

مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس و آناتومی برگ گونه *Mentha x piperita* L. در دو مرحله رویشی و گلدهی

روح‌انگیز عباس عظیمی*^۱، محمداقبر رضایی^۲، کامکار جایمند^۲

^۱کارشناس ارشد، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

^۲عضو هیات علمی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۴

چکیده

گیاه نعنا فلفلی *Mentha x piperita* L. از مشهورترین دورگه‌های تیره نعنا (Lamiaceae) است که در صنایع دارویی و غذایی کاربرد فراوانی دارد. هدف از این تحقیق بررسی کمی و کیفی اسانس و نیز ویژگی‌های تشریحی اپیدرم برگ این گونه در مراحل مختلف نمو است. در این تحقیق سرشاخه‌های گیاه از قطعه گیاهان دارویی باغ گیاه‌شناسی ملی کشور در دو مرحله رویشی (خرداد) و گلدهی (مرداد ماه) جمع‌آوری گردید و همزمان با مقایسه شواهد آناتومیکی، کمیت و کیفیت اسانس گیاه نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. اسانس نمونه‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) استخراج و برای شناسایی ترکیب‌های متشکله اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده گردید. در مجموع تعداد ۳۲ ترکیب در اسانس گیاه در مراحل مختلف نمو شناسایی گردید و میزان اسانس در فاز رویشی از بالاترین مقدار (۲/۳۱ درصد) برخوردار بود. مهم‌ترین ماده موثره اسانس‌ها نیز به ترتیب مربوط به کارواکرول، لینالول و گاما-تریپنین بود که میزان کارواکرول در فاز رویشی از بیشترین میزان (۶۵ درصد) ولی دو ترکیب دیگر در فاز گلدهی به ترتیب به حداکثر مقدار خود یعنی ۱۲/۶ و ۷/۲ درصد افزایش نشان داد. در بررسی‌های آناتومی نیز مشخص گردید که با نزدیک شدن گیاه به فصل گلدهی، ضخامت کلانشیم افزایش ولی قطر کرک‌های غده‌ای کاهش یافت. بنابراین با توجه به تاثیر شگرف شرایط محیطی و زمان‌های نمو گیاه بر کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس، لازم است با توجه به نوع بهره‌برداری، زمان برداشت اندام‌ها در زمان و فصل مناسب انجام پذیرد.

واژه‌های کلیدی: آناتومی، اسانس، کارواکرول، کرک، لینالول، نعنا فلفلی

مقدمه

متفاوت است (Metcalf and chalk, 1950) در بررسی‌های مختلف مهمترین ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌های نعنا فلفلی را به حضور منتول (۴۷-۵۴٪)، متون (۶-۲۴٪)، متوفوران (۱-۸٪) و متیل استات (۳-۲۹٪) گزارش کرده‌اند (Maffei et al., 1988). همچنین مقادیر کمی منوترین‌های لیمونن، ترپینولن، سزکویی‌ترین و ژرماکرن وجود دارد (Lawrence, 1978; Maffei and Sacco, 1987) اصولاً کمیت و کیفیت ترکیب‌های متشکله اسانس به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف مانند کودهای شیمیایی (Castro et al., 2010) و مناطق جغرافیایی (Mahboubi and Kazempour, 2014) و عوامل ژنتیکی و دوران رشد و نموی گیاه (Verma et al., 2010) تغییر می‌نماید. هدف از این تحقیق مقایسه ویژگی‌های تشریحی اپیدرم برگ و نیز تغییرات کمی و کیفی ترکیب اسانس در دو مرحله رویشی و گلدهی می‌باشد که بی شک نتایج حاصله در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و زراعی این گیاه در تولید هرچه بیشتر فرآورده‌های دارویی چه به صورت کمی و کیفی موثر خواهد بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه: سرشاخه‌های گیاه نعنا فلفلی از قطعه گیاهان دارویی باغ گیاه‌شناسی ملی کشور در ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا با ۳ تکرار در زمان رویش (خردادماه) و زمان گلدهی (مردادماه) جمع‌آوری گردید. **مطالعات آناتومی:** برای انجام مطالعات آناتومی ابتدا نمونه‌های برگ گیاه از گره سوم به مدت سه روز در الکل ۷۰ تثبیت گردید. سپس از آن‌ها برش‌های بسیار نازک عرضی از قسمت میانی پهنک و ناحیه رگبرگ میانی برگ به روش دستی با استفاده از تیغ تهیه گردید. برش‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در آب ژاول گذاشته تا بی‌رنگ شود و بعد رنگ آمیزی مضاعف با کارمن زاجی به مدت ۳۰ دقیقه و سبز متیل به مدت ۱-۲ ثانیه

"نعنا فلفلی" با نام علمی *Mentha piperita* L.

گیاهی علفی چند ساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد. این تیره یکی از تیره‌های بزرگ گیاهان گلدار است که از پراکنش جهانی برخوردار می‌باشد و در حدود ۲۰۰ جنس و ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ گونه از بوته‌های معطر تا درختچه‌های کوتاه را شامل می‌شود (Hedge, 1982). شایان ذکر است که تاکنون حدود ۳۴ گونه نعنا در جهان شناسایی شده که نزدیک به نیمی از این گونه‌ها در ایران رویش دارند. جنس *Mentha* از نظر تاکسونومی پیچیده بوده و تغییرپذیری ژنوتیپی و فنوتیپی در آن بالا است و اغلب گونه‌های آن دارای پتانسیل دو رگه‌گیری با یکدیگر هستند (Halliday and Beadle, 1972). نعنا فلفلی از مشهورترین دورگه‌های این جنس است که حاصل تلاقی گونه‌های *M. aquatica* x *M. spicata* می‌باشد. بیشترین مصرف نعناع فلفلی به منظور تهیه اسانس در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی می‌باشد. این گونه از نعنا دارای مقدار زیادی منتول است (Rita and Animesh, 2011) و از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی محسوب می‌شود که دارای خواص دارویی در ساخت داروهای ضدنفخ، ضدباکتری، محلول‌های دهان شویه استفاده می‌شود (Shah and D'Mello, 2004).

ساختار تشریحی برگ مشابه با سایر گونه‌های *Mentha* شامل لایه اپیدرم بالایی با تعداد کمی روزنه‌های هوایی و کرک‌های غده‌ای است. مزوفیل شامل یک لایه پارانشیم نردبانی و اسفنجی می‌باشد. سلول‌های اپیدرمی زیرین کوچک همراه با تعداد زیادی روزنه‌های هوایی از نوع دیاسیتیک است. کرک‌های اپیدرمی شامل کرک‌های غیر غده‌ای پاپیلوز چند سلولی و کرک‌های غده‌ای ترشح کننده اسانس است. این غده‌ها دارای تعداد متغیری از سلول‌های ترشحی بوده و تراکم و طرز قرارگیری آنها در اپیدرم

نرم‌افزار Saturn II، ستون همانند ستون دستگاه GC می‌باشد، فشار گاز سر ستون ۳۵ Psi، انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردیده است. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آنها و با تزریق هیدرو کربن‌های نرمال (C₇-C₂₅) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه کامپیوتری و به زبان بیسیک محاسبه شده است. همچنین، مقایسه آنها با منابع مختلف (Adams, 1987; Davies, 1990; Shibamoto, 1989) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد، و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS صورت پذیرفته است.

روش‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک SPSS 16 و بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با ۳ تکرار انجام گرفت.

نتایج

ویژگی‌های ریخت‌شناختی نعنا فلفلی *Mentha piperita* در شکل ۱ نشان داده شده است. بررسی آناتومی نشان داد که ساختار تشریحی برگ شامل لایه اپیدرم بالایی با سلول‌هایی درشت و تعداد کمی روزنه‌های هوایی و کرک‌های غده است. مزوفیل شامل یک لایه پارانشیم نردبانی از کلروپلاست و ۴ تا ۶ لایه پارانشیم اسفنجی می‌باشد. سلول‌های اپیدرمی زیرین کوچک همراه با تعداد زیادی روزنه‌های هوایی از نوع دیاسیتیک است (شکل ۲).

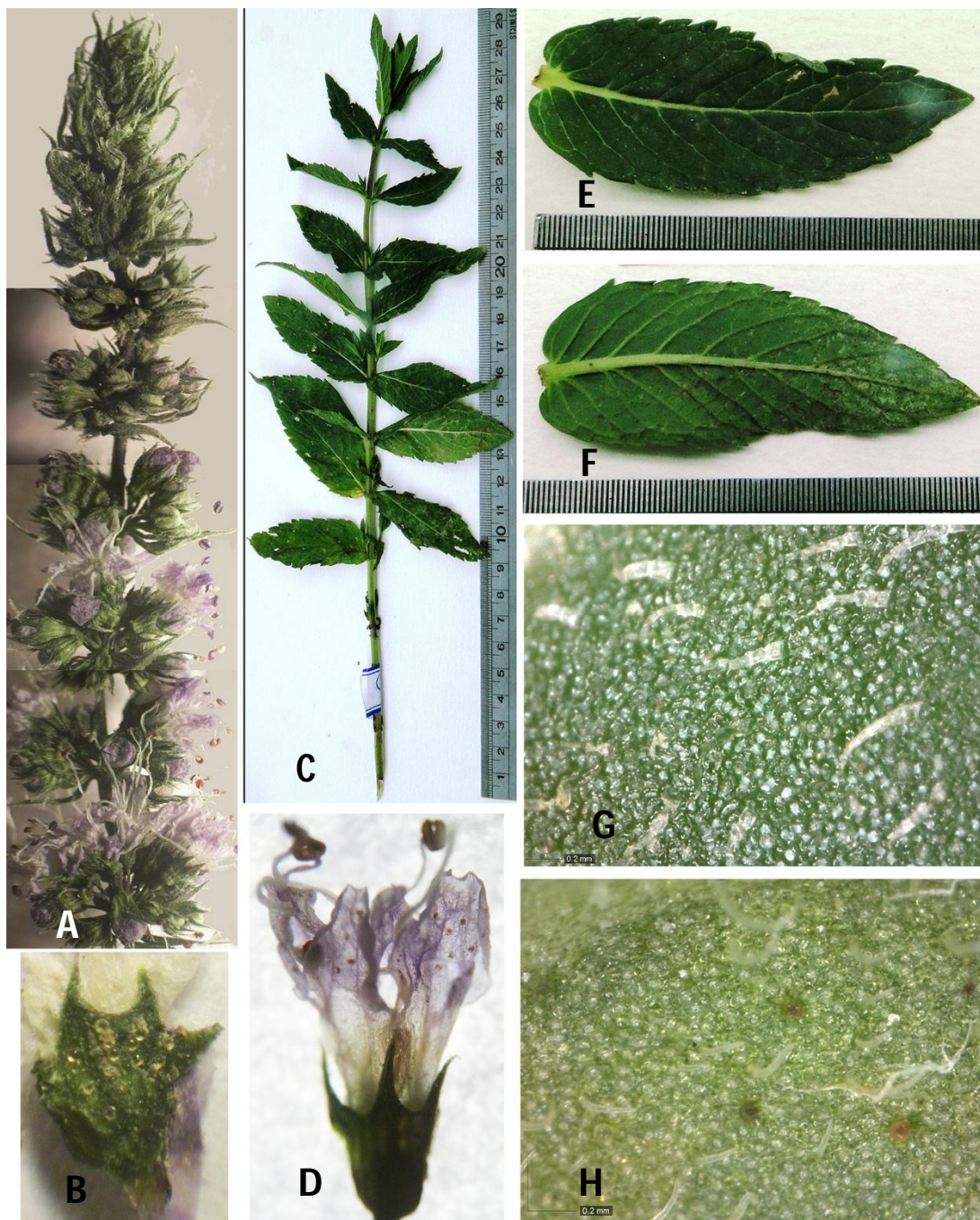
انجام گرفت. همچنین برای تهیه اپیدرم زیرین، قسمت وسط پهنک برگ در زیر لوپ توسط اسکالپل تراشیده و جدا شده و به مدت ۱۰ دقیقه در آب ژاول قرار گرفت. در نهایت از بهترین اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری Zeiss مدل Axiostar مجهز به دوربین Canon G5 عکسبرداری و اندازه‌گیری شد.

استخراج و شناسایی اسانس: نمونه‌های برگ گیاه در خرداد ماه (در مرحله رشد رویشی) و در مردادماه (در مرحله رشد گلدهی) در شرایط آزمایشگاه خشک شد و اسانس‌ها به روش تقطیر با آب (Clevenger) استخراج شد. زمان اسانس‌گیری ۳ ساعت بود. پس از جدا ساختن اسانس از آب، باقی مانده رطوبت با افزودن مقداری سولفات سدیم حذف گردید و تا زمان آنالیز در شیشه تیره در یخچال نگهداری شد.

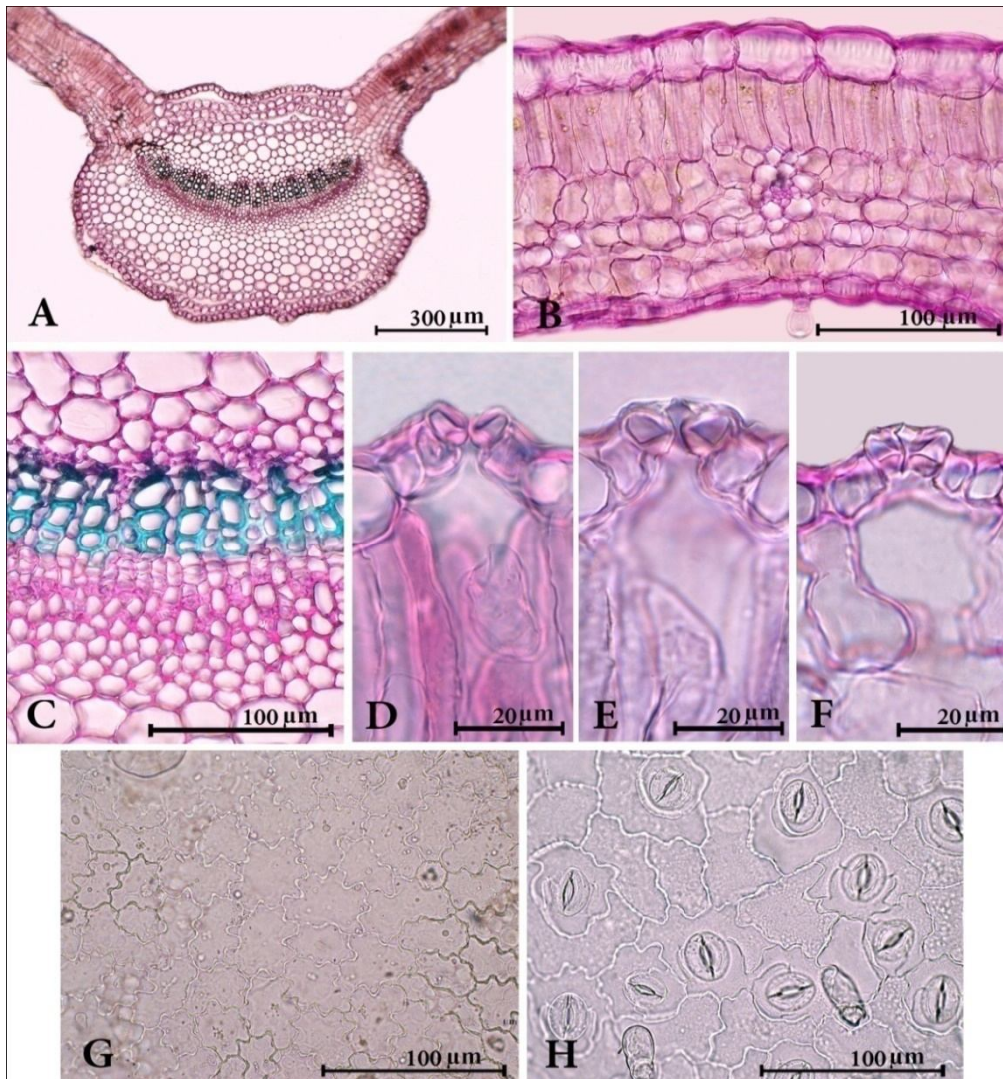
مشخصات دستگاهی

کروماتوگراف گازی (GC): کروماتوگراف گازی مدل Thermo- Ultra Fast Module -GC مجهز به دتکتور F.I.D. (یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن) و داده پرداز با نرم‌افزار Chrom-card 2006، ستون Ph-5 که ستونی غیر قطبی (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۴ میکرون) است، و برنامه‌ریزی حرارتی ستون، از ۶۰ تا ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، در مدت زمان ۵/۸ دقیقه انجام می‌گیرد. گاز حامل، هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع، نسبت شکافت برابر ۱:۱۰۰، برای رقیق کردن نمونه، دمای قسمت تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکار ساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده است.

کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS): دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Varian 3400، متصل شده به دستگاه طیف سنج جرمی با



شکل ۱: بررسی مورفولوژیکی و تشریحی گونه *Mentha piperita* در مراحل مختلف رشد
نمای گیاه: (A) نمای گل آذین در مرحله گلدهی (مرداد ماه)؛ (C) مرحله رویشی (خرداد ماه)
(D) نمای گل؛ (E) نمای برگ؛ (F) نمای برگ؛ (G) سطح بالایی؛ (H) سطح پایینی



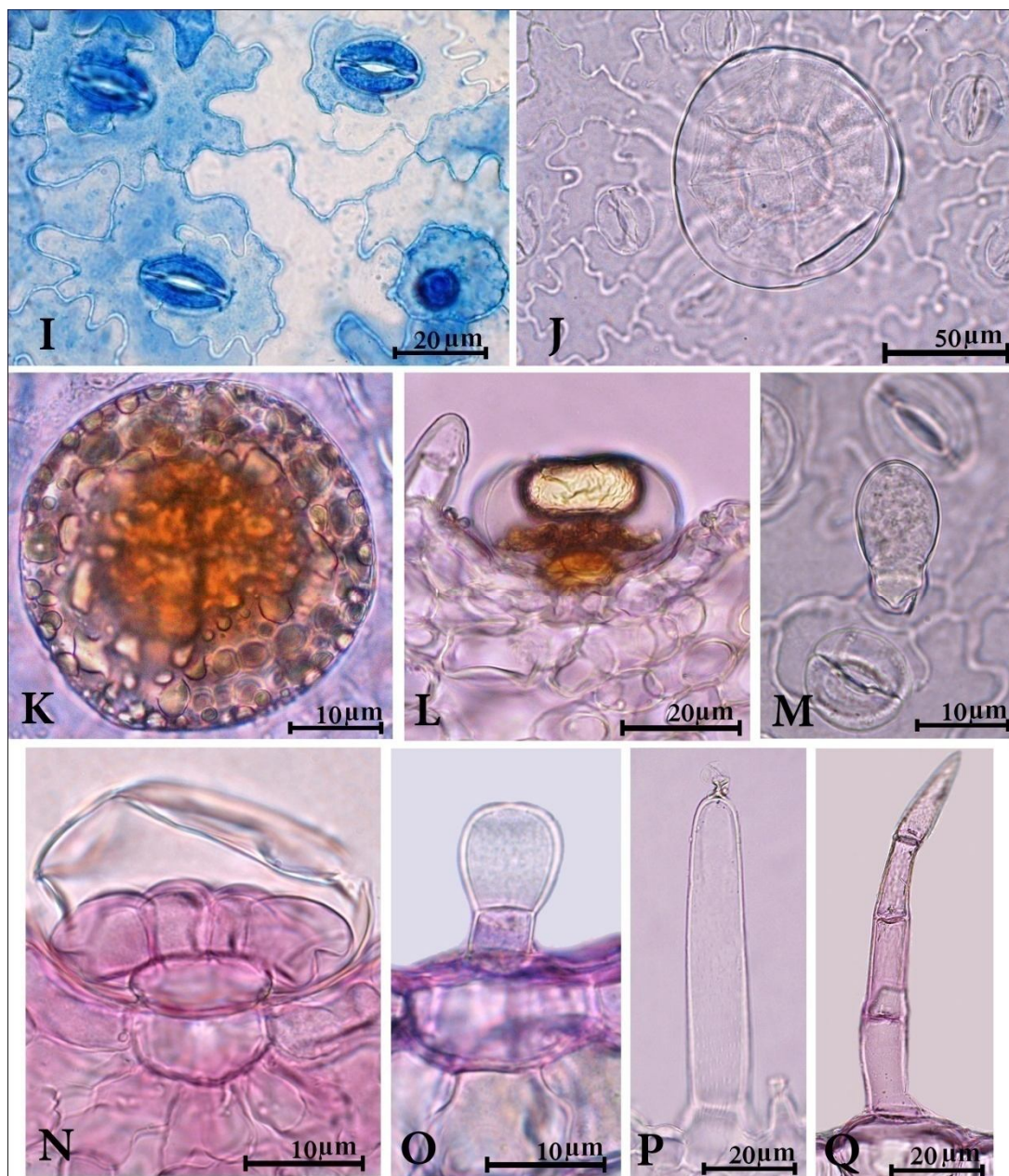
شکل ۲: برش عرضی و اپیدرم برگ گونه *Mentha piperita* در مرحله رویشی (خردادماه)

برگ: (A) نمای کلی؛ (B) تیپ مزوفیل پهنک؛ (C) دسته آوند رگبرگ میانی؛ (D و E) دو نوع تیپ روزنه در سطح تحتانی (همسطح و کمی برجسته)؛ (F) روزنه سطح فوقانی (برجسته)؛ (G) سطح بالایی (فاقد روزنه یا دارای تعداد کمی)؛ (H) تراکم روزنه در سطح پایینی

برگ در اپیدرم بالایی از دو تیپ هم سطح و کمی برجسته و نیز در سطح زیرین فقط از نوع برجسته می‌باشد (شکل ۲). کرک‌های اپیدرمی شامل کرک‌های ساده یک یا چند سلولی به تعداد کم در سطح زیرین پهنک و با تراکم بیشتر در ناحیه رگبرگ اصلی و کرک‌های غده‌ای ترشح کننده است. کرک‌های غده‌ای شامل دو تیپ سپری^۱ و سرسان^۲ می‌باشد (شکل ۳).

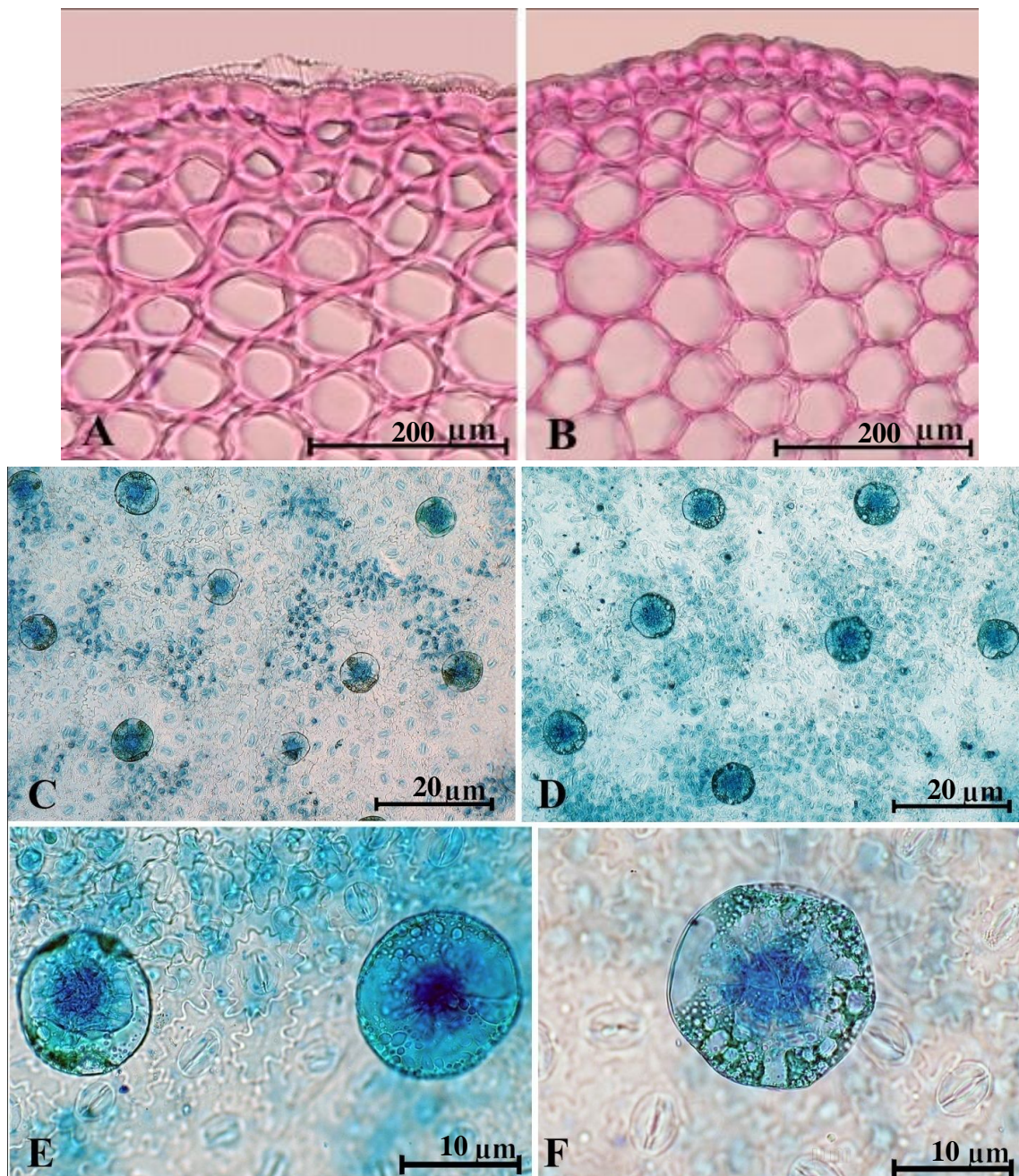
کرک‌های اپیدرمی شامل کرک‌های غیر غده‌ای چند سلولی و کرک‌های غده‌ای ترشح کننده است. کرک‌های ترشحی در این گیاه شامل دو تیپ زیر است: الف) سپر مانند شامل هشت سلول ترشحی یک سلول پایه و یک سلول قاعده‌ای که به دلیل اندازه و تعدادشان به صورت یک توده حاوی روغن به نظر می‌رسد. ب) سر سان شامل یک سلول ترشحی یک سلول پایه و یک سلول قاعده‌ای. در ناحیه رگبرگ میانی در زیر هر دو اپیدرم چند لایه کلانشیم گوشه‌ای مشاهده گردید. روزنه‌های هوایی در برش عرضی

1. Peltate
2. Capitata



شکل ۳: اپیدرم برگ و کرک‌های گونه *Mentha piperita*

I: کرک سرسان؛ II: تیپ روزنه دیاستیک؛ J: کرک دارای سلول‌های ترشحي ۸ تایی با قاعده
 K: L: کرک غده ای سپر مانند؛ M: O: کرک سرسان؛ N: کرک ساده.
 و پایه یک سلولی کوتاه؛ K: ترکیبات اسانسی زیر کوتیکول؛ L: همان کرک در برش عرضی؛ O: کرک پایه بلند یک سلولی؛ P: کرک ساده.



شکل ۴: مقایسه کلانشیم و ابعاد کرک‌های غده‌ای گونه *Mentha piperita*

(A: C: E) مرحله گل‌دهی (مردادماه) و (B: D: F) رویشی (خردادماه)

نتایج نشان می‌دهد که بازده اسانس گیاه در مرحله رویشی (۲/۳۱ درصد) بیشتر از فاز گلدهی (۰/۸۸ درصد) می‌باشد و با افزایش سن گیاه و پیشرفت مراحل فنولوژی گیاه از میزان اسانس کاهش یافته است. با توجه به خروج آلکان‌های نرمال و شاخص بازداری (RI) و مقایسه با الگوهای کتابخانه‌ای

نتایج حاصل از واکاوی تجزیه واریانس داده‌های صفات تشریح و اپیدرم برگ نشانگر وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ($P > 0.05$) برای ضخامت کلانشیم و ابعاد کرک‌های غده‌ای (جدول ۱ و ۲) در مرحله رویشی (خردادماه) نسبت به مرحله گلدهی (مردادماه) می‌باشد.

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی گردید (شکل ۵). درصد ترکیب‌های اسانس در جدول ۳ ذکر شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بالاترین میزان کارواکرول (۶۵ درصد) مربوط به مرحله رویشی ولی در فاز گلدهی بیشترین مواد موثره مربوط به ترکیب‌های کارواکرول (۵۰/۷ درصد)، لینالول (۱۲/۶ درصد) و گاما-تریپنین (۷/۲ درصد) مشاهده گردید.

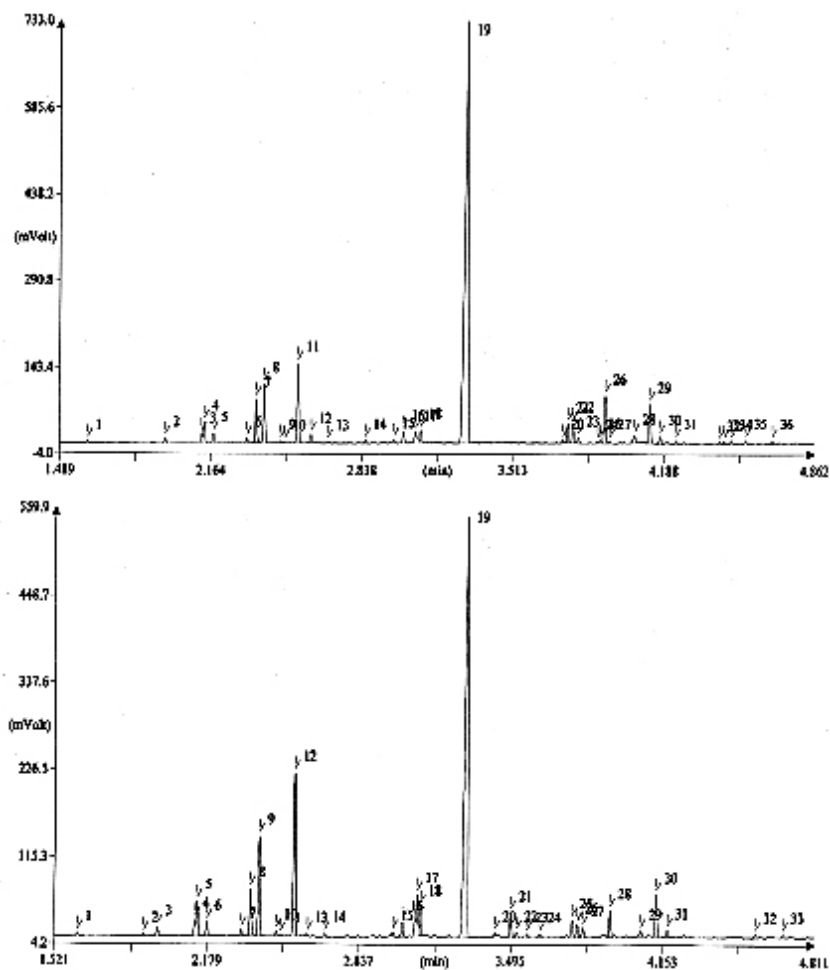
جدول ۱: آمار توصیفی داده‌های صفات تشریحی برگ *Mentha piperita* L. در مراحل رویشی و گلدهی مقدار F مربوط به آزمون ANOVA.

F	میانگین \pm انحراف معیار	مرحله رشد	صفات
۳	۶/۰ \pm ۰/۰	رویشی	ضخامت کوتیکول فوقانی
	۷/۰ \pm ۱/۲	گلدهی	
۲	۲/۵ \pm ۱/۰	رویشی	ضخامت کوتیکول تحتانی
	۳/۵ \pm ۱/۰	گلدهی	
۴/۳	۱۶۹/۰ \pm ۱۳/۶	رویشی	ضخامت پهنک
	۱۹۳/۰ \pm ۱۸/۶	گلدهی	
۱/۱	۲۱/۵ \pm ۴/۷	رویشی	ابیدرم فوقانی
	۲۵/۰ \pm ۴/۸	گلدهی	
۰	۱۱/۵ \pm ۴/۴	رویشی	ابیدرم تحتانی
	۱۱/۰ \pm ۳/۵	گلدهی	
۲/۸	۶۲/۰ \pm ۱۲/۰	رویشی	ضخامت نردبانی
	۷۶/۰ \pm ۱۱/۸	گلدهی	
۰	۷۳/۰ \pm ۶/۸	رویشی	ضخامت اسفنجی
	۷۵/۰ \pm ۱۸/۰	گلدهی	
۰/۳	۳/۴ \pm ۰/۵	رویشی	ضخامت مزوفیل پهنک/آوند
	۳/۶ \pm ۰/۸	گلدهی	
۲/۶	۵۸۴/۰ \pm ۸۲/۴	رویشی	رگبرگ
	۶۶۴/۰ \pm ۵۵/۰	گلدهی	
۲/۱	۲۴/۲ \pm ۲/۵	رویشی	ضخامت مزوفیل رگبرگ/آوند
	۲۷/۸ \pm ۴/۳	گلدهی	
۳/۱*	۴۶/۰ \pm ۱۶/۵	رویشی	ضخامت کلانشیم فوقانی
	۸۲/۰ \pm ۷/۷	گلدهی	
۸/۸*	۴۴/۰ \pm ۱۶/۷	رویشی	ضخامت کلانشیم تحتانی
	۸۶/۰ \pm ۲۳/۰	گلدهی	
۲/۳	۷۰/۰ \pm ۲۶/۴	رویشی	ضخامت پارانیشیم فوقانی
	۹۸/۰ \pm ۲۵/۶	گلدهی	
۰/۲	۱۴۶/۰ \pm ۴۵/۴	رویشی	ضخامت پارانیشیم تحتانی
	۱۶۰/۰ \pm ۴۳/۸	گلدهی	

سطوح معنی‌دار ($P < 0.05$)^{*} و ($P < 0.01$)^{**} (واحد بر حسب میکرون μ)

جدول ۲: آمار توصیفی داده‌های صفات اپیدرم برگ *Mentha piperita* در مراحل رویشی و گلدهی مقدار F مربوط به آزمون ANOVA.

صفات	مرحله رشد	میانگین \pm انحراف معیار	F
تراکم روزنه (mm^2)	گلدهی	۸۲/۸ \pm ۲/۸۵	۰/۶
	رویشی	۷۷/۵ \pm ۱۲/۶	
طول روزنه (μ)	گلدهی	۲۱/۲ \pm ۴/۱	۰/۹
	رویشی	۲۲/۳ \pm ۳/۱	
تراکم کرک غده‌ای (mm^2)	گلدهی	۲۳/۴ \pm ۹/۶	۰
	رویشی	۲۳/۰ \pm ۷/۴	
قطر اول کرک غده‌ای (μ)	گلدهی	۶۹/۸ \pm ۵/۶	۱۱/۸**
	رویشی	۷۵/۱ \pm ۴/۶	
قطر دوم کرک غده‌ای (μ)	گلدهی	۷۳/۵ \pm ۵/۲	۷/۱*
	رویشی	۷۷/۶ \pm ۵/۰	
قطر اول X قطر دوم (μ)	گلدهی	۵۱۴۹/۸ \pm ۷۲۶/۴	۵/۵*
	رویشی	۵۸۴۰/۸ \pm ۶۵۸/۸	



شکل ۵: کروماتوگرام اسانس گیاه نعنا فلفلی بدست آمده از دستگاه GC-MS در مرحله رویشی بالا و گلدهی پایین.

جدول ۳: مقایسه ترکیب‌های متشکله اسانس نعنا لعلی در دو فاز رویشی و گلدهی

نام ترکیب	R.I.	مرحله گلدهی	مرحله رویشی
(2E)-hexenal	۸۷۳	۰/۲	۰/۱
α - thujene	۹۳۴	۰/۱	-
α -pinene	۹۴۶	۰/۶	۰/۴
sabinene	۹۷۵	۱/۰	۱/۴
β - pinene	۹۷۸	۲/۳	-
p-mentha -1(7), 8-diene	۱۰۰۵	۱/۰	۰/۷
(Z)- β - ocimene	۱۰۴۳	۰/۴	۰/۳
(E)- β - ocimene	۱۰۵۵	۳/۲	۳/۱
γ - terpinene	۱۰۶۳	۷/۲	۴/۴
terpinolene	۱۰۸۱	۰/۳	۰/۱
p-cymene	۱۰۸۶	۰/۱	-
linalool	۱۱۰۰	۱۲/۶	۶/۰
eptanol acetate	۱۱۱۱	۰/۱	۰/۵
trans-p-mentha-2,8-dienol	۱۱۲۸	۰/۲	۰/۱
trans-piperitol	۱۲۰۸	۰/۳	۰/۲
trans-carveol	۱۲۲۲	۱/۰	۰/۸
pulegone	۱۲۳۸	۴/۳	۱/۱
carvone	۱۲۴۰	۲/۰	۰/۸
carvacrol	۱۲۹۵	۵۰/۷	۶۵/۰
iso-dihydro carveol acetate	۱۳۲۴	۰/۲	-
trans-piperitol acetate	۱۳۳۸	۱/۶	-
terpin-4-ol acetate	۱۳۴۵	۰/۳	-
neo-iso- dihydro carveol acetate	۱۳۵۷	۰/۱	-
piperitenone oxide	۱۳۶۸	۰/۲	-
β - copaene	۱۴۲۵	۱/۲	۱/۴
β - gurjunene	۱۴۳۱	۰/۸	۱/۴
β - humulene	۱۴۴۰	۰/۷	۰/۴
γ - gurjunene	۱۴۷۳	۱/۹	۳/۶
cubebol	۱۵۱۴	۰/۵	۰/۸
trans-calqamenene	۱۵۳۱	۳/۰	۳/۰
cis-sesquisabinene hydrate	۱۵۴۵	۰/۵	۰/۶
n-tetradecanol	۱۶۸۰	۰/۲	۰/۳
(Z-Z)-farnesol	۱۷۱۶	۰/۲	۰/۲

بحث

پارانثیمی بوده و رگبرگ‌ها توسط سلول‌های کلانثیمی احاطه شده است (Metcalf and Chalk, 1972). گزارش‌های قبلی نشان می‌دهد که ویژگی‌های کرک‌ها در مراحل مختلف ظهور و رشد برگ دستخوش تغییر می‌گردد (Maffei et al., 1988).

الگوی کلی برش عرضی برگ در این تحقیق نشان داد که نتایج آن مشابه با سایر گونه‌های نعنا مانند *M. longifolia* و *M. spicata* (اوجی و پونه) می‌باشد (Gavalas et al., 1998). مزوفیل برگ کاملاً

سرشاخه در مرحله رویشی (۴۴/۱ درصد)، به‌طور قابل توجهی پایین‌تر از ظرفیت گلدهی (۵۵/۸ درصد) بود (Zámboriné and Tétényi, 1988). بنابراین نتایج نشان می‌دهد که درصد اسانس نعنا فلفلی در طول دوران رشد و نمو یا فنولوژی متغیر و دارای روند کاهش می‌باشد که این امر می‌تواند ناشی از تغییر شرایط محیطی نظیر طول مدت روشنایی و دما باشد (Yazdani et al., 2002). گزارش‌هایی متعددی دلالت بر تفاوت ترکیب شیمیایی اسانس برگ‌ها در طول نمو وجود دارد برای مثال برگ‌های جوان سرشار از ترپن‌های اکسید شده مانند منتون و برعکس برگ‌های مسن سرشار از ترپن‌های احیا شده مانند منتول هستند (Clark and Menary, 1980; Croteau, 1984).

نتیجه‌گیری نهایی

در مجموع از نتایج چنین استنباط می‌گردد که با توجه به ثبات ژنتیکی نعنا فلفلی حداقل در حد گونه، شرایط محیطی حاکم بر محل رویش گیاه تاثیر به‌سزایی در کمیت و کیفیت ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس داشته و لازم است با توجه به نوع اسانس مورد نظر باید در فصل مناسب نمونه‌برداری گردد. به عبارت دیگر میزان اسانس در قبل گلدهی بیشتر بوده و برای استحصال کارواکرول مناسب بوده ولی برای سایر ترکیبات نظیر لینالول و گاما- ترپینن نمونه‌برداری در اواخر دوره رویش باید انجام شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کارشناسان محترم گیاهان دارویی آقای مهندس نادری و سرکار خانم مهندس فکری و خانم جمالپور که در مراحل اسانس‌گیری من را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

کاهش ابعاد کرک‌های غده ای در مرحله گلدهی (مردادماه) می‌تواند ناشی از افزایش تنش خشکی باشد (Karray-Bourouia et al., 2004). افزایش ضخامت بافت‌های استحکامی مانند کلانشیم مرحله گلدهی (مردادماه) می‌تواند ناشی از افزایش شدت نور باشد (Castro et al., 2003; Raven et al., 2007). اصولاً برگ‌ها دارای تغییرپذیری ریختی و تشریحی به نسبت بالایی به منظور سازش با شرایط محیطی مختلف از خود نشان می‌دهند که در گزارش‌های متعددی به آن‌ها اشاره شده است (Pegoraro et al., 2011). همانند سایر گونه‌های تیره نعنا سطح برگ نعنا فلفلی پوشیده از کرک‌های ساده و غده‌ای شامل دو تیپ سپری و سرسان است که از نظر ساختاری متفاوت از یکدیگرند (Amelunxen, 1964).

همسو با یافته‌های دیگران کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گونه‌های مختلف نعنا از جمله نعنا فلفلی بسته به عوامل ذاتی (ژنتیک یا قابلیت وراثت از ساقه، وضعیت بلوغ گیاه و غیره) و عوامل بیرونی (نور خورشید، آب، حرارت، فشار، بلندی، عرض جغرافیایی، خاک و غیره) و زمان‌های مختلف رشد گیاه قابل تغییر است. به‌علاوه، شرایط و روش‌های مختلف استخراج نیز در تعیین کیفیت اسانس نعنا فلفلی خیلی مهم است (Rita and Animesh, 2011). در تحقیق چالچات و همکاران (Chalchat et al., 1997) گزارش شد که افزایش مداوم منتول در سرشاخه‌های گل‌دار در حال افزایش بوده، با توجه به این‌که فاروخی و همکاران (Farooqi et al., 1999) بعد از گلدهی کامل، کاهش میزان منتول را گزارش داده است. در نعنا فلفلی، اسانس تا آغاز گلدهی باظرفیت (۱/۷۷ درصد) و بعد از آن کاهش قابل توجه (۱/۴۱ درصد) را می‌توان مشاهده نمود (Zámboriné and Tétényi, 1988). در نعنا فلفلی، ظرفیت منتول

References

- Adams, R.P. 1989. Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic Press, New York, 350 p.
- Amelunxen, F. 1964. Elektronen mikroskopische untersuchungen an den Drüsenschuppen von *Mentha piperita* L. Plant Medicine, 13(1): 457-473.
- Castro, L.W.P., Deschamps, C., Biasi, L.A., Scheer, A.P. and Bona, C. 2010. Development and essential oil yield and composition of mint chemo types under nitrogen fertilization and radiation levels. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World Brisbane, Australia, 13-15 p.
- Castro, E.M., Pinto, J.E.B., Alvarenga, A.A., Lima Jr. E.C., Bertolucci, S.K.V., Silva-Filho, J.L. and Vieira, C.V. 2003. Crescimento e anatomia foliar de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel. (Guaco) submetidas a diferentes fotoperíodos. Ciência e Agrotecnologia, 27(1):1293-1300.
- Chalchat, J.C., Garry, R.P. and Michet, A. 1997. Variation of the chemical composition of essential oil of *Mentha piperita* L. during the growing time. Journal of Essential Oil Research, 9(4): 453-465.
- Clark, K.J., and Menary, R.C. 1980. Environmental effects on Peppermint (*Mentha piperita* L.). I. Effect of temperature on photosynthesis, photorespiration and dark respiration in peppermint with reference to oil composition. Australian Journal of Plant Physiology, 7(1): 685-692.
- Croteau, R. 1984. Biosynthesis and catabolism of monoterpenes. In: Nes, W.D. Fuller G., Tsai L.S. Eds. Isopentenoids in plants, biochemistry and function. Marcel Dekker, New York. Pp: 31-64.
- Davies, N.W. 1990. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and carbowax 20M phases. Chromatography, 503(1): 1-24.
- Farooqi, A.H., Luthra, R., Mathur, P., Srivastava, N.K. and Bansal, R.B. 1999. Physiology of cultivated mints. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science, 21(1): 431-441.
- Halliday, G. and Beadle, M. 1972. Consolidated index to Flora Europaea. Cambridge University Press, London. 210 p.
- Hedge, A. 1982. Labiateae (*Salvia*). In: Rechinger, K.H. Eds. Flora Iranica. Akademische drucku Verlangsanstalt, Graz Austria, 598 p.
- Gavalas, N., Bosabalidis, A.M. and Kokkini, S. 1998. Comparative study of leaf anatomy and essential oils of the hybrid *Mentha x villosa-nervata* and its parental species *M. longifolia* and *M. spicata*. Journal of Plant Sciences, 46(1): 27-33.
- Karray-Bouraouia, N., Rabhib, M., Neffati, M., Baldand, B., Ranieri, A., Marzouk, B., Lachaâla, M. and Smaouib, A. 2004. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. Industrial Crops and Products, 30(1): 338-343.
- Lawrence, B.M. 1978. A Study of monoterpene interrelationships in the genus *Mentha* with special reference to the origin of pulegone and menthofuran. Ph.D. Thesis, Groningen State University, Groningen, the Netherlands, 210 p.
- Maffei, M., Chialva, F. and Sacco, T. 1988. Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. New Phytologist, 111(1): 707-716.
- Maffei, M. and Sacco, T. 1987. Chemical and morphometrical comparison between two peppermint notomorphs. Planta Medica, 53(1): 214-216.
- Mahboubi, M. and Kazempour, N. 2014. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 36(1): 83-87.
- Metcalfe, C.R. and Chalk, L. 1950. Anatomy of Dicotyledons. II Clarendon Press, Oxford, 1500 p.
- Metcalfe, C.R. and Chalk, L. 1972. Anatomy of the Dicotyledons. II Clarendon Press, Oxford, 1053 p.

20. Pegoraro, R.L., Techio, V.H., Barp, E.A. and Soares, G.L.G. 2011. Morpho-anatomical changes in leaves of *Mentha x gracilis* Sole (Lamiaceae) submitted to different levels of shade. *Insula Revista de Botânica Florianópolis*, 40(1): 55-69.
21. Raven, H.P., Evert, F.R. and Eichhorn, E.S. 2007. *Biologia vegetal*. 7^a edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 830 p.
22. Rita, P. and Animesh, D.K. 2011. An updated overview on peppermint (*Mentha piperita* L.). *International Research Journal of Pharmacy*, 2(8): 1-10.
23. Shah, P.P. and D'Mello, P.M. 2004. A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. *Natural Product Radiance*, 3(4): 214-221.
24. Shibamoto, T. 1987. Retention indices in essential oil analysis, In: Sandra P. and Bicchi C. Eds. *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Alfred Heuthig Verlag, New York. Pp: 259-274.
25. Verma, R.S., Rahman, L., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A.K. and Singh, A. 2010. Essential oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita*) cultivars at different stages of plant growth from kumaon region of western Himalaya. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1): 13-18.
26. Yazdani, A., Jamshid, A. and Mojab, F. 2002. The comparison content of essential oils and menthol in *Mentha piperita* cultivated in different region of Iran. *Medicinal Plant*, 1(3):73-78. (In Persian).
27. Zámbořině, N.É. and Tétényi, P. 1988. Studies of the stolon development of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Herba Polonica*, 34(3):129-135.