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

Investigation of ethnopharmacology and diversity in yield components and phytochemical characteristics of some species of the genus Viola (*Viola* spp.) in the habitats of northern Iran

Mina Dordi[1], Sarah Khorasaninejad[1*], Khalil Ghorbani[2], Mohsen Farhadpour[3]

[1] Horticultural Sciences Department, Plant Production Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, Email: khorasaninejad@gau.ac.ir; skhorasaninejad@yahoo.com

[2] Department of Structures and Water Resources, Faculty of Water and Soil, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

[3] Plant Biotechnology Dept., National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

Article type:
Research article

Article history
Received: 3-10-2022
Revised: 12-11-2022
Accepted: 23-11-2022

Keywords
Antioxidant compounds
Ethnopharmacology
Flavonoids
Habitates
Phenols
Viola

Abstract

In this research, in order to investigate the ethnopharmacological diversity, yield components and phytochemical characteristics of Viola species (*Viola* spp.) from 16 habitats in the north and northwest of Iran (Golestan, Mazandaran, Ardabil, East Azarbaijan and Kermanshah provinces), a research based on a completely Randomization was done with three replications. Ethnopharmacology information was obtained from local people and plant samples were collected from the mentioned habitats in the spring of 2018 at the time of flowering. At the same time, the samples of each barium were collected and prepared for identification at the species level and receiving the code. Soil samples were also taken from a depth of 0-30 for physical and chemical analysis, and the geographic coordinates and height were also recorded. The yield components and phytochemical characteristics (including chlorophyll a, b and total, carotenoid by spectrophotometer, total phenol by Folin-Siocatio colorimetric method, total flavonoid by aluminum-chloride colorimetric method, antioxidant compounds by ABTS and DPPH methods) of the collected samples were measured. As a result of the botanical investigation, it was found that 16 collected masses were related to five different species including *V.odorata* L., *V.alba*, *V.suavis*, *V.sieheana* and *V.ignobilis*. Ethnopharmacological results showed that in most regions this plant is called by the name of violet or something similar and it is used in the treatment of viral diseases such as colds. The analysis of the results showed that the characteristics of the habitat had a significant effect on all the components of the measured performance and phytochemical traits, so that the amount of chlorophyll and the dry weight of the aerial parts of the samples increased with the increase in the organic matter and nutrients of the soil. Also, with the increase in altitude, the amount of antioxidant compounds by ABTS and DPPH methods, phenolic and flavonoidic compounds increased in aerial parts, and the results of principal component analysis (PCA) also confirmed the obtained results. In the clustering that was done based on the two factors of yield and phytochemical components, it was found that the cluster decomposition for phytochemical characteristics was divided into 14 categories and for yield components into 9 categories at 0.2 Euclidean distance. The results of cluster analysis also showed that the climatic and edaphic characteristics of the habitat have a great effect on the yield components and phytochemical characteristics of the violet plant, which can determine the appropriate cultivation pattern.

Cite this article as: Dordi, M., Khorasaninejad, S., Ghorbani, Kh., Farhadpour,M. (2023). Phytochemical investigation and inhibitory effect of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas essential oil on the growth of bacteria (*Enterococcus faecalis* and *Salmonella typhimurium*). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 11(3):44-66.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: 10.30495/ejmp.2023.1965442.1709 Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.3.4.9

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

بررسی اتنوفارماکولوژی و تنوع در اجزای عملکرد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی برخی از گونه‌های جنس بنفشه (*Viola* spp.) در رویشگاه‌های شمال ایران

مینا دردی[۱]، سارا خراسانی نژاد[۱*]، خلیل قربانی[۲]، محسن فرهادپور[۳]

[۱] گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: khorasaninejad@gau.ac.ir; skhorasaninejad@yahoo.com

[۲] گروه مهندسی آب، دانشکده آب و خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۳] پژوهشگاه ملی ژنتیک و زیست فناوری، پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، گروه زیست‌فرآورده‌های گیاهی، تهران، ایران

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۷/۱۱
تاریخ بازنگری:۱۴۰۱/۰۸/۲۱
تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۹/۰۲

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدان
اتنوفارماکولوژی
بنفشه، توده رویشگاه
فلاونوئیدکل و فنل‌کل

چکیده

در این تحقیق به‌منظور بررسی تنوع اتنوفارماکولوژیکی، اجزای عملکرد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی ۱۶ توده از جنس بنفشه (*Viola* spp.) از ۱۶ رویشگاه در شمال و شمال‌غرب ایران (استان‌های گلستان، مازندران، اردبیل، آذربایجان‌شرقی و کرمانشاه)، تحقیقی بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار صورت پذیرفت. اطلاعات اتنوفارماکولوژی از مردم محلی به‌دست آمد و نمونه‌های گیاهی در بهار ۱۳۹۸ در زمان گلدهی، از رویشگاه‌های مذکور جمع‌آوری شدند. بررسی اجزای عملکرد ، ویژگی‌های فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی نمونه ها به روشهای اسپکتوفوتومتری، ABTS و DPPH موردسنجش قرار گرفتند. نتایج اتنوفارماکولوژیکی نشان داد در بیشتر مناطق از فراورده‌های بنفشه به‌عنوان ضدالتهاب و ضدویروس در درمان سرفه و سرماخوردگی کاربرد دارد. نتایج نشان داد ویژگی‌های رویشگاه روی تمامی اجزای عمکرد و صفات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده، دارای اثر معنی‌داری بوده است به طوری‌که با افزایش ماده آلی و عناصرغذایی خاک میزان کلروفیل و وزن خشک اندام هوایی نمونه‌ها افزایش پیدا کرد. همچنین با افزایش ارتفاع میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با روش‌های ABTS و DPPH، فنل‌کل و فلاونوئیدکل در اندام هوایی افزایش پیدا کرد و نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) نیز نتایج به‌دست آمده را تایید کرد. در کلاستربندی که براساس دو عامل اجزای عملکرد و فیتوشیمیایی انجام شد، مشخص شد در فاصله ۰/۲ اقلیدسی تجزیه کلاستر برای ویژگی‌های فیتوشیمیایی، به ۱۴ دسته و برای اجزای عملکرد به ۹ دسته تقسیم شدند. نتایج تجزیه خوشه‌ای نیز نشان داد که ویژگی‌های اقلیمی و ادافیکی رویشگاه اثر بسیار زیادی بر اجزای عملکرد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی در گیاه بنفشه دارد که میتواند تعیین‌کننده الگوی مناسب کشت باشند.

استناد: دردی، مینا؛ خراسانی‌نژاد، سارا؛ قربانی، خلیل؛ فرهادپور؛ محسن. (۱۴۰۲). بررسی اتنوفارماکولوژی و تنوع در اجزای عملکرد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی برخی از گونه‌های جنس بنفشه (*Viola* spp.) در رویشگاه‌های شمال ایران. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۱ (۳)، ۶۶-۴۴.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.1965442.1709
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.3.4.9

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

از گیاهان دارویی مهم در ایران می‌توان از جنس بنفشه (*Viola* spp.) نام برد که استفاده از آن، به‌ویژه گونه بنفشه معطر (*Viola odorata*)، سابقه تاریخی طولانی نزد ایرانیان دارد. گیاهان این جنس، علفی و دارای انواع یکساله و چندساله است، که توسط استولون‌های مویی‌شکل و نازک یا بذر تکثیر می‌شود. برگ‌ها معمولاً به شکل روزت هستند و گل‌های این گیاه به‌صورت منفرد روی دمگل و گیاه قرار گرفته‌اند (Shafaghat and Zarinkamar, 2018). از قسمت‌های مختلف این گیاه به‌عنوان ضدالتهاب، معرق، ادرارآور، نرم‌کننده، خلط‌آور، ضدتب، ضدسرفه و ملین و همچنین در درمان اختلالات گوارشی استفاده می‌شود (Lim, 2014; Ahmad et al., 2009). این جنس در دنیا دارای ۵۲۵ گونه (Marcussen et al., 2022) و در ایران دارای ۲۳ گونه می‌باشد که برخی از انواع آن به لحاظ ظاهری بسیار شبیه به یکدیگر بوده و تشخیص آنها دشوار می‌باشد.

مهم‌ترین فاکتورها در تغییر ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی، منطقه رویش می‌باشد، به عبارت دیگر مواد موثره گیاهان دارویی اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آن‌ها به‌طور بارزی تحت‌تأثیر عوامل محیطی و اقلیمی قرار می‌گیرد (Omidbaigi, 2014; Thomford et al., 2015). فاکتورهای محیطی مختلفی از جمله مختصات جغرافیایی، ارتفاع، شیب و نزدیکی به آب‌های بزرگ و به تبع آن خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی خاک و شرایط اقلیمی منطقه کاشت از جمله دما، بارندگی، رطوبت نسبی و کیفیت، کمیت و طول مدت زمان تابش نور، از عوامل مهم تأثیرگذار روی اجزای عملکرد، ویژگی‌های فیتوشیمیایی و میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌باشند (Hosseini et al., 2019; Hassanpouraghdam et al., 2022). با تغییر در شرایط محیطی و نیاز به سازگاری به شرایط جدید در گیاهان، متابولیسم در گیاهان مختلف کم و بیش دستخوش تغییر می‌شوند، لذا گونه‌های یکسان و متفاوت این گیاهان در شرایط اقلیمی و اکولوژی خاص از نظر کمیت و کیفیت مواد مؤثره، تیپ‌های شیمیایی (مونه) متفاوت و متنوعی را تشکیل می‌دهند، که این تنوع خود منجربه تفاوت در دامنه فعالیت‌های دارویی و بیولوژیک نیز می‌شود (Saeidi et al., 2014). در همین ارتباط، تحقیقات Matsui و همکاران (2013) نشان داد جنس بنفشه (*Viola*) به‌شدت تحت‌تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و صفات ظاهری و بیوشیمیایی آن با تغییر محل رویش تغییر می‌کنند. همچنین نتایج مربوط به بررسی Yu و همکاران (2019) در تحقیق روی جنس *Viola* در قاره اروپا بیان کردند که در هر منطقه گونه‌های خاص بنفشه رشد می‌کنند به‌طوری‌که در مناطق نزدیک به عرض ٦٠ درجه (مثل کشور استونی) گونه‌هایی با رنگ گل بنفش و در مناطق نزدیک به عرض جغرافیایی ۵۰ درجه (مثل کشور لهستان) گونه‌هایی با رنگ گل سفید رشد می‌کنند. علاوه‌بر اثر مختصات جغرافیایی بر این گیاه، در تحقیق دیگری به بررسی اثر ارتفاع بر گونه *V. maculate* در رشته کوه آلپ پرداخته شده‌است و نتایج نشان داد تغییرات بسیار کم در ارتفاع در این رشته کوه نه‌تنها می‌تواند بر پاسخ‌های تولیدمثلی و فیزیولوژیکی در این گونه موثر باشد، بلکه بر تنوع گل و اندام های رویشی نیز اثرگذار باشد (Segui et al., 2018). در تحقیق دیگر در جزایر قناری اسپانیا روی طیف سیکلوتیدی (متابولیت اصلی) چهار گونه (سه گونه بومی) بنفشه و *V.odorata* انجام شد الگوی تولید متابولیت در این گونه‌ها می‌تواند نتیجه تنوع ژنتیکی یا شرایط محیطی در زیستگاه‌های مختلف باشد و تحت‌تاثیر شرایط محیطی سیکلوتیدها به‌عنوان نشانگر برای

شیمی‌سیستماتیک تنظیم می‌شوند (Slazak et al., 2021).

براساس تحقیقاتی که روی اثر محیط روی گونه یا گونه‌های این جنس انجام شده در نقاط مختلف دنیا و ویژگی‌های منحصر به‌فرد دارویی این جنس و سابقه زیاد آن در طب ایرانی که منجربه برداشت بی‌رویه و غیراصولی مقادیر زیادی از این گیاه از طبیعت می‌گردد، بر آن شدیم تا باتوجه به وجود نیاز مبرم در زمینه شناخت تنوع گونه‌های این جنس و درک صحیح از اثر تمامی مولفه‌های محیطی روی تولید ماده خشک و برخی متابولیت‌های ثانویه این گیاه، پژوهش حاضر را طراحی و اجرا نموده تا بلکه گامی در جهت دستیابی به الگوی مناسب کشت و اهلی کردن این جنس باارزش برداشته شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه: نمونه‌های گیاهی در اواخر آذرماه تا اوایل اردیبهشت‌ماه سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ در زمانی‌که بیش از ۷۵ درصد از گل‌ها بازشده و دارای رنگ بنفش بودند، نمونه‌ها از ۱٦ منطقه ایران از ارتفاعات مینودشت (روستای یکه‌سور)، مینودشت (قلعه‌قاف پایین-روستای کفش‌محله)، علی‌آباد (ارتفاعات افراتخته)، جلین (جنگل توسکستان)، گرگان (روستای نومل)، گرگان (روستای قرن‌آباد)، گرگان (روستای زیارت، پارک جنگلی النگدره، جنگل شصت‌کلا (باغ گیاهشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان))، بندرگز (روستای استون‌آباد)، ساری (روستای خال‌خیل)، آمل (روستای پاشاکلا بیش محله)، چالوس-کندلوس (ارتفاعات روستای زانوس)، اردبیل (خلخال)، آذربایجان شرقی (کلیبر)، کرمانشاه-پاوه (روستای خوانقا) جمع‌آوری گردید. شایان ذکر است از هر منطقه برداشت از سه پلات با ابعاد ۳ مترمربع صورت پذیرفت که هر پلات به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و طرح بر پایه کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد.

همزمان، نمونه‌های هرباریمی جهت شناسایی در سطح گونه و دریافت کد، جمع‌آوری و آماده گردیده و به "مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی" ارسال شد. همچنین نمونه‌های خاک نیز جهت تجزیه فیزیکی و شیمیایی از عمق ۳۰-۰ برداشت شده و موردتجزیه قرار گرفتند به‌طوری‌که و ویژگی‌های شاخص مانند شوری (EC)، اسیدیته (pH)، بافت خاک و عناصر خاکی از جمله نیتروژن، فسفر، پتاسیم و مواد آلی اندازه‌گیری گردیدند (جدول ۱) و ارتفاع از سطح دریا و مختصات جغرافیایی رویشگاه‌ها به‌وسیله GPS تعیین و ثبت شده و جهت دامنه و تعداد گونه‌های همراه نیز مشخص و ثبت شد (جدول ۲). همچنین خصوصیات آب و هوایی نیز از نزدیک‌ترین ایستگاه‌های هواشناسی دریافت و به‌تفکیک سال در جدول ۳ درج گردید.

اتنوبوتانی (درمان محلی): در محل جمع‌آوری گونه‌های جمع‌آوری و شناسایی‌شده (شامل *V.odorata* L.، *V.alba*، *V.suavis*، *V.sieheana* و *V.ignobilis*) و طی مصاحبه با افراد محلی که نمونه‌ها را جمع‌آوری کرده و ارسال کردند و مخصوصاً فروشندگان گیاهان دارویی (عطاری‌های محلی) تلاش شد که اطلاعات سنتی در مورد نام محلی، درمان محلی و نوع مصرف دارویی گیاه اخذ و ثبت گردد (Chorli et al., 2017).

در این آزمایش همچنین اجزای عملکرد (تعداد برگ، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک گل) و ویژگی‌های فیتوشیمیایی (فنل‌کل، فلاونوئیدکل، کلروفیلa، b و کل، کارتنوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌روش‌های DPPH و ABTS) موردسنجش قرار گرفتند.

جدول ۱: خصوصیات خاکشناسی رویشگاه‌های موردمطالعه از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک

منطقه	بافت خاک	شوری (ds/m^2)	اسیدیته (pH)	نیتروژن (٪)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	کربن آلی (٪)
مینودشت (یکه‌سور)	silty clay loam	۱/۴۲	۷/۰۵	۰/۰۸	۷/۲۵	۳۵۵/۵۷	۱/۱۳
مینودشت (قلعه قاف پایین- روستای کفش محله)	sandy loam	۱/۳۷	۷/۰۳	۰/۰۹	۵/۳	۳۶۹/۴۲	۰/۹۹
علی‌آباد (افراتخته)	clay	۱/۲۹	۶/۸۷	۰/۱۲	۸/۱۸	۲۴۴/۴۷	۱/۳۶
جنگل توسکستان	sandy loam	۲	۷/۰۴	۰/۱۲	۶/۴۶	۲۹۶/۹۹	۱/۱۴
روستای نومل	silty clay / silty clay loam	۰/۸۵	۶/۳۷	۰/۰۵	۴/۳۱	۲۲۶/۳۶	۰/۸۲
جنگل قرن‌آباد	clay	۱/۸۷	۶/۹۲	۰/۰۹	۶/۵۲	۲۱۷/۲۰	۱/۰۳
روستای زیارت	clay loam	۱/۴	۷/۰۶	۰/۱۳	۸/۲۵	۲۸۹/۷۴	۱/۳۶
گرگان- جنگل النگدره	silty clay / silty clay loam	۱/۲	۷/۰۲	۰/۱۲	۶/۹۲	۲۵۶/۹۵	۱/۳۰
گرگان- جنگل شصت‌کلا	clay	۱/۷۵	۶/۹۹	۰/۱۱	۶/۹۲	۳۴۲/۱۸	۰/۹۴
بندرگز (استون‌آباد)	clay loam	۱/۴۴	۶/۶۲	۰/۰۸	۵/۹۹	۳۲۲/۳۴	۰/۸۱
(ساری خال‌خیل)	clay loam	۱/۵	۶/۹۷	۰/۱۵	۹/۹۷	۲۱۷/۴۸	۱/۶۵
آمل (پاشاکلا بیش‌محله)	clay / clay loam	۰/۷	۶/۸۴	۰/۱۴	۱۰/۴۵	۳۸۵/۷۲	۱/۶۰
چالوس (کندلوس-زانوس)	sandy loam	۰/۸۵	۷/۰۹	۰/۱۳	۸/۰۱	۳۰۴/۲۳	۱/۱۳
اردبیل (خلخال)	sandy loam	۱/۸۵	۷/۱۵	۰/۱۲	۶/۶۱	۲۵۹/۵۶	۱/۲۱
آذربایجان شرقی (کلیبر)	sandy clay / sandy clay loam	۰/۹۷	۶/۴۹	۰/۰۹	۷/۹۳	۲۴۳/۰۵	۰/۹۲
کرمانشاه (پاوه-روستای خوانقا)	sandy loam	۰/۹۴	۶/۸۶	۰/۱۱	۷/۹۹	۲۵۰/۳۳	۱/۱۵

جدول ۲: موقعیت مکانی محل جمع‌آوری نمونه‌ها

ردیف	منطقه	ارتفاع (متراز سطح دریا)	مختصات جغرافیایی		شیب (درجه)	تعداد گونه‌های همراه
۱	مینودشت (یکه‌سور)	۶۰۰	N۳۷° ۱۶′	E ۵۵° ۴۸′	جنوبی	۴
۲	مینودشت (قلعه قاف پایین- روستای کفش محله)	۱۲۳۰	N ۳۷ °۰۳′	E ۵۵°۲۹′	جنوبی	۵
۳	علی‌آباد (افراتخته)	۱۶۲۰	N ۳۶ °۷۹′	E ۵۴ °۹۶′	جنوبی	۳
۴	جنگل توسکستان	۸۰۰	N ۳۶ °۷۶′	E ۵۴ °۵۷′	جنوبی	۳
۵	روستای نومل	۶۷۵	N ۳۶ °۴۶′	E ۵۴ °۳۲′	جنوبی	۶
۶	جنگل قرن‌آباد	۵۱۵	N ۳۶ °۴۷	E ۵۴ °۳۷	جنوبی	۵
۷	روستای زیارت	۶۴۹	N ۳۶ °۷۲′	E ۵۴ °۴۸′	جنوبی	۶
۸	گرگان- جنگل النگدره	۳۵۷	N ۳۶ °۷۸′	E ۵۴ °۴۵′	دشت	۷
۹	گرگان- جنگل شصت‌کلا	۴۶۰	N ۳۶ °۷۶′	E ۵۴ °۳۸′	دشت	۴
۱۰	بندرگز (استون‌آباد)	۳۲۲	N ۳۶ °۶۹′	E ۵۳ °۹۵′	جنوبی	۶
۱۱	(ساری خال‌خیل)	۷۴۰	N ۳۶ °۳۵′	E ۵۳ °۳۵′	جنوبی	۵
۱۲	آمل (پاشاکلا بیش‌محله)	۴۲۰	N ۳۶ °۵۳′	E ۵۲ °۶۷′	جنوبی	۴
۱۳	چالوس (کندلوس-زانوس)	۱۸۰۰	N ۳۶ °۳۳′	E ۵۱ °۵۴′	دشت‌ملایم	۶
۱۴	اردبیل (خلخال)	۱۷۵۰	N ۳۷ °۳۹′	E ۴۸ °۳۰′	جنوبی	۳
۱۵	آذربایجان شرقی (کلیبر)	۱۱۱۰	N ۳۸ °۵۱′	E ۴۷ °۰۲′	جنوبی	۶
۱۶	کرمانشاه (پاوه-روستای خوانقا)	۱۳۴۸	N ۳۸ °۷۷′	E ۶۲ °۱۹′	جنوبی	۷

N: شمالی؛ E: شرقی

جدول ۳: ویژگی‌های آب و هوایی (اقلیمی) رویشگاه‌ها (مهرماه ۹۷ تا خردادماه ۹۸)

جمعیت	بیشینه دما (درجه سانتی‌گراد)	کمینه دما (درجه سانتی‌گراد)	متوسط دما (درجه سانتی‌گراد)	متوسط بارندگی (میلی‌متر)	بیشینه رطوبت نسبی (درصد)	کمینه رطوبت نسبی (درصد)	متوسط رطوبت نسبی (درصد)	میزان ساعات آفتابی (ساعت)
مینودشت (یکه‌سور)	۲۱/۶	۱۱/۸	۱۶/۷	۱۰۶۳/۱	۷۴/۱	۴۸/۷	۶۲/۲	۱۵۶۲/۱
مینودشت (قلعه‌قاف پایین- روستای کفش‌محله)	۲۱/۶	۱۱/۸	۱۶/۷	۱۰۶۳/۱	۷۴/۱	۴۸/۷	۶۲/۲	۱۵۶۲/۱
علی‌آباد (افراتخته)	۲۰/۸	۱۰/۲	۱۵/۵	۷۲۳/۸	۹۰/۴	۵۵/۸	۷۳/۱	۱۴۶۶/۸
جنگل توسکستان	۲۰/۸	۱۰/۲	۱۵/۵	۷۲۳/۸	۹۰/۴	۵۵/۸	۷۳/۱	۱۴۶۶/۸
روستای نوامل	۲۰/۸	۱۰/۲	۱۵/۵	۷۲۳/۸	۹۰/۴	۵۵/۸	۷۳/۱	۱۴۶۶/۸
جنگل قرن‌آباد	۲۰/۸	۱۰/۲	۱۵/۵	۷۲۳/۸	۹۰/۴	۵۵/۸	۷۳/۱	۱۴۶۶/۸
روستای زیارت	۲۱/۲	۱۰/۲	۱۵/۷	۶۹۷/۳	۹۱	۵۴	۷۱/۷	۱۵۷۸
گرگان- جنگل النگدره	۲۱/۲	۱۰/۲	۱۵/۶۴	۶۹۷/۳	۹۱	۵۴	۷۱/۷	۱۵۷۸
گرگان- جنگل شصت‌کلا	۲۱/۲	۱۰/۲	۱۵/۶۴	۶۹۷/۳	۹۱	۵۴	۷۱/۷	۱۵۷۸
بندرگز (استون‌آباد)	۲۱/۱	۱۱/۵	۱۶/۳	۷۰۶/۷	۹۰/۷	۵۷/۹	۷۴/۴	۱۴۸۲/۷
(ساری خال‌خیل)	۲۰/۵	۱۱/۳	۲۱/۸	۷۸۱/۳	۹۵/۲	۵۷/۴	۷۸/۸	۱۳۹۸/۸
آمل (پاشاکلا بیش‌محله)	۲۰/۳	۹/۴	۲۱/۲	۶۸۴/۲	۹۵/۴	۶۲/۲	۸۱/۱	۱۳۷۲/۵
چالوس (کندلوس-زانوس)	۱۸/۵	۱۱/۸	۲۱/۱	۱۲۳۸/۸	۹۲	۶۹/۷	۸۲/۱	۱۳۹۸
اردبیل (خلخال)	۱۲/۲	۰/۴	۶	۳۳۷	۸۲/۲	۴۳/۹	۶۳/۲	۱۷۹۸/۵
آذربایجان شرقی (کلیبر)	۱۴/۵	۷/۱	۱۸	۳۰۴/۳	۸۱/۱	۵۱/۷	۶۶/۳	۱۵۴۹/۸
کرمانشاه (پاوه-روستای خوانقا)	۱۸/۸	۴/۷	۱۴/۱	۶۰۱	۷۸	۳۵/۲	۵۳	۱۷۳۸

روش تهیه نمونه خشک: نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه انتقال داده شد، سپس ریشه، گل و برگ نمونه‌ها جداشده و خشکاندن نمونه‌ها در محیط اتاق با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، در شرایط سایه و با تهویه مناسب انجام شد (Zare et al., 2018). در این آزمایش همچنین صفات مورفولوژی از جمله تعداد برگ و گل در بوته گیاهی وزن خشک و تر (اندام هوایی، گل و ریشه) با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (Migdatek et al., 2013; Mozaffari et al., 2016).

رنگدانه‌های فتوسنتزی: جهت آنالیز رنگدانه‌های (کلروفیل a، b و کارتنویید)، میزان ۰/۵ گرم برگ تازه پس از جدا شدن رگبرگ‌ها وزن شده و در شرایط تاریکی و در هاون با ۲۵ میلی‌لیتر متانول خالص سائیده شد و از طریق قیف بوخنر به کمک پمپ تخلیه تصفیه گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول به دست آمده همراه با ۸ میلی‌لیتر متانول خالص رقیق‌شده و به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب عصاره خالص در سه طول‌موج ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر ترکیبات کاروتنوئید و نانومتر برای کلروفیل b و ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-1800 PC) خوانده شد (Barens et al., 1992). مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل از طریق رابطه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ محاسبه شد:

میلی‌گرم کلروفیل a درگرم برگ

$$= \frac{(12/7(663A) - 2/69(645A)) \times V}{1000 \times W}$$ رابطه(۱)

میلی‌گرم کلروفیل b درگرم برگ

$$= \frac{(22/9(645A) - 4/68(663A)) \times V}{1000 \times W}$$ رابطه(۲)

رابطه (۳) $\text{کاروتنوئید} = \frac{1000(A_{470}) - 1/82\,chla - 85/00\,chl\,b}{198}$

رابطه (٤) $\text{کلروفیل کل} = \text{کلروفیل a} + \text{کلروفیل b}$

V= حجم محلول کلروفیل (میلی‌لیتر)، W = وزن برگ (گرم)، A = عدد اسپکتروفتومتر

سنجش فنل‌کل: محتوای فنل‌کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکاتیو (Folin-Ciocalteureagent) اندازه‌گیری شد (Oki et al., 2002). به‌طوری‌که، یک میلی‌لیتر از محلول نمونه اضافه گردید. بعد از ۳ دقیقه، ۱میلی‌لیتر از محلول آبی کربنات‌سدیم ۱۰٪ به محلول اضافه شد. مخلوط نهایی به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید، سپس جذب در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فنلی بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن خشک بااستفاده از منحنی استاندارد این ترکیب بیان گردید (Beheshti et al., 2023).

سنجش فلاونوییدکل: میزان فلاونوئیدکل به‌روش رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلرید اندازه‌گیری گردید. به‌طوری‌که میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم‌کلرید ۱۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. پس از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط در ٤۱۵ نانومتر خوانده شد (Chang et al., 2002).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌روش DPPH: یک میلی‌لیتر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) با یک میلی‌لیتر محلول عصاره در متانول مخلوط شده و مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری و در نهایت جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده‌خواهد شد (Zhao et al., 2010). فعالیت برحسب درصد نسبی DPPH طبق رابطه (۵) محاسبه گردید:

رابطه (۵) $\text{درصد DPPH} = \frac{\text{درصد جذب شاهد} - \text{درصد جذب نمونه}}{\text{درصد جذب شاهد}}$

فعالیت مهار رادیکال آزاد به‌روش ABTS: پروتئین‌های هیدرولیز شده بااستفاده از روش تشریح‌شده توسط You و همکاران (۲۰۱۰) تعیین گردید. محلول رادیکال $ABTS^+$ با ترکیب نسبت حجمی یکسانی از ABTS در غلظت ۷ میلی‌مولار و ٤/٤۵ میلی‌مولار پتاسیم‌پرسولفات تهیه گردید. مخلوط در تاریکی و در دمای محیط به‌مدت ۱۲ تا ۱٦ ساعت قبل از مصرف قرار داده شد. در این مدت، اکسیداسیون و تولید رادیکال $ABTS^+$ به‌وسیله پتاسیم‌پرسولفات انجام می‌گیرد. قبل از آزمون، محلول $ABTS^+$ با استفاده از PBS (۰/۲ مولار و pH ۷/٤) تا جذب ۰/۰۲ ± ۰/۷ در ۷۳٤ نانومتر رقیق شد. سپس ٤۰ میکرولیتر از هر نمونه (عصاره آبی) را (حاوی ٤ mg protein/ mL) به ٤ میلی‌لیتر محلول رقیق‌شده $ABTS^+$ افزوده شد. مخلوط به‌مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد سپس در تاریکی به‌مدت ٦ دقیقه قرار داده‌شد. جذب محلول نهایی در ۷۳٤ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال $ABTS^+$ نمونه‌ها براساس رابطه (٦) محاسبه گردید (You et al., 2010).

رابطه (٦) $AA(\%) = \frac{(Ablank - Asample)}{Ablanke} \times 100$

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها آماری با استفاده از نرم‌افزار R مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. رسم شکل‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد.

نتایج

شناسایی و اتنوفارماکولوژی (درمان محلی) جنس بنفشه: نتایج شناسایی جمعیت‌های جمع‌آوری‌شده

جنس بنفشه با رنگ بنفش، مشخص نمود که جمعیت موردبررسی از پنج گونه مختلف بوده است (جدول ٤). همچنین به لحاظ اتنوبوتانیکی و اتنوفارماکولوژیکی، بسته به نوع منطقه جمع‌آوری‌شده، دارای ویژگی‌های متفاوتی به شرح جدول ٤ می‌باشد.

جدول ٤: کد هرباریمی اخذ شده و ویژگی‌های اتنوفارماکولوژیکی گونه‌های بنفشه جمع‌آوری شده

منطقه	نام علمی	کدهرباریمی	نام محلی	درمان محلی
مینودشت (یکه‌سور)	*V.odorata* L.	TBZFPH 4094	بنفشه وحشی، ونوشه	درمان سردرد، سینوزیت، رفع گرفتگی گلو، مسهل، خشکی و گرفتگی گلو
مینودشت (قلعه قاف پایین- روستای کفش محله)	*V.odorata* L.	TBZFPH 8116	بنفشه وحشی	برطرف‌کننده خشکی و گرفتگی گلو، بهبود سردرد، نرم‌کننده پوست، درمان دردهای موضعی
علی‌آباد (افراتخته)	*V.alba* Bess.	TBZFPH 4098	ونوشه، بنفشه	تسکین سرماخوردگی، ضدسرفه، رفع مشکلات پوستی، ضدمیگرن و سردرد
جنگل توسکستان	*V.sieheana*	TBZFPH 4080	بنفشه، گل‌بنفشه	منظم‌کننده کار مجاری تنفسی و نرم‌کننده سینه، آرام‌بخش، صفرابر و خلط‌آور، مدر و معرق، درمان‌سردرد
روستای نومل	*V.suavis*	TBZFPH 4081	بنفشه وحشی، گل‌بنفشه	رفع ورم چشم، درد گلو، دفع صفرا، ملین و قی‌آور، درمان یرقان، درمان و تب و لرز و سردرد
جنگل قرن‌آباد	*V.odorata* L.	TBZFPH 4083	گل‌بنفشه	دم‌کرده رفع تنگی نفس و خشکی سینه، تحریک مخاط مری درمان میگرن
روستای زیارت	*V.odorata* L.	TBZFPH 4095	گل‌بنفشه	خلط‌آور، پایین‌آورنده دمای بدن، برطرف‌کننده خشکی سینه، درمان سردرد،
گرگان- جنگل النگدره	*V.odorata* L.	TBZFPH 4084	بنشه	تب‌بر، برای سرماخوردگی و عفونت
گرگان- جنگل شصت‌کلا	*V.odorata* L.	TBZFPH 4086	نون‌کلاغ	خلط‌آور، عفونت بچه‌های زیر یک سال، برطرف‌کننده تورم و چرک لوزه
بندرگز (استون‌آباد)	*V.odorata* L.	TBZFPH 4088	بنفشه	از گل‌ها برای تب و سرماخوردگی و سرفه، ضماد سوختگی
(ساری خال‌خیل)	*V.odorata* L.	TBZFPH 4089	ونوشه	برای سرماخوردگی، خلط‌آور، درمان بیماری گوارشی
آمل (پاشاکلا بیش‌محله)	*V.odorata* L.	TBZFPH 4097	ونوشه	برای سرما خوردگی و گرفتگی بینی، درمان خشکی گلو، ضدتب
چالوس (کندلوس-زانوس)	*V.sieheana*	TBZFPH 4090	ونوشه	در سینه پهلو، سرماخوردگی و ذات‌الریه
اردبیل (خلخال)	*V.sieheana*	TBZFPH 4091	بنفسج، بنفشه وحشی	روغن برای ماساژ، دمنوش برای رفع تنگی نفس، رفع سرفه و خشکی سینه، درمان ابریزش بینی
آذربایجان شرقی (کلیبر)	*V.ignobilis*	TBZFPH 4092	بنفشه	برای سرماخوردگی، ضدسرفه، آرامشبخش
کرمانشاه (پاوه- روستای‌خوانقا)	*V.ignobilis*	TBZFPH 4093	وه‌نوشه	عفونت و گلودرد، بهبود سردرد، برطرف‌کننده تورم و چرک لوزه

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات تعداد برگ، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک گل معنی‌دار بود (جدول ٥). براساس نتایج مقایسه میانگین دامنه تغییرات تعداد برگ بین ٥/٣ تا ٢٠/٧ عدد در بوته متغیر بود، این دامنه تغییرات زیاد نشان‌دهنده اثر بسیار

زیاد شرایط رشدی بر تعداد برگ گیاه بنفشه می‌باشد، به‌طوری‌که بیشترین تعداد برگ در افراتخته علی‌آباد مشاهده شد و کمترین تعداد برگ در منطقه توسکستان بدست آمد (شکل ۱)، همچنین بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر تعداد برگ بنفشه باید بیان کرد از ١٦ منطقه موردمطالعه ۱۰ منطقه دارای تعداد برگ بالای ۱۰ برگ در بوته بودند و در سایر مناطق تعداد برگ کمتر از ۱۰ عدد بود (شکل ۱).

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک جنس بنفشه در ١٦ رویشگاه

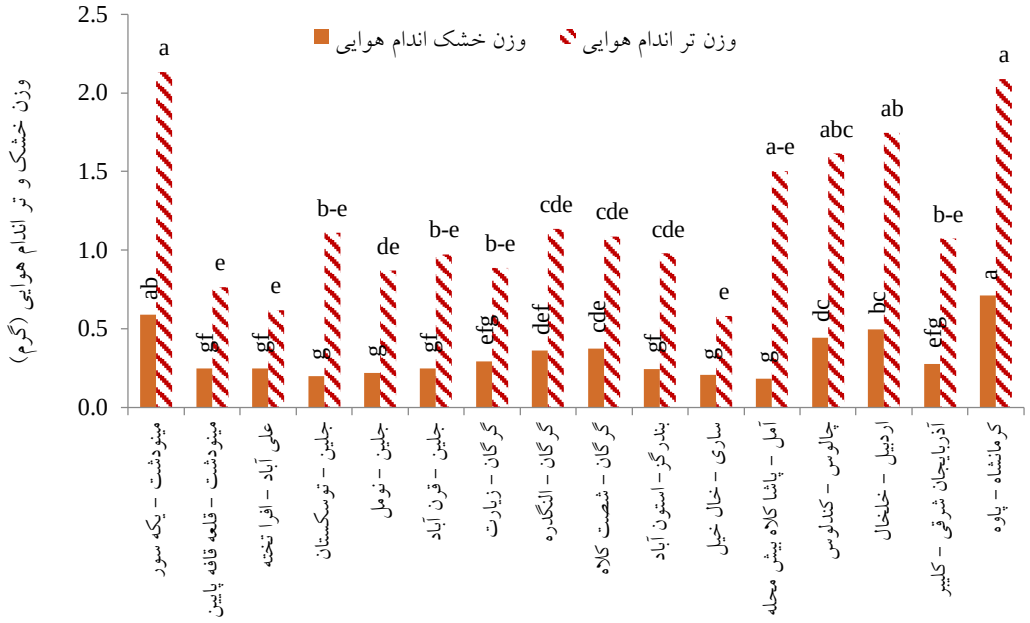
		میانگین مربعات											
منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد برگ	تعداد گل	وزن تر اندام هوایی	وزن‌خشک اندام هوایی	وزن‌تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر گل	وزن خشک گل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید
تیمار	۱۵	٦١/٠٦**	۱/۵۳*	۰/۳۸**	۰/۰۷*	۰/۲۱**	۰/۰۱**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۹*	۲/۰۸**	۰/۱۵**	۲/٦۹*	۰/۰۸**
خطا	۳۰	۵/۷۵	۱/۰۲	۰/۲۰	۰/۰۰۵	۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰٤	۰/٦۸	۰/۰۲	۱/۱	۰/۰۲
CV		١٦/٩	۱۵/۳	۱۸/۱	۱۷/۵	۱۲/۷	۱۰/٤	۱۹/۹	۱۲/۷	۱۵/٤	۱٦/۷	۱۱/۵	۱۳/۱

*و**: به‌ترتیب بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

شکل ۱: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر تعداد برگ و گل گیاه بنفشه

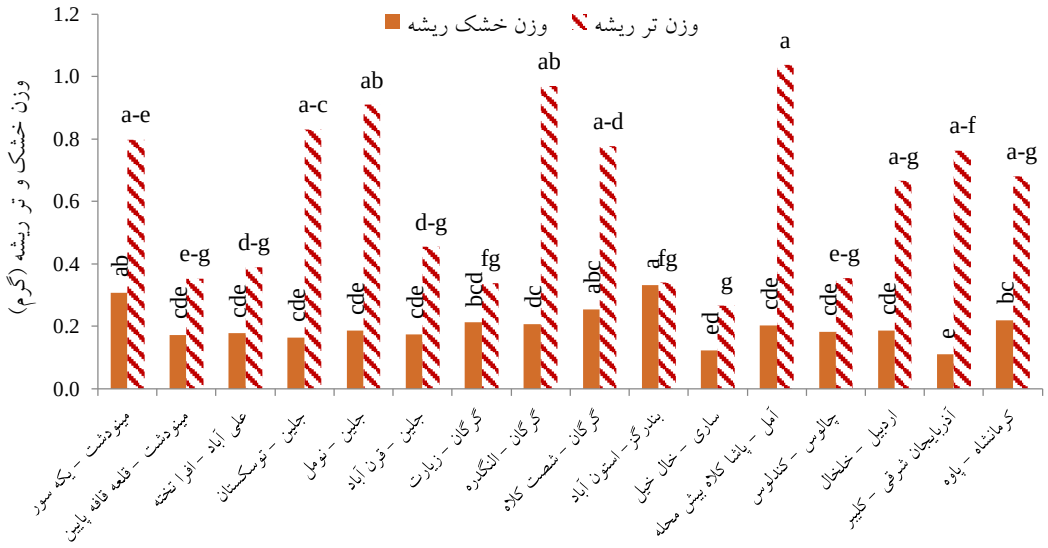
تغییرات در وزن خشک ریشه و بخش هوایی در مناطق مورد مطالعه نیز بسیار زیاد بود به‌طوری‌که وزن بخش هوایی در مناطق مختلف بین ۰/۱۸ تا ۰/۷۱ گرم در بوته متغیر بود، بیشترین وزن خشک اندام هوایی در پاوه کرمانشاه مشاهده گردید و کمترین وزن خشک اندام هوایی در ساری (خال‌خیل) به‌دست آمد، همچنین بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر وزن خشک اندام هوایی باید بیان کرد در بین ١٦ منطقه مورد مطالعه تنها ٦ منطقه وزن خشک اندام هوایی بالاتر از ۰/۳ گرم در بوته داشتند و در سایر

مناطق وزن خشک اندام هوایی کمتر از ۰/۳ گرم در بوته بود (شکل ۲)، در رابطه با وزن خشک ریشه نیز دامنه تغییرات در بین مناطق مورد مطالعه بسیار بالا بود، به‌طوری که وزن ریشه در مناطق مورد مطالعه در گیاه بنفشه بین ۰/۱۱ تا ۰/۳۳ گرم در بوته متغیر بود، در بین مناطق مورد مطالعه دو منطقه آمل و ساری وزن خشک ریشه کمتر از ۰/۱۵ در بوته داشتند که این امر نشان‌دهنده شرایط نامناسب برای رشد ریشه در این مناطق می‌باشد، اما در دو منطقه بندرگز و منطقه مینودشت (یکه‌سور) وزن خشک ریشه بیشتر از ۰/۳ گرم در بوته بوده است که نشان‌دهنده شرایط مناسب برای رشد ریشه در این مناطق نسبت به سایر مناطق موردمطالعه می‌باشد (شکل ۲).

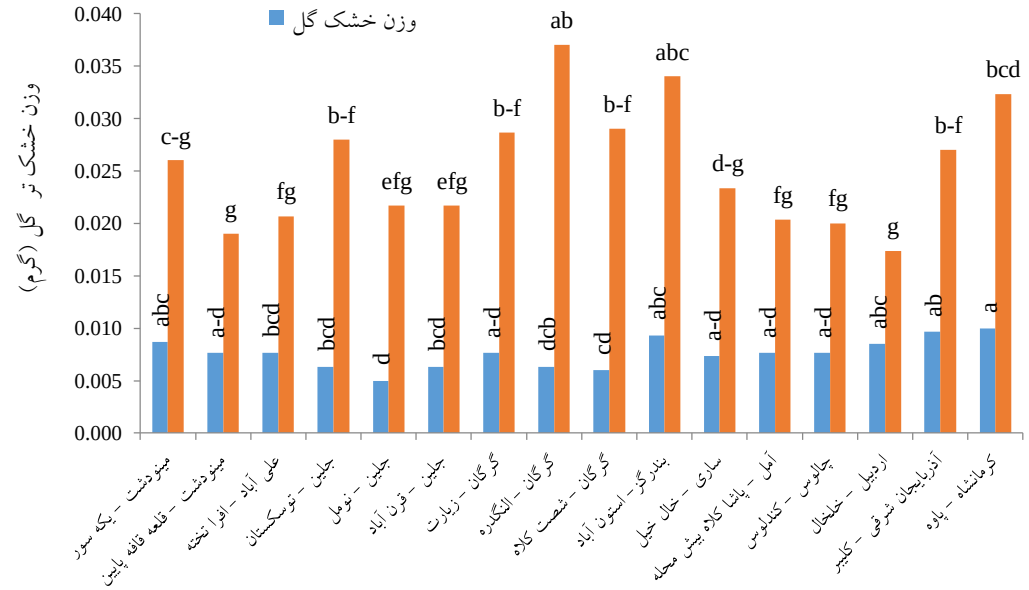


شکل ۲: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر وزن خشک و تر اندام هوایی گیاه بنفشه

در شکل ۳ نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر وزن خشک گل در گیاه بنفشه آورده شده است، گل در گیاه بنفشه یکی از مهمترین اجزای دارویی گیاه می‌باشد و اهمیت بالایی دارد، بر اساس نتایج این آزمایش بیشترین وزن خشک گل در مناطق مورد مطالعه در مناطق کرمانشاه و کلیبر مشاهده شد که برابر ۰/۰۱ گرم در بوته بود و کمترین وزن خشک گل در مناطق نومل و شصت‌کلا مشاهده شد که برابر ۰/۰۰٦ گرم در بوته بود (شکل ۳)، نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر وزن خشک گل بنفشه نشان داد اختلاف بین مناطق موردمطالعه از نظر وزن خشک گل برابر ۰/۰۰٤ گرم در بوته بود که این اختلاف زیاد نبود، در واقع به عبارت دیگر باید بیان کرد حداکثر اختلافی که منطقه رشدی در وزن گل بنفشه توانسته است ایجاد کند ۰/۰۰٤ گرم در بوته می‌باشد که این مقدار، وزن خشک بالایی نسبت به وزن خشک اندام هوایی با اختلاف ۰/۵۳ و وزن خشک ریشه با اختلاف ۰/۲۲ گرم در بوته نمی‌باشد (شکل‌های ۲ و ۳).



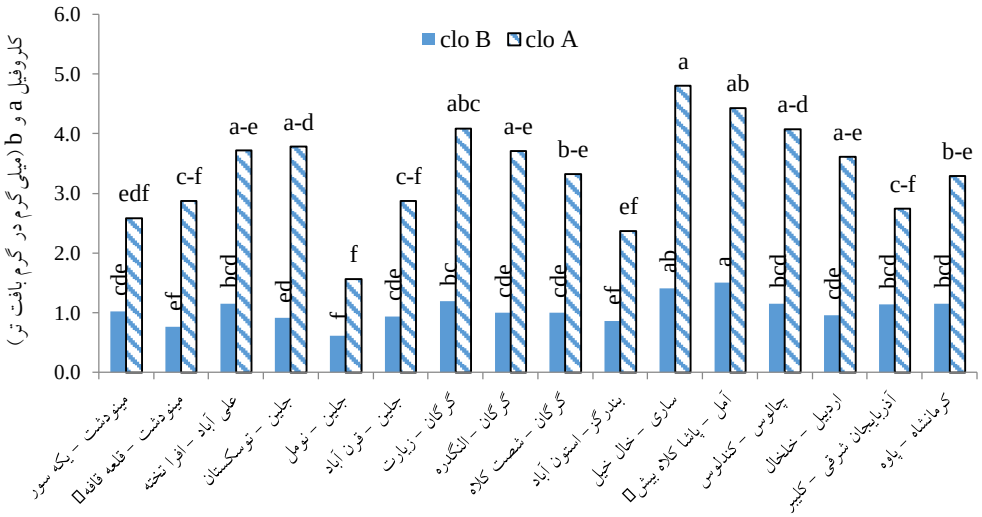
شکل ۳: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر وزن خشک و تر ریشه گیاه بنفشه



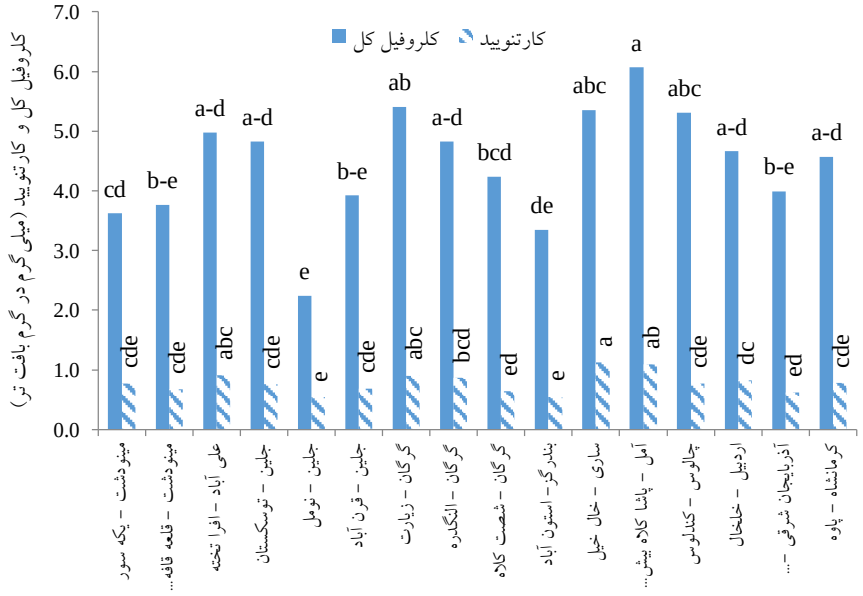
شکل ٤: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر وزن خشک و تر گل گیاه بنفشه

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر رنگیزه‌های فتوسنتزی بنفشه (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنویید، کلروفیل‌کل و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b) معنی‌دار بود (جدول ٤)، بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر محتوی کلروفیل a و کلروفیل b، بیشترین مقدار برای کلروفیل a و کلروفیل b در مناطق ساری و آمل مشاهده شد، همچنین بیشترین میزان کلروفیلa در مناطق ساری و آمل به‌ترتیب برابر ٤/٨ و ٤/٤٣ میلی‌گرم در گرم بافت تر بود، و میزان کلروفیل b در این دو منطقه نیز به‌ترتیب برابر ١/٤١ و ١/٥ میلی‌گرم در گرم بافت تر بود (شکل ٤)، کمترین محتوای کلروفیلa در منطقه ٥ مشاهده شد که برابر ١/٥٧ میلی‌گرم در گرم بود و کمترین میزان کلروفیل b نیز در منطقه ٥ مشاهده شد

که برابر ۰/٦۱ میلی‌گرم در گرم بافت تر بود، به‌طور کلی بر اساس نتایج این آزمایش باید بیان کرد که در تمامی مناطق مورد مطالعه میزان کلروفیل a کمتر از کلروفیل b بود (شکل ۵)، تفاوت بالا بین مناطق مورد مطالعه از نظر میزان کلروفیل a و کلروفیل b نشان‌دهنده آن است که شرایط رشدی مختلف اثرات متفاوتی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی بنفشه دارند، محققان بیان کرده‌اند میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی رابطه مستقیم با عناصر غذایی در دسترس گیاه به‌خصوص نیتروژن دارد، از این جهت در مناطقی که حاصل‌خیزی خاک بالا می‌باشد میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز بالا می‌باشد، براساس نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر میزان کلروفیل a، ۱۰ منطقه از مناطق مورد مطالعه دارای کلروفیل a بیشتری از ۳ میلی‌گرم در گرم بافت تر داشتند که نشان‌دهنده خاک حاصلخیز در این مناطق می‌باشد، همچنین در بین مناطق مورد مطالعه ۱۰ منطقه کلروفیل b بیشتر از ۱ میلی‌گرم در گرم بافت‌تر داشتند (شکل ۵).



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر کلروفیل a و b در گیاه بنفشه



شکل ٦: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر کلروفیل‌کل و کارتنویید در گیاه بنفشه

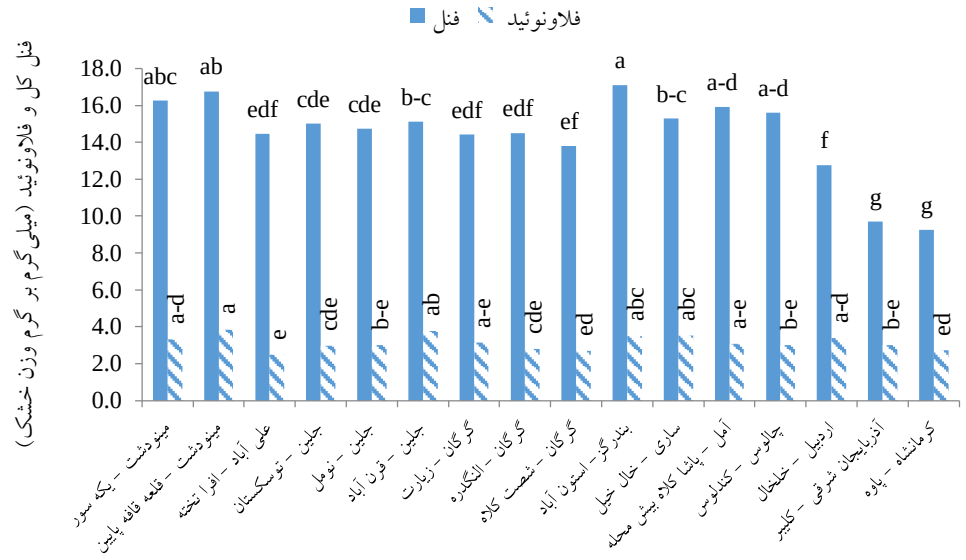
در رابطه با میزان کلروفیل‌کل و کارتنوئید نیز همانند کلروفیل a و b بیشترین میزان برای کلروفیل‌کل و کارتنوئید در منطقه‌های آمل و ساری مشاهده شد و کمترین میزان برای کلروفیل‌کل و کارتنوئید در منطقه نومل بدست آمد، دامنه تغییرات کلروفیل کل بین ۲/۲۴ تا ۶/۰۷ میلی‌گرم در گرم بافت‌تر بود و برای کارتنوئید بین ۰/۵۴ تا ۱/۱۲ میلی‌گرم در گرم بافت تر متغیر بود (شکل ۶).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر میزان فنل‌کل و فلاونوئیدکل جنس بنفشه در سطح احتمال پنج‌درصد معنی‌دار بود (جدول ۶).

جدول ۶: نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های فیتوشیمیایی بنفشه معطر

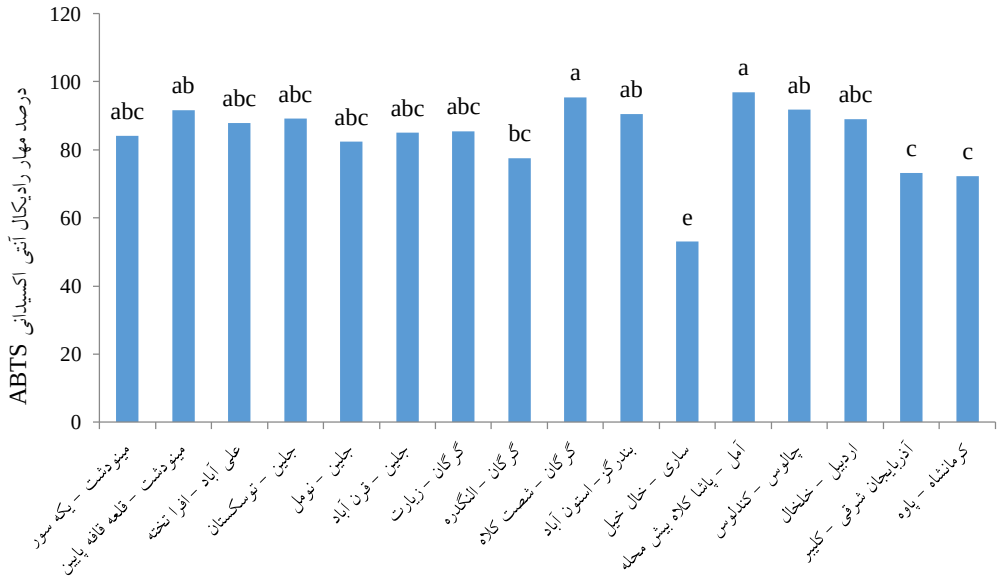
منابع تغییر	درجه آزادی	فنل کل	فلاونوئید کل	ABTS	DPPH
تیمار	۱۵	۱۴/۶*	۰/۴۵*	۳۵۷/۵**	۷۶۷/۷**
خطا	۳۰	۱/۰۹	۰/۲۲	۱۰۶/۴	۴/۵
ضریب تغییرات (CV)		۱۴/۶	۱۷/۳	۱۰/۲	۱۸/۹

نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر میزان فنل‌کل و فلاونوئیدکل نشان داد بیشترین میزان فنل‌کل در منطقه بندرگز مشاهده شد و برابر ۱۷/۰۹ میلی‌گرم بود و کمترین میزان برای فنل‌کل در منطقه کرمانشاه مشاهده شد که برابر ۹/۲۷ میلی‌گرم بود، همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر میزان فنل‌کل نشان داد در بیشتر مناطق (۱۴ منطقه) میزان فنل‌کل در گیاه بنفشه بیشتر از ۱۳ میلی‌گرم بود، این امر نشان‌دهنده آنست که در بیشتر مناطق موردمطالعه میزان فنل‌کل گیاه بنفشه بالا می‌باشد (شکل ۷)، در رابطه با میزان فلاونوئید در مناطق مختلف مورد مطالعه نیز دامنه تغییرات بین ۲/۴۷ تا ۳/۸۵ میلی‌گرم بود که بیشترین میزان فلاونوئید در منطقه مینودشت قلعه‌قاف مشاهده شد و کمترین میزان برای فلاونوئیدکل در منطقه افراتخته به‌دست آمد، در رابطه با میزان فلاونوئیدکل نیز در ۱۱ منطقه از ۱۶ منطقه موردمطالعه میزان فلاونوئیدکل بیشتر از ۳ میلی‌گرم بود (شکل ۷).



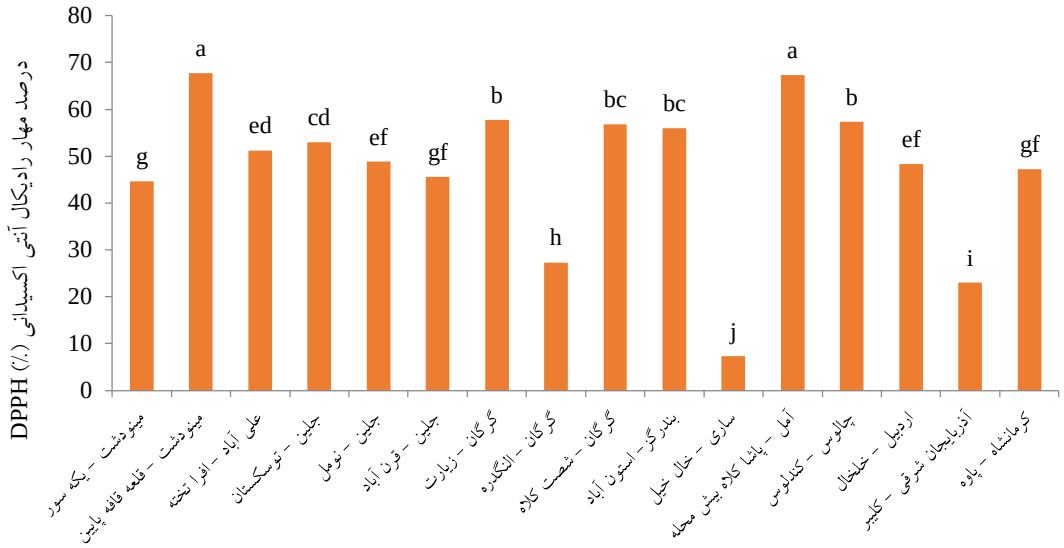
شکل ۷: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر فنل‌کل و فلاونوئیدکل در گیاه بنفشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان ABTS و DPPH در گیاه بنفشه معنی‌دار بود (جدول ٦). نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر میزان ABTS نشان داد در بیشتر مناطق موردمطالعه (۱۲ منطقه) میزان ABTS بیشتر از ۸۰ میلی‌گرم بود و تنها در ٤ منطقه مقدار ABTS کمتر از ۸۰ میلی‌گرم بود که از این ٤ منطقه تنها یک منطقه ABTS کمتر از ۷۰ میلی‌گرم داشت و سایر مناطق ABTS بیشتر از ۷۰ میلی‌گرم داشتند (شکل ۸)، کمترین مقدار برای ABTS در منطقه ساری مشاهده شد و بیشترین مقدار برای ABTS در مناطق آمل و شصت‌کلا مشاهده شد که به‌ترتیب برابر ۹٦/۹ و ۹۵/٤ میلی گرم بودند، به‌طورکلی براساس نتایج این آزمایش باید بیان کرد مناطق موردمطالعه از نظر میزان ABTS تولید شده در گیاه بنفشه در وضعیت خوبی می‌باشند، زیرا تنها یک منطقه به تفاوت بسیار زیاد ABTS کمتری نسبت به سایر مناطق داشت و در سایر مناطق میزان تولید ABTS نزدیک به یکدیگر و بالا بود (شکل ۸).



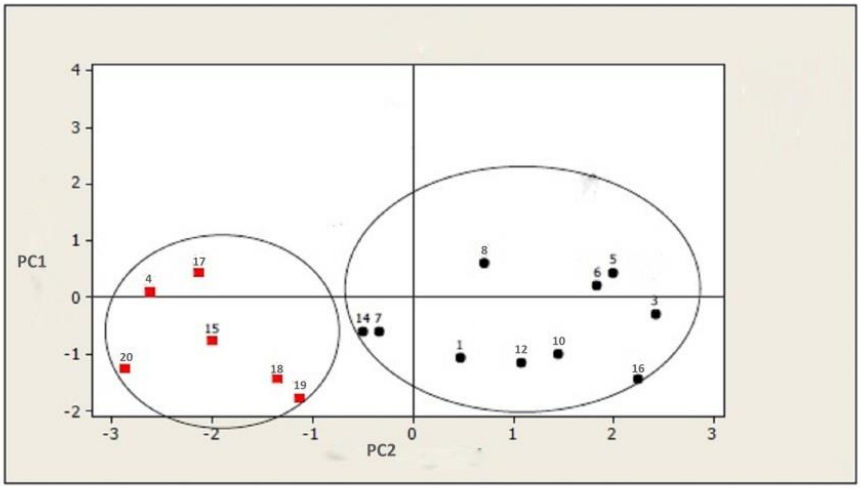
شکل ۸: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر میزان ABTS در گیاه بنفشه

نتایج مقایسه میانگین اثر منطقه بر میزان DPPH نشان داد دامنه تغییرات DPPH بین ۷/۳ تا ٦۷/۷ میلی‌گرم در مناطق موردمطالعه متغیر می‌باشد، دامنه تغییرات بالا نشان از اثرات متفاوت منطقه رشدی بر میزان DPPH گیاه بنفشه دارد، با این‌وجود در بیشتر مناطق مورد مطالعه میزان DPPH بین ٦۸ تا ٤۵ میلی‌گرم بود که نشان‌دهنده تغییرات کم DPPH در بیشتر مناطق موردمطالعه می‌باشد، بیشترین مقدار برای DPPH در مناطق آمل و مینودشت قلعه‌قاف مشاهده شد که به‌ترتیب برابر ٦۷/۳ و ٦۷/۷ میلی‌گرم بود، کمترین میزان برای DPPH در منطقه ساری مشاهده شد و برابر ۷/۳ میلی‌گرم بود (شکل ۹).



شکل ۹: مقایسه میانگین اثر منطقه رویش بر میزان DPPH در گیاه بنفشه

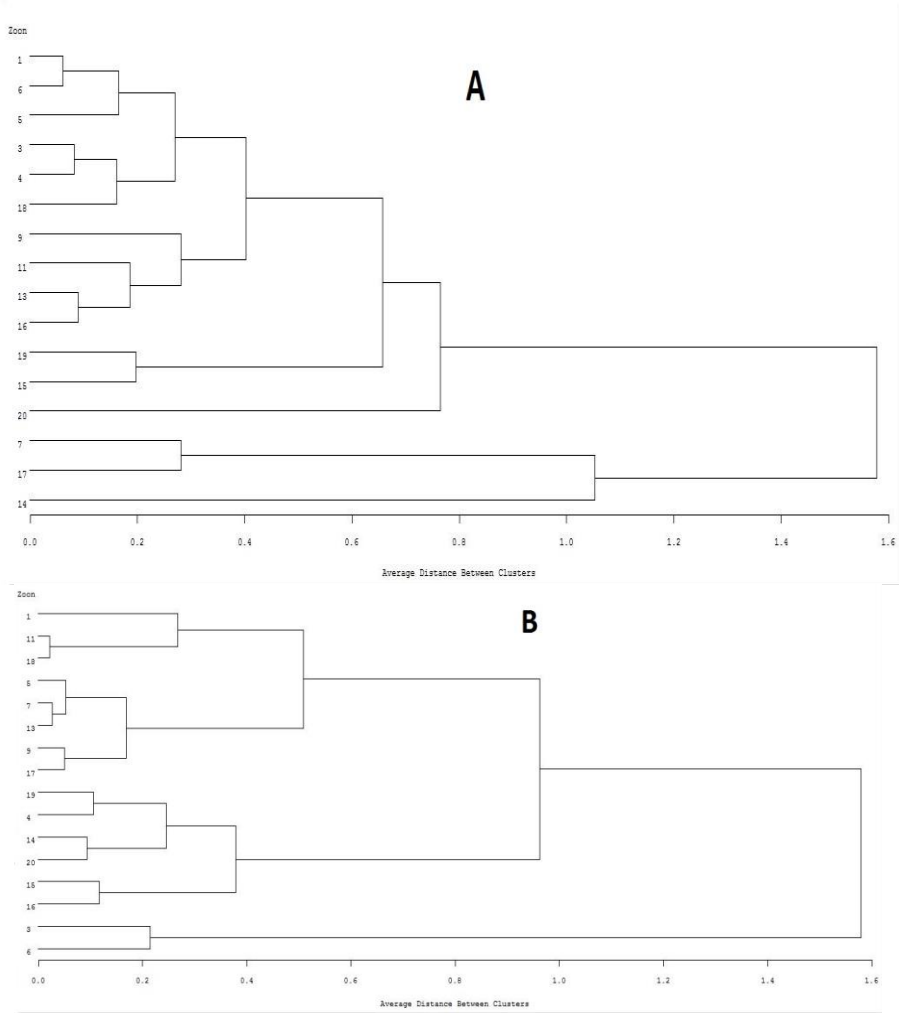
تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA): نتایج شکل ۱۰ نشان داد در تجزیه به مولفه‌های اصلی مناطق موردمطالعه به دو گروه بزرگ تقسیم شده‌اند. مناطقی که دارای ارتفاع بیشتری از سطح دریا (مولفه اول) بودند در یک گروه و مناطقی میزان نیتروژن خاک (مولفه دوم) بیشتری داشتند در یک گروه دیگر قرار گرفتند، این امر نشان دهنده آنست که خصوصیات جنس بنفشه بیشتر تحت‌تاثیر ارتفاع محل رویش و میزان نیتروزن خاک قرار می‌گیرد و بر این اساس می‌توان گیاهانی را که در مناطق با ارتفاع تقریبا یکسان رشد کرده‌اند در یک گروه قرار داد و گیاهان که در مناطق دارای نیتروژن خاک بالا رویش داشته‌اند نیز در یک منطقه قرار داد (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) مولفه اول ارتفاع از سطح دریا، مولفه دوم میزان نیتروژن خاک

تجزیه کلاستر: در شکل ۱۰، نتایج تجزیه کلاستر برای داده‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی بنفشه به‌صورت مجزا آورده شده است، برای تجزیه کلاستر داده‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی بنفشه در فاصله اقلیدسی

صفر مناطق به ۹ خوشه تقسیم شدند، همچنین بر اساس نتایج تجزیه کلاستر داده‌های مورفولوژیک در فاصله ۰/۲ اقلیدسی مناطق مورد مطالعه به چهار خوشه بزرگ تقسیم می‌شوند که مناطقی مانند افراتخته و قرن‌آباد که دارای صفات مورفولوژیک مشابه هستند مانند وزن خشک برگ و تعداد برگ در یک خوشه قرار گرفته‌اند، علاوه‌بر این موارد نتایج تجزیه کلاستر نشان داد به دلیل اختلاف بین صفات مورفولوژیک در مناطق مختلف در فاصله اقلیدسی صفر هیچ کدام از مناطق در یک خوشه قرار نگرفتند (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات فیتوشیمیایی (A) و صفات مورفولوژیک (B) در گیاه بنفشه

بحث

تغییر در عوامل محیطی سبب تغییر در رشد و نمو و ترکیب متابولیت‌های ثانویه گیاهان می‌شود، لذا اکوتیپ‌های مختلف گونه‌ها و جنس‌های گیاهی بسته به شرایط اکولوژیکی، اقلیمی و ادافیکی، به‌لحاظ عملکرد و ماده موثره بسیار متنوع می‌باشند که این تنوع سبب گوناگونی وسیعی در ویژگی‌های رشدی، دامنه فعالیت‌های دارویی و بیولوژیک می‌گردد (Saeidi et al., 2014; Alizadeh Behbahani et al., 2018). براساس نتایج آزمایش حاضر، تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی در مناطقی با درصد بالای نیتروژن و ماده آلی خاک افزایش نشان داد و این مقادیر به‌ویژه میزان وزن خشک بخش هوایی و تعداد برگ در مناطقی با شوری بالا و pH کمتر از ٦/٥، کاهش یافت.

در همین راستا تاکید شده است از مهمترین عوامل تاثیرگذار بر رشد و نمو گیاه دارویی مشخصات فیزیکی و شیمیایی به‌ویژه شوری، مواد آلی و pH خاک محل روش گیاه می‌باشد (Al-Jaber et al., 2012; Jaffarpour et al., 2018). که این افزایش در مواد آلی و نیتروژن را در ارتفاع پایین می‌توان به گرم‌تر بودن خاک و درنتیجه افزایش فراوانی و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه دسترس بودن نیتروژن معدنی نسبت داد (Robinson et al., 2022). درخصوص pH، مشخص شده‌است که به‌طور معمول در گیاهان بین ٦/٢ تا ٨/٣ می‌باشد که بر اساس نظر محققان خارج از این محدوده باعث کاهش رشد و نمو گیاهان می‌شود (Tabatabaei, 2008).

دامنه تغییرات بالا برای کارتنوئید و کلروفیل‌کل نشان‌دهنده این امر است که منطقه رویش می‌تواند اثر بسیار زیادی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بنفشه داشته باشد به گونه‌ای که بالاترین میزان رنگیزه‌های کلروفیلی در مناطق آمل و ساری دیده شد که باتوجه به بالاتر بودن میزان ماده آلی و فسفر، می‌توان دلیل این افزایش را به این ترکیبات در کنار میزان بالای نیتروژن و شوری پایین، دانست. همچنین در تحقیقات مشابه مشخص شد ترکیبات پروتیینی گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی و فنل‌ها به‌شدت به محیط رشد گیاه واکنش نشان داده و در هر منطقه که میزان نیتروزن، فسفر و ماده آلی خاک زیاد باشد میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در آن منطقه نسبت به سایر مناطق افزایش می‌یابد (Kaghazloo et al., 2017). همچنین در تحقیقی که روی محتوی کلروفیل در گیاه گلین گنگ (*Cassia alata* L.) در محیط کشت‌های متفاوت بدون خاک و خاک حاوی مواد آلی نشان داده شد گیاهان در خاک آلی دارای بیشترین میزان کلروفیل بودند (Rohmanna & Mulyawan, 2022).

از طرف دیگر، از عوامل مهم در رشد و نمو گیاهان، افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و تولید مواد فتوسنتزی در گیاه می‌باشد که همان‌طور که در نتایج این طرح دیده شد، منجربه افزایش وزن خشک گیاه می‌شود (Mazaraie et al., 2018). در تایید این گزارش، می‌توان به تحقیقاتی که روی اثربخشی ترکیبات آلی مانند اسیدهیومیک روی رشد و افزایش ترکیبات ثانویه وجود دارد که می‌توان به اثرات تحریک‌کنندگی جوانه‌زنی، رشد و متابولیت‌های ثانویه این ترکیب آلی روی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) (Gorgini shabankareh et al., 2018) و خرفه (*Portulaca oleracea*) (Mozaffari et al., 2017) و سرخارگل (*Echinacea purpurea*) (Alizadeh Ahmadabadi and khorasaninejad, 2016; Alizadeh Ahmadabadi et al., 2017) اشاره نمود.

همچنین شرایط اقلیمی ارتفاع، درصد رطوبت و درجه حرارت نیز ازجمله مهمترین عوامل تأثیرگذار بر رشد رویشی گیاهان دارویی و همچنین ترکیبات شیمیایی آنها مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌باشد (Omidbaigi, 2014; Safi et al., 2016). افزایش از سطح دریا، کاهش دما باعث کاهش در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شوند، بر همین اساس ارتفاعات متوسط و کوهپایه‌ها، مانند آمل، در کنار سایر شرایط بهینه مانند بالا بودن غلظت عناصر غذایی در ارتفاعات پایین، مناسب‌ترین مناطق برای رشد گیاهان و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌باشد (Jalali, 2012; Jewell et al., 2007).

براساس نظر محققان ترکیبات فنل‌کل و فلاونوئیدکل معمولاً به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه و

جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند. ترکیبات فنلی با گروه‌های هیدروکسی آزاد متصل به حلقه آروماتیک باند شده و از اثرات منفی گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری می‌کنند (Martens et al., 2005; Al-Amier & Craker, 2006). در تحقیق که روی گیاه کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) که از نظر دارویی و محتوی بالای ترکیبات فنلی اهمیت زیادی دارد. در همین راستا و در مورد گونه‌های همراه با جنس بنفشه در رویشگاه‌های شمال ایران مانند گزنه (*Urtica dioica* L.)، در پژوهشی که به بررسی اثر ارتفاع بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی برگ این گیاه در استان‌های مازندران و گلستان پرداخت، مشخص شد میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، اسیدکلروژنیک، اسیدکافئیک و روتین در برگ گیاه گزنه با افزایش ارتفاع بیشتر شد به نحوی‌که بیشترین میزان ترکیبات فوق در ارتفاع ۲۲۵۲ متری منطقه له‌کوه مازندران مشاهده گردید (Najjar Firoozjaee et al., 2014).

نتایج اصلی نشان داد که بالاترین محتوای ترکیبات فنلی و محتوای آنتی‌اکسیدانی عصاره $ABTS^{+}$، FRAP (قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش‌دهنده آهن) و DPPH در عصاره‌های گیاهی در تیمار آلی به‌دست آمد. علاوه بر این، اسیدکلروژنیک بین ۳۷ تا ٤٥ درصد در سیستم‌های کشت آلی افزایش یافت (Sałata et al., 2022). در تحقیقی روی *Cannabis sativa* مشخص شد درصد مهار رادیکال‌های آزاد در بستر کشت حاوی ورمی‌کمپوست نسبت به محیط‌های دیگر شامل خاک زراعی و سیستم های کشت بدون‌خاک، افزایش یافت (Beheshti and Khorasaninejad, 2023).

از این‌رو بالا بودن میزان فنل‌کل و فلاونوئیدکل نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌باشد. به‌طور کلی افزایش ترکیبات فنلی وابسته به افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ترکیبات فنلی مطرح می‌شود که اشاره بر سنتز فنل‌ها تحت شرایط سخت محیطی ازجمله میزان مواد غذایی موجود در خاک، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، شرایط اقلیمی منطقه رویش ازجمله ارتفاع، دما و بارندگی، عرض جغرافیایی دارد (Adil et al., 2007; Hosseini et al., 2019). درنتیجه رادیکال‌های آزاد تولیدشده که در شرایط سخت محیطی به‌طور مثال افزایش ارتفاع یا سردی و گرمی هوا میزان رادیکال‌های آزاد افزایش پیدا می‌کند (Nikkhah et al., 2010). در این راستا می‌توان به نتایج مطالعه Kargar و همکاران (۲۰۱۵) اشاره نمود که با بررسی ارتباط ویژگی‌های عملکردی چای‌کوهی با برخی از ویژگی‌های خاکی و توپوگرافی در حوضه آبخیز لاسم دریافتند که خصوصیات توپوگرافی و ویژگی‌های خاکی اثر معنی‌داری را بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشتند. در تحقیقی دیگری روی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میوه نارس *Citrus aurantium* L. مشخص گردید در دو منطقه گرگان و آمل، بیشترین میزان DPPH مربوط به منطقه گرگان بود که دلیلی این امر را خصوصیات متفاوت خاک منطقه گرگان بیان کردند (Zakerimehr et al., 2013).

در مقابل این عوامل، آنتی‌اکسیدان‌ها وجود دارند که در غلظت‌های پایین به‌طور قابل‌توجهی اکسیداسیون سوبستراهای قابل‌اکسید را به‌تاخیر انداخته یا ممانعت می‌نمایند (Salmanian et al., 2013). نقش آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان عوامل کاهش‌دهنده و محدودکننده آسیب‌های اکسیداتیوی به ساختارهای زیستی به‌وسیله غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد که از این طریق نقش مهمی در جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپید ایفا می‌کنند (Gulcin et al., 2011; Barros et al., 2010; Majewska et al., 2011). افزایش در میزان ABTS و DPPH نشان‌دهنده بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه بنفشه می‌باشد. نتایج این آزمایش نشان داد گیاه

بنفشه در بیشتر مناطق موردمطالعه دارای میزان ABTS و DPPH بالایی می‌باشد ولی در برخی از مناطق موردمطالعه در این آزمایش میزان ABTS و DPPH نسبت به مناطق دیگر به‌طور معنی‌داری کمتر بود که این امر نشان‌دهنده اثر معنی‌دار منطقه رویش بر میزان ABTS و DPPH در گیاه بنفشه می‌باشد. به طوری‌که بیشترین میزان ABTS و DPPH مربوط به منطقه پاشاکلا در آمل بوده است که این نتیجه را می‌توان به بالاتر بودن دمای متوسط ماهانه و کمترین ارتفاع از سطح دریا در این منطقه مربوط دانست. در همین راستا، در تحقیق صورت‌گرفته توسط Alibakhshi و همکاران (2014) روی گیاه سنبله بادکنکی (Stachys inflate) جمع‌آوری‌شده از سه رویشگاه، رویشگاه بلده با کمترین ارتفاع از سطح دریا، بیشترین میزان DPPH را به خود اختصاص داد. همچنین Sepehrifar و Hassanlu(2009) با بررسی مقایسه‌ای مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و میزان DPPH در عصاره متانولی برگ و میوه گیاه قره‌قاط جمع‌آوری‌شده از استان‌های اردبیل، گیلان و مازندران دریافتند که بیشترین مقدار این ترکیبات مربوط به میوه قره‌قاط منطقه کلاردشت مازندران با ارتفاع کمتر بود. همچنین در سری تحقیقاتی به‌منظور بررسی تنوع چای کوهی (Stachys lavandulifolia Vahl.) از رویشگاه‌های مختلف در نشابور، مشهد، شاهرود و قوچان مشخص گردید تنوع بالایی بین اکوتیپ‌های جمع‌آوری‌شده به لحاظ ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، آنتی‌اکسیدانی وجود دارد به‌طوری که ثابت شد که عوامل آب و هوایی، ویژگی‌های خاک و مختصات جغرافیایی و ارتفاع دارای اثرات معنی‌داری روی ویژگی‌های رشدی و متابولیت‌های ثانویه این گیاه داشته‌اند (Chorli et al., 2016; Chorli et al., 2020).

در پژوهش Moradi و همکاران (۲۰۲۱) نتایج تحقیق آنها نشان داد که بنفشه‌معطر (*Viola odorata*) در مقایسه با بسیاری از گونه‌های دارویی دیگر، علاوه‌بر مواد موثر از میزان آنتی‌اکسیدانی هم از ظرفیت خوبی برخوردار است که این میزان بسته به محل رویش متفاوت بود واز یک طرف با ارتفاع از سطح دریا رابطه مستقیم و معنی‌داری دارد. از آنجایی‌که این گیاه به لحاظ دارویی بسیار شناخته شده و پرکاربرد می‌باشد اهلی شدن آن نیز اهمیت زیادی نیز برخوردار است که سعی شده به‌صورت صنعتی مورد کشت و کار قرار گیرد (Hassanpouraghdam et al., 2022; Marcussen et al., 2022) و بررسی و تحلیل هدفمند این نتایج می‌تواند کمک شایانی در انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به شرایط محدودکننده محیط کشت، به‌ویژه باتوجه به تغییرات اقلیمی و پدیده گرمایش زمین، انتخاب مقاوم به شرایط کم‌آبی و دمای بالا داشته باشند (Gorgini shabankareh et al., 2021). در همین راستا در تحقیقی که روی امکان‌سنجی اهلی کردن چند گونه از جنس بنفشه صورت گرفت، نتایج حاکی از آن بود که تنوع زیادی بین جمعیت‌های کشت شده بنفشه وجود دارد که این تنوع می‌تواند مربوط به تنوع ژنتیکی بالا در بین جمیعیت‌ها، شرایط محیطی و اثر متقابل ژنتیک و محیط باشد (Ghorbani et al., 2022).

نتایج تجزیه کلاستر براساس صفات فیتوشیمیایی نیز نشان داد به‌دلیل اختلاف بین مناطق براساس صفات فیتوشیمیایی مانند DPPH و ATBS در فاصله اقلیدسی صفر نیز هیچ کدام از دو منطقه در یک خوشه قرار نگرفتند، همچنین براساس نتایج تجزیه کلاستر صفات بیوشیمیایی باید بیان کرد اختلاف بین مناطق بر اساس صفات بیوشیمیایی بیشتر از صفات مورفولوژیک می‌باشد، زیرا در خوشه‌بندی کلاستر مناطق بر اساس صفات بیوشیمیایی منطقه ساری (خال‌خیل) از فاصله اقلیدسی ۱ در یک خوشه مجزا قرار گرفت، بنابراین می‌توان بیان کرد نتایج تجزیه

خوشه‌ای نیز نشان‌دهنده این امر است که منطقه رویش اثر بسیار زیادی بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی در گیاه بنفشه دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نهایی این آزمایش نشان داد منطقه رویش اثر معنی‌داری بر اجزای عملکرد، ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه بنفشه دارد. به طوری‌که با افزایش ماده آلی و عناصر غذایی خاک به‌ویژه نیتروژن، میزان کلروفیل و وزن خشک اندام هوایی افزایش یافت. برخلاف آن، میزان فنل‌کل، فلانوییدکل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ABTS و DPPH با سخت‌تر شدن شرایط محیط مانند کاهش عناصر محیطی و یا در این مطالعه افزایش دمای متوسط با کاهش ارتفاع از سطح دریا، افزایش پیدا کرد.

References

Adil, H.I., Cetin, H.I., Yener, M.E., and Bayindirh, A. 2007. Subcritical (carbon dioxide+ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. The Journal of Supercritical Fluids. 43: 55-63.

Ahmad, H., Khan, S. M., Ghafoor, S., and Ali, N. 2009. Ethnobotanical study of upper siran. Journal of herbs, spices and medicinal plants. 15(1): 86-97.

Al-Amier, H., and Craker, L.E. 2006. In vitro selection for stress tolerant spearmint. Botanicals and Medicinals. 306-310.

Alibakhshi, M., Mahdavi, Kh., Mahmoudi, J., and Ghelichnia, H. 2014. Phytochemical survey of essential oil of *Stachys inflate* indifferent regions of Mazandaran. Eco – phytochemical Journal of Medicinal Plants. 6(2):56-68.

Alizadeh Ahmadabadi, A., and khorasaninejad, S. 2016. The effect of humic acid pretreatment on germination of purple cornflower (*Echinacea purpurea*) plant under drought and salinity conditions. Arid Biome Scientific and Research Journal. 6 (2): 97-107. (In Persian)

Alizade ahmad abadi, A., Khorasaninejad, S., and Hemmati, Kh. 2017. The effect of limited irrigation stress and humic acid on the some morphological and root phytochemical characteristics of Purple coneflower. Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture). 19(1): 1-14. (In Persian)

Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Vasiee, A., and Mortazavi, S.A. 2018. Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. Microbial Pathogenesis. 114: 449-452.

Al-Jaber, H.I., Al-Qudah, M.A., Barhoumi, L.M., Abaza, I.F., and Afifi, F.U. 2012. Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried *Salvia palaestina* Benth. (Lamiaceae) growing wild in Jordan. Natural Product Research. 26 (13): 1179-1187.

Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., and Ferreira, I.C.F.R. 2010. Strawberry-tree, blackthorn fruits: detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. Journal of Food Chemistry. 120: 247-254.

Barens, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S., and Davison, A.W. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophyll a and b in lichens and higher plants. Environmental Exprimental Botany. 32 (2): 85–90.

Beheshti, F., and Khorasaninejad, S. 2023. Effect of silicon on some growth, physiological and phytochemical properties of *Cannabis sativa* L. in soil and soilless culture. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 10(4): 44-61.

Beheshti, F., Khorasaninejad, S., and Hemmati, K. 2023. Effect of salinity stress on morphological, physiological, and biochemical traits of male and female plants of cannabis (*Cannabis sativa* L.). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 30(2): 242-262.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Food and Drug Analysis. 10: 178-182.

Chorli, S., Khorasaninejad, S., Hemmati, Kh., and Kashefi, B. 2016. The study of morphological characteristics, antioxidant and essential oil contents of the medicinal plant *Stachys lavandulifolia* Vahl. in habitats of Semnan, Razavi, and North Khorasan provinces. Journal of Plant Ecophysiological Research. 11(41): 41-52. (In Persian)

Chorli, S., Khorasaninejad, S., Hemmati, Kh., and Kashefi, B. 2020. Ethnopharmacology, quantity, and quality of flower and leaf of *Stachys lavandulifolia* Vahl. in four habitats in Semnan, Khorasan Razavi, and North Khorasan provinces. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 11(59): 72-88. (In Persian)

Ghorbani, M., Khorasaninejad, S., Hemmati, K., and Ghorbani, K. 2022. Feasibility study on some native Iranian *Viola* spp. domestication. Iranian Journal of Medicinal & Aromatic Plants. 38(4): 632-650. (In Persian)

Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., Sadeghi, M., and Tabasi, A.R. 2018. The effects of irrigation periods and humic acid on morpho-physiological and biochemical traits of Thyme (*Thymus vulgaris*). Journal of Plant Ecophysiological Research. 13(51): 67-82. (In Persian)

Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., Soltanloo, H., and Shariati, V. 2021. Physiological response and secondary metabolites of three lavender genotypes under water deficit. Scientific Reports. 11:19164. https://doi.org/10.1038/s41598-021-98750-x.

Gulcin, I., Topal, F., Sarkaya, S.B.O., Buesal, E., Bilsel, G., and Goren, A.C. 2011. Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). Records of Natural Products. 5(3): 158-175.

Hassanpouraghdam, M.B., Ghorbani, H., Esmaeilpour, M., Alford, M.H., Strzemski, M., and Dresler, S. 2022. Diversity and distribution patterns of endemic medicinal and aromatic plants of Iran: implications for conservation and habitat management. International Journal of Environmental Research and Public Health. 19(3):1552.

Hosseini, M., Forouzeh, M.R., and Barani, H. 2019. Identification and Investigation of Ethnobotany of Some Medicinal Plants in Razavi Khorasan Province. Journal of Medicinal Plants. 18(2): 15-29.

Jaffarpour, P., Farokhzad, A., Alirezalou, A., and Najad Habibvash, F. 2018. Phytochemical diversity and antioxidant activity in different salvia species in West Azerbaijan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 22(6): 23-38.

Jalali zenur, M.J. 2012. New Principles for Sheep Breeding. 3rd Ed. Publishers Partov Vaghee, Tehran.

Jewell, P., Kauferle, L.D., Gusewell, S., Berry, N.R., Kreuzer, M., and Edwards, P.J. 2007. Redistribution of phosphorus by cattle on a traditional mountain pastures in the Alps. Agriculture, Ecosystems and Environment. 122: 377-386.

Kaghazloo, Z., Hemati, Kh., and Khorasaninejad, S. 2017. Effect of height on some secondary metabolites of different organs of *Sambucus ebulus* L. in three cities in Golestan province. Journal of Iranian Plant Physiological Research. 12(47): 1-13. (In Persian)

Kargar, M., Jaafarianm Z., Tamartash, R., and Alavi S.J. 2015. The effects of some soil properties and topography on some functional traits of *Stachys lavandulifolia* Vahl. In Angemar rangeland. Lasem watershed. Journal of Rangeland. 8(4): 342-350.

Khorasaninejad, S., Soltanloo, H., Ramezanpour, S.S., Hadian, J., and Atashi, S. 2015. Effect of drought stress on some morphological characteristics, quantity and quality of essential oil in lavender. Journal of Crops Improvement. 17 (4): 988-979.

Lim, T. 2014. *Viola odorata.* In Edible Medicinal and Non Medicinal Plants Springer, 795-807.

Majewska, M., Skrzycki, M., Podsiad, M., and Czeczot, H. 2011. Evolution of antioxidant potential of flavonoids and in vitro study. ACTA Ploniae Pharmaceutica- Drug Research. 68(4): 611-615.

Marcussen, T., Ballard, H. E., Danihelka, J., Flores, A. R., Nicola, M. V., and Watson, J. M. 2022. A revised phylogenetic classification for Viola (Violaceae). Plants. 11(17): 2224.

Martens, S., and Mithofer, A. 2005. Flavones and flavone synthases. Phytochemistry. 66: 2399-2407

Matsui, R., Takei, Sh., and Ohga, K. 2013. Morphological and Anatomical Variations in Rheophytic Ecotype of Violet, *Viola mandshurica* var. ikedaeana (Violaceae). American Journal of Plant Sciences. 4: 859-865.

Mazaraie, A., Mousavi-Nik, S.M., and Leila, F. 2018. Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. Nova Biologica Reperta. 4(4): 299-309.

Moradi, H., Hadadinejad, M., Yavari, A., Mohammadiazni, M., Mosavi, M., and Hoseini, M.A. 2021. Comparison of morphological and phytochemical traits in some endogenous genotypes of sweet violet (*Viola odorata* L.) in Mazandaran and Golestan provinces. journal of Plant environmental physiology. 16(63): 110-115.

Mozaffari, S., Khorasaninejad, S., and Gorgini Shabankareh, H. 2016. Effects of Irrigation content based on field capacity percent and Hiumic acid on morphophysiological traits on medicinal plant (*Portulaca oleracea* L.). Journal of Crop Production. 9(3): 153-175. (In Persian)

Mozaffari, S., Khorasaninejad, S., and Gorgini shabankareh, H. 2017. The effects of irrigation regimes and humic acid on some of physiological and biochemical traits of Common Purslane in greenhouse. Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture). 19 (2):401-416. (In Persian)

Najjar Firoozjaee, M., Hemmati, K., Khorasaninejad, S., Daraei Garmekhani, A., and bagherifard, A.A. 2014. The Effect of Height on Morphological Characteristics and Some Secondary Metabolites of Nettle Plant in Mazandaran and Golestan Provinces. Journal of Plant Ecophysiological Research. 9(3): 1-10. (In Persian)

Nikkhah, A., Khayami, M., and Heidari, R. 2010. Evaluation of nitric oxide scavenging activity of anthocyanins from black berry (*Morus nigra* L.), strawberry (*Fragaria vesca* L.) and berry (*Morus alba* L. Var. Nigra) extracts. Scientific and Research Journal of Iranian Medicinal and Aromatic Plants. 25(1): 120-128. 28.

Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Furuta, S., and Suda, I. 2002. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 30: 5382-5387.

Omidbaigi, R. 2014. Approaches to production and processing of medicinal plants. Astan Quds Razavi, to be published, 400p.

Robinson, S. I., O'Gorman, E. J., Frey, B., Hagner, M., and Mikola, J. 2022. Soil organic matter, rather than temperature, determines the structure and functioning of subarctic decomposer communities. Global Change Biology. 28(12): 3929-3943.

Rohmanna, N. A., and Mulyawan, R. 2022. The effect of growing media on the vitamin C and chlorophyll content of gelinggang microgreen. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 1005 (1): 012005. IOP Publishing.

Saeidi, K., Sefidkon, F., and Babaei, A. 2014. Determination of carotenoids and lycopene content of Dog-Rose (*Rose canina* L.) fruit in different regions of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Edicinal and Aromatic Plants. 5(67): 833-842.

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

Slazak, B., Kaltenböck, K., Steffen, K., Rogala, M., Rodríguez-Rodríguez, P., Nilsson, A., and Göransson, U. 2021. Cyclotide host-defense tailored for species and environments in violets from the Canary Islands. Scientific reports: 11(1): 1-13.

Sałata, A., Nurzyńska-Wierdak, R., Kalisz, A., Kunicki, E., Ibáñez-Asensio, S., and Moreno-Ramón, H. 2022. Effects of organic cropping on phenolic compounds and antioxidant capacity of globe artichoke herbs. Agronomy. 12(1): 192.

Salmanian, Sh., Sadeghimahoonak, A., Jamson, M., and Tabatabaee Amid, B. 2013. Identification and quantification of phenolic acids, radical scavenging activity and ferric reducing power of Eryngium caucasicum Trautv. ethanolic and methanolic extracts. Research and Innovation in Food Science and Technology. 2(2): 193-204.

Seguí, J., Lázaro, A., Traveset, A., Salgado-Luarte, C., and Gianoli, E. 2018. Phenotypic and reproductive responses of an Andean violet to environmental variation across an elevational gradient. Alpine Botany: 128(1): 59-69.

Sepehrifar, R., and Hassanlu, T. 2009. Evaluation of polyphenolic compounds, anthocyanins and total flavonoids and antioxidant properties of the herb cranberry, collected from four different regions of Iran. Medicinal Plant Quarterly, 33:66-74.

Shafaghat, Z., and Zarinkamar, F. 2018. Tracing of mucilage compounds in different stages of aromatic violet leaf development (*Viola odorata* L.). Journal of plant research (iranian journal of biology). 31(2): 269-259.

Tabatabaei, S.J. 2008. Principles of mineral nutrition of plants. Publication Kharazmi.Tehran, 1-389.

Thomford, N.E., Dzobo, K., Chopera, D., Wonkam, A., Skelton, M., and Blackhurst, D. 2015. Pharmacogenomics implications of using herbal medicinal plants on african populations in health transition. Pharmaceuticals. 8(3):637-663.

You, L., Zhao, M., Regenstein, J. M., and Ren, J. 2010. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion. Food Chemistry. 120(3): 810-816.

Yu, Q., Liu, M., Xiao, H., Wu, S., Qin, X., Lu, Z., and Li, P. 2019. The inhibitory activities and antiviral mechanism of *Viola philippica* aqueous extracts against grouper iridovirus infection in vitro and in vivo. Journal of fish diseases. 42(6): 859-868.

Zakerimehr, M.R., Mazandarani, M., and Pyrdashty, H. 2013. Compare the total phenol leaves, unripe fruit and flower orange (*Citrus aurantium* L.) at two sites Amol and Gorgan. Natinal conference on Medicinal plant.

Zare, F., Khorasaninejad, S., and Hemmati, Kh. 2018.The effect of silicon on some morpho-physiological and phytochemical traits of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Plant Biology. 10(37): 55-68. (In Persian)

Zhao, J., Huang, G., and Jiang, J. 2013. Purification and characterization of a new DPPH radical scavenging peptide from shrimp processing by-products hydrolysate. 22(3): 281-289.