021. *Malva parviflora* leaves mucilage: An eco-friendly and sustainable biopolymer with antioxidant properties. *polymers*, 13, 4251.
- Nawaz, H., Akram, H
- ., Hafiz, Q., Ishaq, M., Khalid, A., Zainab, B. and Mazhar, A. 2022. Polarity -dependent response of phytochemical extraction and antioxidant potential of different parts of *Alcea rosea*. *Free Radicals and Antioxidants*, 12(2):49-54.
- Nicolau, A.I. and Gostin, A.I. (2016). Safety of edible flowers. In: Astley, S., Braun, S., Keener, L., Lelieveld, H., Martín-Belloso, O., McMahon, H., Prakash, V. (eds). *Regulating safety of traditional and ethnic foods*. Chapter 21. Academic Press. 395- 419.
- Patle, T, K., Shrivastava, K., Kurrey, R., Upadhyay, S., Jangde, R. and Chauhan, R. 2020. Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV-vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 242, 118717.
- Saima, N., Mir Kaiser, A., Zubair, U.N., Fasil, A. and Showkat, A.G. 2021. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of *Alcea rosea*. *Annals of the Romanian society for cell biology*, 7(25): 1580-1587.

- Shehzad, M.R., Hanif, M.A., Rehman, R., Bhatti, I.A. and Hanif, A. 2020. Hollyhock, chapter 29, 381-391. Hanif, M, A., Khan, M, M., Nawaz, H. and Byrne, H, J. (eds). Medicinal plants of South Asia novel sources for drug discovery. Elsevier. ISBN: 978-0-08-102659-5. 735.
- Shi, L., Katavic, V., Yu, Y., Kunst, L. and Haughn, G. 2012. Arabidopsis glabra2 mutant seeds deficient in mucilage biosynthesis produce more oil. The Plant Journal, 69, 37-46.
- Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T., Ishikawa, H., Matsui, T., Sugimoto, N., Akiyama, H. and Ukeda, H. 2014. Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives - inter-laboratory evaluation study-. Analytical sciences, 30: 717-721.
- Wang, X., Wang, X., Hu, Q., Dai, X., Tian, H., Zheng, K., Wang, X. and Mao, T. 2015. Characterization of an activation-tagged mutant uncovers a role of glabra2 in anthocyanin biosynthesis in arabidopsis. The Plant Journal, 83, 300-311.
- Zarei Mahmoudabadi, T., Talebi, P. and Jalili, M. 2019. Removing disperse red 60 and reactive blue 19 dyes removal by using *Alcea rosea* root mucilage as a natural coagulant. AMB Express, Springer, 9:113.