نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال یازدهم، شماره ۴۱، بهار ۱۳۹۵ / صفحات: ۵۲-۴۱

بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، آنتی‌اکسیدانی و میزان اسانس گیاه دارویی چای کوهی *Stachys lavandulifolia* Vahl. در رویشگاه‌های استان‌های سمنان، خراسان شمالی و رضوی

صدیقه چورلی[۱]، سارا خراسانی‌نژاد*[۱]، خدایار همتی[۱]، بهاره کاشفی[۲]

[۱]گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[۲]گروه کشاورزی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۳ تاریخ پذیرش:۹۵/۳/۱۲

چکیده

چای‌کوهی یکی از گونه‌های دارویی جنس *Stachys* و تیره نعناع با خواص درمانی متعدد می‌باشد که در مناطق مختلف ایران رویش دارد. جهت بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی این گیاه تحقیقی بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار از چهار رویشگاه در استان‌های سمنان، خراسان شمالی و رضوی در سال ۱۳۹۳ صورت پذیرفت. سپس در زمان گلدهی اقدام به ثبت خصوصیات مورفولوژیکی از قبیل ارتفاع در زمان گلدهی، وزن‌تر و خشک ریشه و ساقه، طول ریشه، تعداد گل در گل‌آذین، نسبت گل‌های باز به کل گل‌ها، تعداد برگ روی ساقه، سطح برگ و مقدار کلروفیل گردید. همچنین درصد و عملکرد اسانس، مقدار فنل کل، محتوای فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعیین شد. با بررسی نتایج مشخص شد خصوصیات مورفولوژیکی گیاه مورد مطالعه در رویشگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار نداشت در حالی‌که در مورد میزان اسانس در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. در بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی، رویشگاه شاهرود بیشترین میزان فنل کل و مشهد بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود. همچنین بالاترین میزان فنل‌کل و محتوی فلاونوئیدی در برگ و بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را گل داشت. همچنین بیشترین عملکرد و درصد اسانس مربوط به رویشگاه مشهد مشاهده شد که می‌توان بیان نمود با کاهش ارتفاع و بارندگی، میزان اسانس تولید شده در گیاه چای کوهی افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آنتی‌اکسیدان، چای‌کوهی، رویشگاه، محتوی‌فلاونوئیدی، فنل‌کل.

مقدمه

گیاهان جزو اصلی‌ترین منابع غذایی برای تأمین مواد مغذی ضروری برای زندگی بشر هستند. همچنین حاوی مواد شیمیایی مختلف مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها می‌باشند که برای سلامتی مهم هستند (Nabavi et al., 2010). به‌عنوان مثال روتین که پایه تمامی بیوفلاونوئیدهاست، نقش مهمی در کاهش درد و کاهش فشار چشم دارد (Chena, et al., 2000; Jiang et al., 2007). فنل‌ها بزرگترین گروه از متابولیت‌های ثانویه هستند که به‌عنوان ضدآلرژی، ضدالتهاب، ضدمیکروب، ضدباکتریال، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی مطرح هستند و با جلوگیری از سختی عروق، در درمان بیماری‌های قلبی- عروقی موثر هستند (Soobrattee et al., 2005). چای‌کوهی (*Stachys lavandulifolia* Vahl.) در مناطق مختلف ایران رویش دارد (Rabbani et al., 2003) که گیاهی است از تیره نعنا، علفی، پایا، با ساقه‌های کرکدار و

*نویسنده مسئول: khorasaninejad@gau.ac.ir

گل‌های معطر که به‌صورت سنبله‌ای از گل‌های ریز صورتی مایل به سرخ‌رنگ می‌باشند و در میان کاسبرگ‌هایی با رنگ سبز روشن تا نقره‌ای و پشمالو فشرده و پشم‌گونه، در قسمت انتهایی ساقه قرار دارد (Rabbani et al., 2003). برگ‌ها بیضی‌شکل، نوک‌تیز و دندانه‌دار هستند و با دم‌برگ‌هایی تقریباً دراز به صورت متقارن بر روی ساقه می‌رویند (Salehi Sormaghi, 2009). قسمت مورداستفاده گیاه برای مصارف دارویی، گل‌ها و برگ‌ها می‌باشند (Salehi Sormaghi, 2009) و در همه‌جا، شمال و شمال شرقی، غرب، جنوب و بخش مرکزی ایران انتشار دارد (Ghahreman, 1994). در تحقیقات فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف استاکیس، حضور پلی‌فنل‌هایی نظیر فلاونوئیدها (Elansari et al., 1995)، تانن‌ها (Vundac et al., 2007)، اسیدهای فنلی (Vundac et al., 2005) و غیره گزارش شده‌است.

تاثیر عوامل اقلیمی بر گیاهان دارویی مختلف متفاوت است (Omidbaigi, 2010). از مهمترین عوامل محیطی که تأثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌گذارد، می‌توان به درجه حرارت محیط، ارتفاع محل و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اشاره کرد (Davise and Albrigo, 1994). در این رابطه، در پژوهشی که توسط Farsi و همکاران (۲۰۱۱)، بر روی گیاه نعناع (*Mentha longifolia*) در مناطق مختلف استان لرستان انجام گرفت، بیشترین و کمترین میزان اسانس به‌ترتیب در گیاهان منطقه خرم‌آباد و الشتر مشاهده گردید. در بررسی Shahraki و همکاران (۲۰۱۳) نیز بر روی گیاه برازمبل *Proveskia abrotanoides* Karel. منطقه کیاسر با ارتفاع بیشتر نسبت به پارک ملی گلستان بازده و حجم اسانس زیادتری نسبت به پارک ملی گلستان را نشان داد. در بررسی فیتوشیمیایی گیاه باریجه، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی گل باریجه منطقه قوچان و بیشترین میزان محتوی فلاونوئیدی و فنل‌کل این گیاه مربوطبه رویشگاه نیشابور بود.. همچنین تحقیقات زیادی روی گیاه چای کوهی در مناطق مختلف ایران صورت گرفته است ولی در معدود مطالعاتی اثر شرایط اقلیمی و خاکی در مورد رشد و ویژگی‌های فیوشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفته است که از جمله این موارد می‌توان به نتایج مطالعه Kargar و همکاران (۲۰۱۵) اشاره نمود که با بررسی ارتباط ویژگی‌های عملکردی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* Vahl.) با برخی از ویژگی‌های خاکی و توپوگرافی در حوضه آبخیز لاسم دریافتند که خصوصیات توپوگرافی بر مورفولوژی و شاخص‌های رشد گیاه موثر نبود ولی ویژگی‌های خاکی اثر معنی‌داری را بر شاخص های رشد داتشت.

از آنجایی‌که شرایط اقلیمی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاهان دارویی اثرگذار می‌باشد و برای کشت و اهلی‌سازی گیاهان دارویی که امروزه نیاز مبرم به آن احساس می‌شود، الگوبرداری از طبیعت ضروری است، لذا هدف از این تحقیق مقایسه و بررسی رویشگاه‌ها از لحاظ خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی و شناخت بهترین شرایط رویش برای این گیاه بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی: نمونه‌های برگ و گل در زمان گلدهی گیاه *Stachys lavandulifolia* Vahl. در اواخر اردیبهشت و اوایل خرداد سال ۱۳۹۳ از ارتفاعات مشهد (ارتفاعات روستای آل)، نیشابور (ارتفاعات روستای سوقند)، قوچان (۷۰ کیلومتری قوچان، روستای برزنون ارتفاعات امامزاده حسین‌اصغر"ع") و شاهرود (ارتفاعات اولنگ) در سه تکرار جمع‌آوری گردید. این تحقیق براساس آزمایش فاکتوریل بر پایه

طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ارتفاع و مختصات جغرافیایی رویشگاه‌ها به‌وسیله GPS تعیین، ثبت و نوع دامنه نیز مشخص گردید (جدول ۱). آمار هواشناسی نیز از ایستگاه هواشناسی تهیه (جدول ۲) و از هر منطقه نیز از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر نمونه خاک تهیه و سپس در آزمایشگاه آنالیز گردید (جدول ۳).

جدول ۱: ارتفاع، مختصات جغرافیایی و نوع دامنه رویشگاه‌های مورد مطالعه

رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا	مختصات جغرافیایی	نوع دامنه
شاهرود	۲۰۷۱ متر	N ۳۶° ۴۷' ۳۷/۵ " E۵۵ ° ۱۶ '۹/۷ "	دشت
قوچان	۱۹۷۱ متر	N ۳۶° ۳۲ ' ۵۱/۱ " E۵۸ ° ۱۷ ' ۵۲/۹ "	رو به غرب
مشهد	۱٤٦٤ متر	N ۳٦° ٤۲ ' ۳۹/٦ " E ۵۹ ° ۳۹ ' ٤۵/٤ "	رو به غرب
نیشابور	۱۷۷۱ متر	N ۳٦° ۱۳ ' ۱٤/۵ " E ۵۸ ° ۵۹ ' ۵۵/۳ "	رو به شرق

N: شمالی E: شرقی

جدول ۲: آمار هواشناسی چهار رویشگاه

رویشگاه	سال	حداقل درجه حرارت‌مطلق	حداکثر درجه حرارت‌مطلق	متوسط درجه حرارت	حداقل‌رطوبت نسبی مطلق	حداکثررطوبت نسبی مطلق	متوسط رطوبت نسبی	میزان‌بارندگی (میلی‌متر)	میزان‌تبخیر (میلی‌متر)
شاهرود	۹۱	-۸/۲	۳۸/٤	۱۵/۵	۷	۱۰۰	۵۲	۱۵۱	۲۱۵۰/۵
	۹۲	-۱٤	٤۰/۸	۱۵/۳	۸	۹۷	٤۷	٤۹/۲	۲۳۰٤
	بهار۹۳	-۳/۲	۳٦/٤	۱۹/۲	۹	۹۷	٤۱	۵۷/۱	۷۵۷/٦
مشهد	۹۱	-٤/۸	۳۵/۷	۱٦/۳	۹/٦	۹۰	٤۷/٤۵	۲۷۹/۷	۱۹۰٦/۵
	۹۲	-٤	۳۵	۱۵/٤۹	۱۲	۸۸	٤٦/۱٦	۱٤۰/۷	۱۸٤۷/۵
	بهار۹۳	۵/۹	۳۲/٦	۱۹/۹٦	۱۲/۹	۸۵.۲	٤۳/۳	۱۱۳/٦	٤۳٤/۲
قوچان	۹۱	-۱۰/٤	۳۲/۱	۱۲/۵۱	۱٦	۹۵	۵۸/۵۱	۳٤۸/٦	۱۳٤۰/٦
	۹۲	-۷/۷	۳۲/۱	۱۲/۱۷	۱۸/۵	۹۱	۵۷/٦۹	۱۷۷/۸	۱۵٤۸/۱
	بهار۹۳	۲	۲۹/۹	۱۵/٦۳	۲۱/۲	۹۱	۵٦/٦	۱۳۱/۱	٤۵۷/۸
نیشابور	۹۱	-۸/۷	۳٤/٦	۱٤/۲۹	۱۵	۹۲	۵۳/۱٦	۲٤۵/۹	۱۹٤۲
	۹۲	-۵/۷	۳٤/۷	۱٤/۳۵	۲۱	۹۲	۵۳/۳۵	۱٦۳/۷	۲۱۵۳/۳
	بهار۹۳	٤/۵	۳۲/٤	۱۸/۳٦	۱۸/۱	۸۵/٤	٤۸/۸	۸٦/۹	۸۵۸/۵

جدول ۳: خصوصیات خاکشناسی رویشگاه‌ها

رویشگاه	pH	هدایت الکتریکی Ec	بافت				درصد کربن آلی OC(ppm)	فسفر قابل جذب(ppm)	ازت کل (ppm)	پتاسیم قابل جذب(ppm)
			رس	سیلت	شن	نوع بافت				
مشهد	۷/۳۰	۰/٤٥۳	۲٤	٥۰	۲٦	لوم-سیلت‌لوم	۰/۱	٤/٤	۰/۰٦	۱۸۰
قوچان	۷/۱٦	۰/٤۲٤	٦	۳٦	٥۸	سندی لوم	۰/۳	۲۳/٤	۰/۰۸	۲٦۰
نیشابور	۷/۲۳	۰/٦۱۸	۱۰	٤۸	٤۲	لوم	۰/٥	٥/۸	۰/۰۷	۱۸۰
شاهرود	۷/۲۰	۰/٤٤۳	٦	۱٦	۷۸	لومی سند	۰/٤	٤/۲	۰/۰٥	۲۰۰

تعیین ویژگی‌های مورفولوژیکی و شاخص‌های رشد: به‌منظور ارزیابی برخی از صفات مورفولوژیکی در هر رویشگاه ۳ منطقه و در هرمنطقه پنج نمونه کامل گیاهی با ریشه، در فصل گلدهی گیاه انتخاب و ۱۱ صفت کمی رویشی و زایشی شامل ارتفاع گیاه در زمان گلدهی به‌وسیله خط‌کش، وزن‌تر و خشک ریشه و ساقه به وسیله ترازو، طول ریشه به‌وسیله خط‌کش، تعداد گل در گل‌آذین، نسبت گل‌های باز به کل گل‌ها، تعداد برگ روی ساقه، سطح برگ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل: مقدار کلروفیل با کلروفیل‌سنج دستی مدل SPB520 اندازه‌گیری شد.

تعیین درصد و عملکرد اسانس: برای تعیین درصد و عملکرد اسانس، اندام هوایی گیاه جمع‌آوری و در سایه خشک گردید. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد و درصد اسانس و عملکرد اسانس از طریق رابطه‌های (۱ و ۲) محاسبه گردیدند.

$$\text{درصد اسانس} = \frac{\text{مقداراسانس}}{\text{وزن خشک}} \times ۱۰۰ \qquad \text{رابطه (۱)}$$

$$\text{عمکرد اسانس (میلی‌لیتر در بوته)} = \frac{\text{مقداراسانس}}{\text{تعداد بوته}} \qquad \text{رابطه(۲)}$$

تهیه عصاره متانولی: پس از جمع‌آوری نمونه‌ها و جداسازی گل و برگ، اقدام به خشکاندن در محیط اتاق با دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد، در شرایط سایه و با تهویه مناسب گردید. سپس به‌میزان یک گرم از آن‌ها پودر شده، در ارلن ٥۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. در ادامه، نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت بر روی شیکر قرار گرفته و عصاره متانولی حاوی نمونه با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید. آنگاه عصاره خالص برای اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فنل‌کل: میزان فنل کل با استفاده از روش فولین‌سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره را در لوله آزمایش ریخته و سپس ۱/۱٦ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو به آن اضافه شد. بعد از ۸-۱ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه شد و بعد از هم‌زدن به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ٤۰درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار گرفت. در شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردیده، سپس در طول‌موج ۷٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم نمونه خشک محاسبه گردید (Mashayekhi and Atashi, 2014).

جدول ٤: تجزیه واریانس خصوصیات مورفولوژیکی و میزان اسانس گیاه چای کوهی

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گیاه در زمان گلدهی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه	تعداد گل در گل آذین	نسبت گل های باز به کل گل‌ها	تعداد برگ در ساقه	مقدار کلروفیل	سطح برگ	عملکرد اسانس	درصد اسانس
تیمار	۳	۸۵/٤ ns	٤٥/۸ ns	۷۹/۳ ns	۷۳/۰ ns	۱۵۹/۰ ns	٥٤/٤ ns	٦۳/۹ ns	۰۲۹/۰ ns	۷۷/۱۹ ns	٤۱/۲٥٦ ns	۹٦/۲ ns	۳ /۹٥ **	۳۱۸/۰ **
خطا	۸	۷/۲٦	٤/۱۰۷	۲/٤۹	۱/۳۷	۰/۲۱۹	٦/۳۷	۳۲/۷٥	۰/۰۱۱	۱۲/۰۸	۹۲/۱٥	۷/۸٤	۲/۱٦	۰/۰۲٤
CV		۲٤/۲۹	٥٦/٥٤	٦٥/۹۸	۳۸/۲٦	۳٦/۳۰	۲٤/۲۷	۳۳/٤۹	٥۳/۷۹	۲۳/۱۷	۲٥/٥۲	۲۹ /٥۸	۱٤/۷۱	۲۳/۷۸

ns: غیر معنی‌دار **: معنی‌دار در سطح ۱ درصد

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدی کل: برای محاسبه محتوای فلاونوئیدی از روش آلومینیوم‌کلرید استفاده شد. به صورتی‌که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد (۱۰ گرم آلومینیوم‌کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم یک مولار (۲/٤۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. محلول حاصل ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس در طول موج ٤۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Mashayekhi and Atashi, 2014).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: برای تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ابتدا غلظت‌های مختلفی از عصاره متانولی گیاه تهیه شد. سپس از هر غلظت ۲ میلی‌لیتر در لوله‌های آزمایش ریخته و با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰٤ درصد DPPH مخلوط گردید. محلول کنترل شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. بعد از قرار دادن لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Mashayekhi and Atashi, 2014). اعداد به‌دست آمده از جذب نمونه توسط رابطه (۳) به درصد مهار تبدیل شد.

رابطه (۳)

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)} = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times ۱۰۰$$

$A_{control}$: جذب محلول کنترل در ۵۱۷ نانومتر

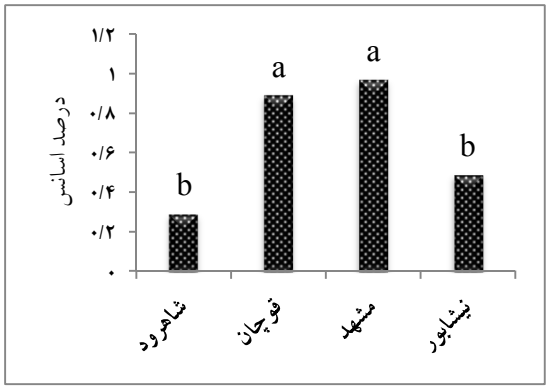
A_{sampel}: جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر

لازم به ذکر است تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز از نرم‌افزار SAS و برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده گردید.

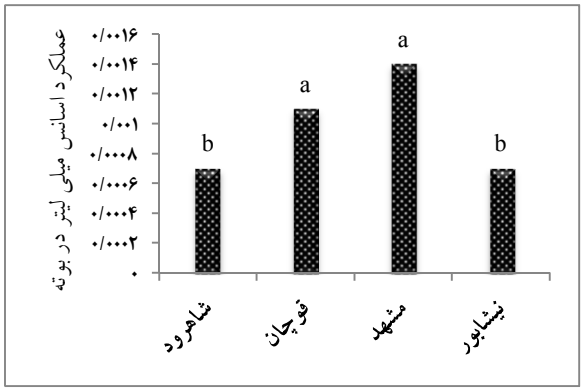
نتایج

اثر رویشگاه بر خصوصیات مورفولوژیکی و شاخص‌های رشد: نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را برای خصوصیات مورفولوژیکی و شاخص‌های رشدی نشان نداد به‌طوری‌که اثر رویشگاه روی ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ریشه، تعداد گل در گل‌آذین، تعداد برگ در ساقه و سطح برگ در یک‌درصد دارای اختلاف معنی دار نبود (جدول ٤).

اثر رویشگاه بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر رویشگاه بر عملکرد و درصد اسانس در سطح ۱ درصد معنی دار بود (جدول ٤). همچنین نتایج نشان داد که رویشگاه بر مقدار فنل‌کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ا درصد و نیز اثر اندام بر مقدار فنل‌کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱ درصد و بر محتوی فلاونوئیدی‌کل در سطح ۵ درصد دارای اثر معنی‌دار بود ولی اثر متقابل این دو بر هیچ‌کدام از ویژگی‌های فیتوشیمیایی مورد اندازه‌گیری، معنی‌دار نبود. همچنین طبق نتایج بدست آمده بیشترین عملکرد و درصد اسانس در مشهد و قوچان و کمترین در شاهرود و نیشابور مشاهده شد. (شکل ۱ و ۲)



شکل ۱: مقایسه درصد اسانس گیاه چای کوهی در چهار رویشگاه مورد مطالعه



شکل ۲: مقایسه عملکرد اسانس گیاه چای کوهی در چهار رویشگاه مورد مطالعه

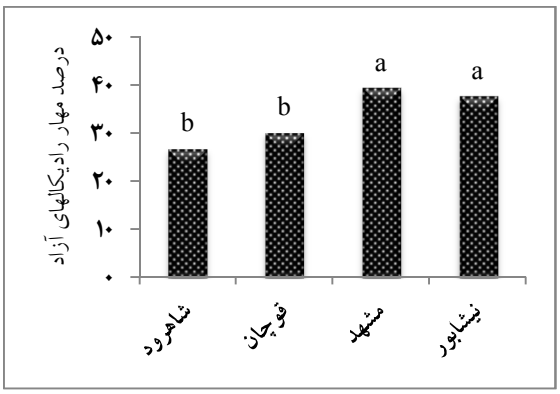
جدول ۵: تجزیه واریانس اثر اندام و رویشگاه روی صفات فیتوشیمیایی گیاه چای کوهی

منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل‌کل	محتوی فلاونوئیدی کل	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی
رویشگاه	۳	۰/۰۲۷**	۰/۰۰۰۰۳ns	۲۱۸/۳۷**
اندام	۱	۰/۰۶۷**	۰/۰۰۰۲*	۷۹۵۷/۰۰۵**
رویشگاه × اندام	۳	۰/۰۰٤ns	۰/۰۰۰۱ns	۵۱/۷۲ns
خطا	۱٦	۰/۰۰٤	۰/۰۰۰۰۳	۲۳/۵۲
ضریب تغییرات		۲۷/۳۰	۱/۸۳	۱٤/۵۷

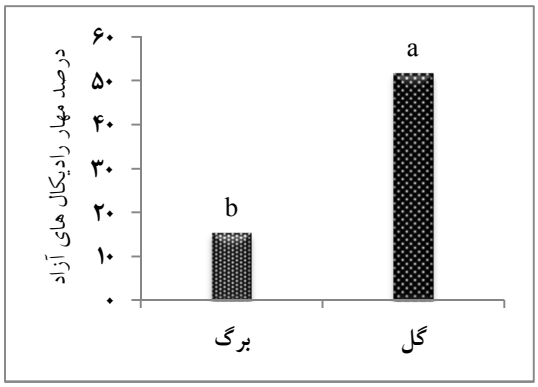
ns: عدم معنی‌داری *و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد

اثر رویشگاه بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط‌به رویشگاه مشهد و کمترین، شاهرود بود (شکل ۳) که بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را گل و کمترین را برگ داشت (شکل ٤).

اثر رویشگاه بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی: نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن بود که بیشترین مقدار فنل‌کل مربوط‌به رویشگاه شاهرود (شکل ٦) و بیشترین فنل کل را اندام برگ داشت (شکل ۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین محتوی فلاونوئیدی کل مربوط‌به اندام برگ بود (شکل ۷).

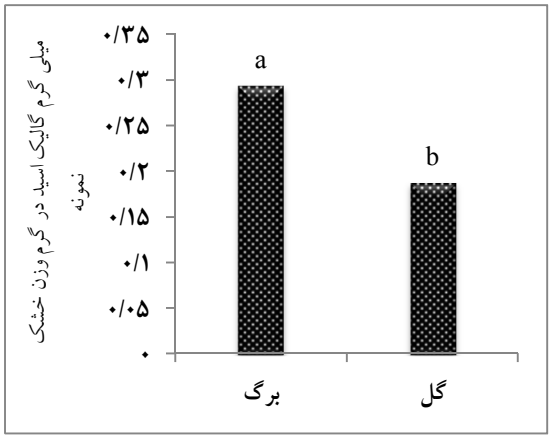


شکل ۳: اثر رویشگاه بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چای کوهی

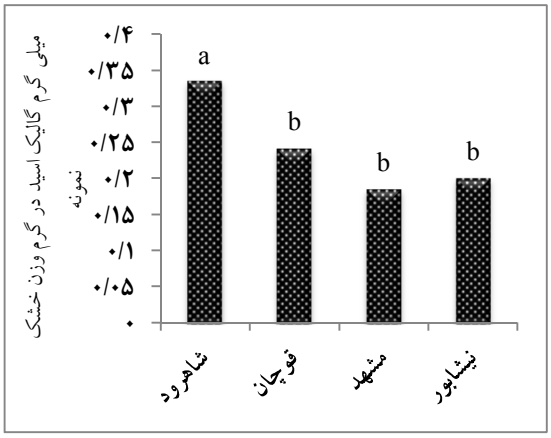


شکل ٤: اثر اندام بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چای کوهی

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد است

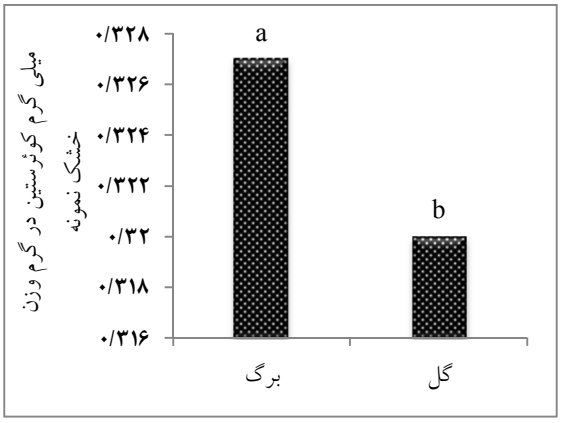


شکل ۵: اثر اندام بر میزان فنل‌کل گیاه چای کوهی



شکل ٦: اثر رویشگاه بر میزان فنل کل گیاه چای کوهی

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد است



شکل ۷: اثر اندام بر محتوی فلاونوئیدی کل گیاه چای کوهی

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح یک‌درصد است

با توجه به ضرایب همبستگی (جدول ٦)، فنل کل برگ با فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و گل همبستگی منفی و معنی‌داری و فنل گل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل نیز همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ نیز با فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل دارای همبستگی مثبت و معنی‌داربود

جدول ٦: ضرایب همبستگی صفات فیتوشیمیایی

	فنل برگ	فنل گل	فلاونوئید برگ	فلاونوئید گل	آنتی‌اکسیدان برگ	آنتی‌اکسیدان گل
فنل برگ	۱					
فنل گل	۰/٤۹۷ ns	۱				
فلاونوئید برگ	-۰/۰۱۸ ns	-۰/٤۲۵ ns	۱			
فلاونوئید گل	-۰/۰۸۳ ns	۰/۰۸۰ ns	۰ ns	۱		
آنتی‌اکسیدان برگ	-۰/۷۹۰ **	-۰/۳۷۷ ns	-۰/۳٥٦ ns	۰/۳۲۳ ns	۱	
آنتی‌اکسیدان گل	-۰/٦۳٥ *	-۰/۸۲۸ **	۰/۱۷٥ ns	۰/۰٤۱ ns	۰/٦۹٦ *	۱

* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد، ns: غیر معنی‌دار

بحث

شناسایی رویشگاه‌های مختلف و ارزیابی تأثیر عوامل محیطی بر صفات ریختی و عملکرد کمی و کیفی مواد مؤثره گیاهان دارویی، کمک مهمی برای اهلی کردن و حفظ تنوع ژنتیکی این گیاهان به حساب می‌آید (Yavari et al., 2010). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که ٤ رویشگاه‌های مورد بررسی بر خصوصیات مورفولوژیکی و شاخص‌های رشد گاه چای‌کوهی اثر معنی‌داری نداشت که با نتایج مطالعه Kargar و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد. طبق گزارش این محققان ویژگی‌های توپوگرافی از قبیل ارتفاع از سطح دریا، جهت های جغرافیایی و شیب حوضه آبخیز لاسم روی خصوصیات عملکردی گیاه مانند سطح برگ و وزن خشک گیاه چای‌کوهی (*Stachys lavandulifolia* Vahl.)، موثر نبود.

همچنین طبق نتایج بدست آمده اثر رویشگاه بر درصد و عملکرد اسانس در سطح یک‌درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد که بر اساس تحقیقات Makkizadeh Tafti و همکاران (۲۰۱۰)، عملکرد اسانس آویشن کرمانی (*Thymu carmanicus* Jalas) جمع‌آوری شده از پنج منطقه مورد مطالعه تفاوت محسوس و قابل‌توجهی را نشان داد به گونه‌ای که کمترین بازده از نمونه اصفهان و بیشترین بازده از نمونه‌های کرمان-راین و یزد حاصل شد. همچنین در تحقیق صورت گرفته توسط Alibakhshi و همکاران (۲۰۱٤) روی گیاه سنبله بادکنکی (*Stachys inflata*) جمع‌آوری شده از سه رویشگاه، رویشگاه بلده با کمترین ارتفاع از سطح دریا، بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص داد. این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز مطابقت دارد به‌طوری‌که با کاهش ارتفاع در رویشگاه مشهد بر مقدار عملکرد و درصد اسانس افزوده شد از طرف دیگر، خاک رویشگاه شاهرود دارای مقادیر کمتری از ازت کل و فسفر قابل‌جذب نسبت‌به رویشگاه‌های دیگر بود که این امر می‌تواند دلیلی بر کاهش درصد و عملکرد اسانس باشد. Mazandarani و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی که بر گیاه برازمبل انجام داد میزان اسانس در منطقه شاهکوه را بیشتر از منطقه چمن‌بید گزارش نمود که در بررسی نمونه خاک دو منطقه میزان ترکیبات فسفر، کلسیم، پتاسیم و غیره را در منطقه شاهکوه بیشتر از منطقه دیگر گزارش کرد. همچنین رویشگاه شاهرود دارای کمترین میزان بارندگی نسبت‌به سه رویشگاه دیگربود که خود می‌تواند یک عامل محدودکننده در رشد قابلیت تولید بالای اسانس را در گیاه کاهش دهد.

دادهای بدست آمده در این تحقیق نشان داد که اثر تیمارهای اندام و رویشگاه در سطح یک‌درصد بر میزان فنل‌کل معنی دار بود. به‌طوری‌که بیشترین میزان فنل‌کل مربوط به رویشگاه شاهرود و نمونه برگ و کمترین مربوط به مشهد و گل مشاهده شد. Sepehrifar و Hassanlu (۲۰۰۹) با بررسی مقایسه‌ای مقدار ترکیبات فنلی، آنتوسیانینی و فلاونوئیدی در عصاره متانولی برگ و میوه گیاه قره‌قاط جمع‌آوری شده از استان‌های اردبیل، گیلان و مازندران دریافتند که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی مربوط‌به میوه قره‌قاط منطقه کلاردشت مازندران با ارتفاع کمتر و بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی بر حسب کوئرستین مربوط به برگ منطقه ماسوله گیلان با ارتفاع بیشتر بود. همچنین در تحقیقی مشخص گردید در اندام‌های مختلف نارنج در دو منطقه گرگان و آمل، بیشترین ترکیبات فنلی به‌ترتیب مربوط به اندام‌های گل و پوست میوه و بیشترین مقدار آن در گل گرگان و کمترین مقدار مربوط به برگ گرگان بود که مهم‌ترین عامل اختلاف، تفاوت ارتفاع دو منطقه بوده است (Zakerimehr et al., 2013a). باتوجه به نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر بیشترین میزان

فنل کل را شاهرود و کمترین را مشهد داشت که دلیل آن را می توان ارتفاع بالای شاهرود دانست. در پژوهش Gairola و همکاران (۲۰۱۰) نیز با بررسی تاثیر ارتفاع‌های مختلف روی میزان فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و مقدار فنل کل و محتوی فلاونوئیدی در گیاه فاگوپیروم (*Fagopyrum tataricum*) نشان دادند که مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با افزایش ارتفاع، افزایش می‌یابد. همچنین در این ارتباط می توان به دمای پائین تر شاهرود نسبت به مشهد اشاره نمود که می تواند دلیلی بر افزایش میزان ترکیبات فنلی در این رویشگاه باشد به‌طوری‌که Ghasemi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تاثیر فاکتورهای محیطی برروی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل‌کل و فلاونوئیدکل در گیاه گردو به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل در منطقه کوهستانی با کمترین میانگین دمای روزانه بود.

بر اساس نتایج این تحقیق، رویشگاه اثر معنی‌داری بر محتوی فلاونوئیدی نداشت درحالی‌که اندام در سطح پنج درصد دارای اثر معنی‌دار بر محتوی فلاونوئیدی بود به‌طوری‌که بیشترین میزان فلاونوئیدها در برگ و کمترین نیز در گل تعیین شد. Hemmati و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی تغییرات برخی ترکیبات فلاونوئیدی برگ، گل، براکته، میوه و پوست نمدار در دو منطقه پراکنش گرگان و کلاردشت بیان داشتند بین اندام‌های مورد بررسی و مناطق رشد از نظر میزان ترکیبات فلاونوئیدی اندازه‌گیری‌شده در اکثر موارد، اختلاف معنی‌داری وجود داشت به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع، میزان ترکیبات فلاونوئیدی افزایش یافت. در مورد ارزیابی میزان فلاونوئید کل اندام‌های مختلف نارنج در دو رویشگاه آمل و گرگان نیز مشخص شد که تغییر میزان فلاونوئیدها در اندام‌ها و رویشگاه‌ها در دو منطقه معنی‌دار بود. در هر دو منطقه بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به گل و کمترین آن در برگ‌ها مشاهده شد این در حالی‌است که میزان این ترکیبات در رویشگاه آمل بیشتر از گرگان بود (Zakerimehr, et al., 2013b).

همچنین بررسی اثر اندام و رویشگاه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چای در این تحقیق حاضر مشخص کرد این دو عامل در سطح ۱ درصد دارای اثر معنی‌دار بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در رویشگاه مشهد و اندام گل و کمترین در شاهرود و اندام برگ بدست آمد، به‌طوری‌که عصاره متانولی گل چای کوهی به‌طور قابل‌توجهی میزان رادیکال‌های آزاد DPPH را کاهش داد که کارآیی این عصاره در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد DPPH بیشتر از عصاره متانولی برگ آن بود که نتیجه مشابهی نیز توسط Farajallahi و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه چای کوهی اعلام شد. همچنین بر اساس نتایج Mohammadimilasi و Roshandel (۲۰۱۲)، دانه‌های گیاه زوفا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با گل‌ها، برگ‌ها و ریشه‌ها داشتند. درحالی‌که محتوی فنلی برگ‌ها در این گیاه بیشتر از سایر بخش‌ها بود. باتوجه‌به این‌که میزان فنل‌کل با خاصیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی منفی داشت (جدول ٦) می‌توان گفت که با افزایش میزان فنل کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافته‌است.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد بیشترین عملکرد و درصد اسانس مربوط به رویشگاه مشهد و اندام گل و بیشترین فنل‌کل مربوط به رویشگاه شاهرود و اندام برگ و بیشترین محتوی فلاونوئیدی‌کل مربوط‌به اندام برگ بود. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که با کاهش ارتفاع و کاهش بارندگی، میزان اسانس تولید شده، افزایش و میزان فنل‌کل کاهش یافت.

References

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

Chena, G., Zhang, H.B. and Yea, J. (2000). Determination of rutin and quercetin in plants by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Analytica Chimica Acta. 423: 69–76.

Davise, F.S. and Albrigo, L.G. (1994). Citrus. CAB. International Press, Wallington, UK, P 814.

Farajallahi, S., Amiri, H., Ahmadvand, H. and Bagheri, SH. (2012). Comparison of the antioxidant activity of methanol extract of leaves and flower *Stachys lavandulifolia* vahl. Third National Conference on Agricultural Biotechnology Iran (plant, animal and industrial).

Farsi, A., Hemmati, KH., Ghasemnejad, A. and Rezainejad, A. (2011). The morphological characteristics and unit of essential oil of *Mentha longifolia* indifferent regions of the Lorestan province. First National Congress on Science and Technology of Modern Agriculture.

Gairola, S., Shariff, N., Bhate, A. and Prakash kola, C. (2010). Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants. Journal of Medicinal Plant Research. 1825-1829.

Ghahreman, A. (1994). Iranian Choromatophytes (Plant systematic). 1st ed. Tehran: Pub of Tehran University. 237- 49.

Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, M., Nabavi, F., Ebrahimzadeh, A. and Pourmand, F. (2011). Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. Medicinal Plant. 1138-1133.

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.

Hemmati, KH., Ghasemnejad, A., Mashayekhi, K. and Bashiri Sadr, Z. (2012). Site effect on some important flavonoid compounds of Linden tree (*Tilia platifolia* L.). Journal of Plant Production. 19(2):141-148.

Jiang, P., Burczynski, F., Campbell, C., Pierce, G., Austria, J.A. and Briggs, C.J. (2007). Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum, F. tataricum,* and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. Food Research. 40: 356-364.

Mashayekhi, K. and Atashi, S. (2014). The analyzing methods in plant physiology (surveys befor and after harvest). Press sirang words, Gorgan, 310 p.

Mazandarani, M., Beyk Mohammadi, M. and Bayat, H. (2009). Ethnopharmacology and investigation secondary metabolites of *Perovskia abrotanoides* Karel.in two natural regions, North of Iran. Journal on Plant Science Researches.16 (4): 69-77.

Mohammadi milasi, R. and Roshandel, P. (2012). The characteristic of antioxidant and total phenol content in Hyssop plant. National Congress on Medicinal Plants of Yasuj. August 2012.

Makkizadeh Tafti, M., Naghdi Badi , H., Rezazadeh, Sh., Ajani, Sh. and Kadkhoda, Z. (2010). Evaluation of botanical traits and oil content/chemical composition in Iranian *Thymus carmanicus* Jalas Ecotypes. Journal of Medicinal Plant. 4(36): 57-65.

Nabavi, S.F., Ebrahimzadeh, M.A. and Nabavi, S.M. (2010). Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of *Ferula gummosa* Boiss. Grasasy Aceites. 61(3):277- 250.

Omidbaygi, R. (2010). Production and processing of medicinal plants. Publication, Astane Ghodse Razavi, 1: 347.

Rabbani, M., Sajjadi, SE. and Jalali, A. (2005). Hydroalcohol extract and fractions of *Stachys lavandulifolia* Vahl: Effects on spontaneous motor activity and elevated plus-maze behavior. Phototherapy Research. 19: 854–858.

Rabbani, M., Sajjadi, S.E. and Zarei, H.R. (2003). Anxiolytic effects of *Stachys lavandulifolia* Vahl on the elevated plus – maze model of anxiety in mice. Journal of Ethnopharmacololgy. 89 (2-3): 271-6.

Salehi Sormaghi, MH. (2009). Medicinal Plants and Theraputic Plants. 2nd ed. Tehran: Pub of Nutrition World. 2: 121-3.

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.

Shahraki, S., Mahdavi, KH., Hosseini, S.A., Mazandarani, M. and Tavan, M. (2013). Investigation quantity and quality of

essential oils the *Proveskia abrotanoides* Karel. (Case study: international park of Golestan and Kyasar Mazandaran). Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plant. 3:68-81.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruomab, O.I. and Bahoruna, T. (2005). Phenolic as potential antioxidant therapeuticagents: Mechanism and actions. Mutation Research. 579: 200-213.

Vundac, V.B., Brantner A.H. and Plazibat, M. (2007). Content of phenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys taxa*. Food Chemistry. 104: 1277- 1281.

Vundac, V.B, Males, Z., Plazibat, M., Golja, P. and Cetina-Cizmek, B.C. (2005). HPTLC determination of Flavonoids and Phenolic acids in some Croatian *Stachys taxa*. Journal of Planar Chromatography-Modern TLC.18: 269- 273.

Yavari, A.R., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E. (2010). Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of Thymus migricus Klokov & Desj.-Shost. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants,26(2): 227-238.

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

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