

تغییر محتوی فیتوشیمیایی گیاه دارویی علف مار (*Capparis spinosa*) جمع‌آوری شده از خرد اقلیم‌های مختلف

علی قنبری^۱، محمد رضا عظیمی^{۱*}، علیرضا رفیعی^۲، پوریا بی‌پروا^۳ و محمد علی ابراهیم‌زاده^۴

^۱ گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان،^۲ گروه ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری،^۳ گروه علوم پایه، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری،^۴ گروه شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۶/۱۸)

چکیده

گیاه علف مار (*Capparis spinosa*) یکی از گیاهان دارویی ارزشمندی است که در موقعیت‌های اکولوژیکی وسیعی قابلیت رشد دارد. به منظور بررسی تأثیر اقلیم روی ترکیبات فیزیولوژیکی این گیاه، نمونه‌های گیاهی در اواخر تابستان با سه تکرار از مناطق کوهستانی شهرستان آمل (نمارستاق، دلارستاق و بهرستاق) در چهار ارتفاع جمع‌آوری شدند که دارای اختلاف ۱۵۰ متری از یکدیگر بودند (کمترین ارتفاع ۸۵۰ متر). برخی صفات فیزیولوژیکی برگ و میوه اندازه‌گیری و به صورت تجزیه مرکب در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی گردید. نتایج نشان داد تمامی صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر اقلیم قرار داشت و از نظر آماری معنی‌دار بودند، به نحوی که بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، ویتامین C، فنول، آنتوسیانین، آنتی‌اکسیدان در ارتفاع ۱۶۵۰ متری منطقه بهرستاق به ترتیب با ۶/۷۵، ۱۰/۵۶، ۳/۵۹، ۱۵/۶۰، ۲۴/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، ۲/۰۵ میکرومول بر گرم وزن تر و ۸۱/۷۸ درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد بدست آمد و کمترین میزان آن‌ها در ارتفاع ۸۵۰ متری منطقه نمارستاق مشاهده شد. شیب رگرسیون نیز رابطه معنی‌دار صفات با منطقه و ارتفاع را ثابت کرد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی که مهمترین ویژگی دارویی این گیاه می‌باشد به همراه کلروفیل a بالاترین رابطه معنی‌داری را با منطقه و ارتفاع به خود اختصاص دادند ($r^2 = 0.93$). همچنین تجزیه ضرایب همبستگی ساده پیرسون اثر مثبت و معنی‌داری را بین صفات نشان داد. در مجموع مقدار ترکیبات فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده که اثرات دارویی دارند با افزایش ارتفاع از سطح دریا افزایش یافت بنابراین می‌توان در مناطق مرتفع کشت برخی گیاهان دارویی نزدیک به این خانواده را توسعه داد.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع از سطح دریا، اکولوژی، دارویی، منطقه، همبستگی

مقدمه

کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و آمینواسیدها) مقادیر وسیعی از ترکیبات با وزن مولکولی پایین تولید می‌کنند که ترکیبات فیتوشیمیایی یا متابولیت‌های ثانویه نامیده می‌شود (Dixon, 2001). به‌طور خاص متابولیت‌های ثانویه مهم‌ترین مواد گیاهی در ساختار داروهای گیاهی به‌شمار می‌روند (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

تنوع بالای گیاهان دارویی از لحاظ ماهیت و غلظت متابولیت‌ها به آن‌ها کمک می‌کند که مقابله با تنش‌های محیطی تسهیل گردد و در سازگاری منطقه‌ای نیز نقش دارند (Labarrere et al., 2019). گیاهان علاوه بر متابولیت‌های اولیه ضروری (مانند

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: azimi@znu.ac.ir

در گیاهان دارویی به‌طور کلی میزان و کیفیت مواد فیتوشیمیایی تحت تأثیر ژنتیک است ولی عوامل اقلیمی نظیر نور، بارندگی، درجه حرارت، باد و ویژگی‌های خاک مثل بافت، اسیدیته، مقدار عناصر غذایی مؤثر هستند و عوامل جغرافیایی هم نظیر ارتفاع از سطح دریا، مقدار شیب و جهت آن اثرات قابل توجهی بر کمیت و کیفیت ترکیبات فیتوشیمیایی دارند (نبوی و همکاران، ۱۳۹۶) همچنین محققان وجود ارتباط بین محل رویش و تأثیر آن بر میزان ترکیبات شیمیایی گیاهان را بیان کرده‌اند. عوامل محیطی محل رویش از طریق تأثیر بر مقدار کلی مواد مؤثره، عناصر تشکیل‌دهنده مواد مؤثره و تولید وزن خشک در کمیت و کیفیت صفات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی دخالت دارند (محمدنژاد گنجی و همکاران، ۱۳۹۶) ضمن اینکه ارتفاع از سطح دریا در دسته پراهمیت‌ترین عوامل محیطی است که بر ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی تأثیرگذار است (قربان‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). بنابراین عوامل محیطی که اقلیم یک منطقه را تشکیل می‌دهند نقش تأثیرگذاری در تجمع ترکیبات فیزیولوژیکی در گیاهان دارند (Davis and Albrigo, 1994). مطالعات زیادی در ایران و جهان در مورد تأثیر عوامل اقلیمی بر کمیت و کیفیت ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهانی نظیر مهر سلیمان (*Polygonatum verticillatum*) (Suyal et al., 2019)، پیرو (*Juniperus communis* L. (قربان‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸)، پیرو (*Juniperus sabina* L.) (نبوی و همکاران، ۱۳۹۶)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) (Demasi et al., 2018)، درمنه (*Artemisia Sp.*) (آریانفر و همکاران، ۱۳۹۷)، آق‌طی (*Sambucus ebulus* L.) (کاغذلو و همکاران، ۱۳۹۶)، هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) (صابری و همکاران، ۱۳۹۶)، پونه (*Mentha longifolia*) (نوروزی و همکاران، ۱۳۹۶)، گل راعی (*Hypericum Sp.*) (Cirak et al., 2017)، خشخاش (*Stachys lavandifolia*) (سروری و همکاران، ۱۳۹۴)، مریم‌گلی (*Salvia hydrangea* L.) (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۴)، گزنه (*Urtica dioica* L.) (نجار فیروزجایی و همکاران، ۱۳۹۳) صورت گرفت.

گیاهان دارویی به‌عنوان یک منبع مهم محصولات طبیعی زیستی مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها شناخته می‌شوند (Tungmunthum et al., 2018) و امروزه به‌دلیل میزان بالای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی این گیاهان، در حوزه‌های درمانی جوامع مختلف کاربرد رایجی دارند (راشدی و همکاران، ۱۳۹۳). فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی در گیاهان به‌خصوص گیاهان دارویی دارای انتشار گسترده‌ای هستند که تنوع در اثرات بیولوژیکی مانند آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی و التهاب‌زدایی آن‌ها سبب بررسی‌های بی‌شماری در میان محققان شده است (کاغذلو و همکاران، ۱۳۹۶).

گیاه علف مار (*Caparis spinosa* L.) گیاهی درختچه‌ای با ساقه‌های خوابیده بر زمین است که جز گیاهان دارویی دولپه متعلق به تیره کاپاریداسه (Capparidaceae) است. این گیاه دارای برگ‌های ساده، گل‌های سفید و معطر است. علف مار بزرگترین جنس این خانواده است که در ایران با نام‌های محلی مختلفی شناخته می‌شود (قهرمان، ۱۳۸۸). گیاه دارویی علف مار از جمله گیاهان دارویی باارزشی است که پراکنش وسیعی داشته و قابلیت رشد در موقعیت‌های گسترده اکولوژیکی را دارا می‌باشد. در ایران کمیت ترکیبات فیزیولوژیکی اندام‌های مختلف گیاه علف مار به‌صورت موردی بررسی شد (راشدی و همکاران، ۱۳۹۳؛ Moghaddasian et al., 2014) اما در مورد تأثیر عوامل توپوگرافی و تغییرات اقلیمی بر ترکیبات و متابولیت‌های این گیاه دارویی تا به حال تحقیقی در ایران صورت نپذیرفته است، لذا در این مطالعه با توجه به تأثیر عوامل اقلیمی بر گیاهان و همچنین خواص با ارزش دارویی این گیاه، ترکیبات فیزیولوژیکی آن در خرد اقلیم‌های با ارتفاع مختلف بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق نمونه میوه گیاه علف مار در مرحله رسیدن کامل و برگ از سه رویشگاه شهرستان آمل (نمارستاق با چهار ارتفاع ۸۵۰، ۱۰۰۰، ۱۱۵۰، ۱۳۰۰، دلارستاق با چهار ارتفاع ۱۰۰۰،

که در این رابطه ε یا ضریب خاموشی $33000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ، مقدار جذب، b عرض کووت برابر با یک سانتی متر و c مقدار آنتوسیانین برحسب میکرومول بر وزن تر گیاه بیان گردید.

غلظت اسید آسکوربیک عصاره میوه براساس کاهش رنگ ترکیب ۲، ۶ - دی کلروفنول ایندوفنول (DCIP) توسط اسید آسکوربیک اندازه گیری شد (Chang et al., 2002). در این روش، مقدار یک میلی گرم از بافت میوه با ۳ میلی لیتر متافسفریک اسید (۱ درصد) مخلوط و پس از گذشت نیم ساعت، مخلوط بالا در دمای ۴ درجه سانتی گراد و ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول رویی ۵۰ میکرولیتر برداشته و به آن مقدار ۲۰۰ میکرولیتر اضافه گردید. میزان جذب نمونه ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت اسید آسکوربیک با استفاده از خط درجه بندی تهیه شده از غلظت های مختلف اسید آسکوربیک (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) در حضور DCIP محاسبه گردید.

سنجش محتوای فنول، فلاونوئید و فعالیت

آنتی اکسیدانی: محتوای فنول کل با روش فولین سیوکالتیو تعیین گردید (Waterhouse and Laurie, 2006). ابتدا فولین سیوکالتیو به نسبت ۱:۱۰ رقیق شد، سپس ۲۰ گرم کربنات سدیم در آب مقطر حل و به حجم ۱۰۰ رسانده شد. در ادامه ۴۰ میکرولیتر از عصاره با ۳۱۶۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو رقیق شد و با ۶۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم مخلوط گردید. این محلول ۴ میلی لیتری را ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و مقدار جذب آن در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. اسید گالیک جهت رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره برحسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

برای اندازه گیری فلاونوئید از روش کلرید آلومینیوم استفاده شد (Chang et al., 2002). ابتدا ۱۰ گرم کلرید آلومینیوم را در محلول آب و اتانول به حجم ۱۰۰ و سپس ۲/۴۱ گرم استات پتاسیم در آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر

۱۱۵۰، ۱۳۰۰، ۱۴۵۰ و بهرستاق با چهار ارتفاع ۱۲۰۰، ۱۳۵۰، ۱۵۰۰، ۱۶۵۰ (شکل ۱ و جدول ۱) در سه تکرار جمع آوری شد و با نگهداری روی یخ به آزمایشگاه و یخچال ۴ درجه سانتی گراد منتقل گردید. در ادامه از هر تکرار دو نمونه شستشو و آماده سازی شد و از ترکیبات فیزیولوژیکی گیاه مطابق روش های زیر اندازه گیری صورت گرفت. سپس نتایج داده ها براساس تجزیه مرکب (آشپانه ای) در قالب طرح کاملاً تصادفی و با کمک نرم افزارهای SPSS نسخه ۱۶ آنالیز و مقایسه میانگین ها از طریق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد و نمودارها هم از طریق Excel نسخه ۲۰۱۳ رسم گردید.

سنجش رنگی زه های فتوسنتزی: استخراج و اندازه گیری

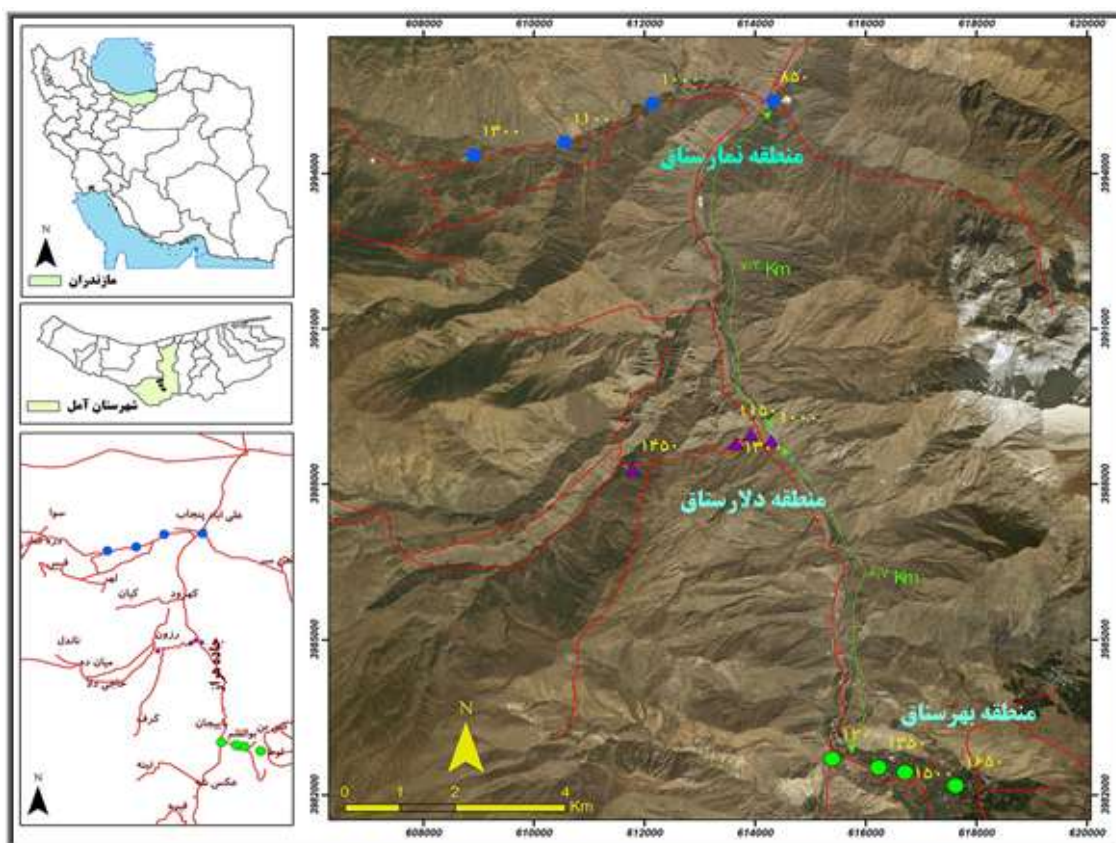
رنگی زه های فتوسنتزی با روش Arnon (۱۹۴۹) انجام گرفت. نمونه ها در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۹۰ نانومتر خوانده و از استن ۸۰ درصد به عنوان شاهد (بلانک) استفاده شد و مقدار کلروفیل و کاروتنوئید نیز برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر بیان گردید. مقدار کلروفیل a ، کلروفیل b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید از معادلات زیر به دست آمد.

$$\begin{aligned}\text{Chl.}a \text{ (mg/g FW)} &= 12.7(A663) - 2.69(A645) \\ \text{Chl.}b \text{ (mg/g FW)} &= 22.9(A645) - 4.68(A663) \\ \text{Total Chl (mg/g FW)} &= 20.2(A645) + 8.02(A663) \\ \text{Car (mg/g FW)} &= [(A490) - (A663)(0.114) - (0.638)(A645)]\end{aligned}$$

سنجش آنتوسیانین کل و ویتامین ث: برای سنجش مقدار

آنتوسیانین نمونه ها از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. بدین منظور یک گرم از نمونه گیاهی را با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۹۹ به ۱) در هاون چینی کاملاً سائیده و عصاره ای حاصل در لوله های آزمایش سرپیچ دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در یخچال قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از معادله زیر به دست آمد.

$$A = \varepsilon bc$$



شکل ۱- مناطق نمونه برداری شده

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه

منطقه	ارتفاع (متر)	جهت	شیب (درصد)	عرض	طول
نمارستان	۸۵۰	شمال غربی	۱۰	۳۶° ۰۵' ۴۸"	۵۲° ۱۶' ۱۲"
	۱۰۰۰	شمال	۱۷/۰۳	۳۶° ۰۵' ۴۷"	۵۲° ۱۴' ۴۵"
	۱۱۵۰	شمال	۱۵/۸	۳۶° ۰۵' ۲۳"	۵۲° ۱۳' ۴۱"
	۱۳۰۰	شمال شرقی	۲۲/۸	۳۶° ۰۵' ۱۶"	۵۲° ۱۲' ۳۵"
دلارستان	۱۰۰۰	شمال شرقی	۱۴/۴۲	۳۶° ۰۲' ۱۵"	۵۲° ۱۶' ۰۷"
	۱۱۵۰	شرق	۵۰/۶۰	۳۶° ۰۲' ۱۹"	۵۲° ۱۵' ۵۲"
	۱۳۰۰	شمال شرقی	۳۷/۴۴	۳۶° ۰۲' ۱۳"	۵۲° ۱۵' ۴۱"
	۱۴۵۰	شمال شرقی	۶۰/۲۲	۳۶° ۰۲' ۰۵"	۵۲° ۱۵' ۳۵"
بهرستان	۱۲۰۰	شمال غربی	۲۶/۹۱	۳۵° ۵۸' ۵۶"	۵۲° ۱۷' ۰۵"
	۱۳۵۰	شمال	۲۷/۲۰	۳۵° ۵۸' ۴۹"	۵۲° ۱۷' ۲۱"
	۱۵۰۰	شمال غربی	۱۸/۴۴	۳۵° ۵۸' ۴۶"	۵۲° ۱۷' ۴۰"
	۱۶۵۰	غرب	۲۹/۰۲	۳۵° ۵۸' ۳۷"	۵۲° ۱۸' ۱۷"

رسانده شد. در ادامه ۰/۵ گرم نمونه گیاهی با ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم و ۴/۳ میلی‌لیتر

برده که در شرایط سردتر عامل حفاظتی در مقابل تنش سرمایی است تا گیاه قابلیت جبران خسارت ناشی از کاهش فتوسنتز را تا اندازه‌ای کسب نماید (Cirak et al., 2017; Spearing and Karlander, 1979). در مشاهدات نوروژی و همکاران (۱۳۹۶) و نجار فیروزجایی و همکاران (۱۳۹۳) هم که به ترتیب با بررسی ارتفاع بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان پونه و گزنه انجام شد، نتایج مشابهی ثبت گردید و گزارش کردند که ارتفاع بر این صفات تأثیر مثبت و معنی‌دار دارد.

صفات آنتی‌اکسیدانی (ویتامین ث، آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید): براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) ویتامین ث که از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی مهم گیاهان دارویی است، تحت تأثیر منطقه و ارتفاع، معنی‌دار شد و با افزایش ارتفاع روند افزایشی را نشان می‌دهد به‌طوری‌که کمترین مقدار آن از ۳/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ارتفاع ۸۵۰ منطقه نمارستاق تا بیشترین مقدار اندازه‌گیری شده آن ۱۵/۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ارتفاع ۱۶۵۰ منطقه بهرستاق متغیر بود (جدول ۳). ویتامین ث به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و از سلول‌های عصبی در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. Kumar و همکاران (۲۰۱۹) با مطالعه بر روی سه رقم سیب در دو ارتفاع ۱۴۰۰ و ۱۸۰۰ متری گزارش کردند که بیشترین مقدار ویتامین ث در ارتفاع ۱۸۰۰ متری مشاهده شده است و با بررسی منابع اظهار داشتند اسید آسکوربیک با شدت نور بالاتر و افزایش فتوسنتز در طی زمان از قندها ساخته شده و در گیاه تجمع می‌یابد که این نشان می‌دهد غلظت بالای اسید آسکوربیک در میوه‌های سیب برداشت‌شده در ارتفاع بالاتر (۱۸۰۰ متر) که از شدت نور بیشتری برخوردار بودند در مقایسه با میوه‌های برداشت‌شده در ارتفاعات پایین‌تر و با شدت نور دریافتی کمتر (۱۴۰۰ متر) ارتباط مستقیم داشت. همچنین عنوان کردند میانگین دمای پایین‌تر در ارتفاعات بالا یکی دیگر از عوامل تجمع ویتامین ث در گیاه و میوه آن است. آنتوسیانین، فنول و فلاونوئیدها هم تحت تأثیر منطقه و ارتفاع معنی‌دار شدند (جدول ۲) که بیشترین مقدار آنتوسیانین با ۲/۰۵ میکرومول بر گرم وزن تر در

آب‌مقطر مخلوط گردید. محلول به‌دست‌آمده را ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته و مقدار جذب آن در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز به روش DPPH برآورد گردید (Ebrahimzadeh et al., 2010). نخست ۰/۲۵ گرم از بافت گیاه با آب و متانول به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. همچنین ۴ میلی‌گرم از DPPH را وزن نموده و در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول حل گردید. سپس دو میلی‌لیتر از هر کدام برداشته و محلول ۴ میلی‌لیتری ترکیب‌شده را در دمای اتاق و در تاریکی ۱۵-۳۰ دقیقه قرار داده و با اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) اختلاف معنی‌داری را هم در اثرات ساده و هم در اثرات متقابل منطقه و ارتفاع در تمامی صفات مورد بررسی نشان داد. بنابراین تأثیر منطقه و ارتفاع از سطح دریا در صفات مورد بررسی مثبت و متفاوت بود.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: اطلاعات به‌دست‌آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) به‌وضوح نشان می‌دهد که رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) تحت تأثیر منطقه و ارتفاع معنی‌دار شدند. براساس میانگین‌های به‌دست‌آمده از تیمارهای مختلف اقلیمی، روند افزایشی رنگیزه‌های فتوسنتزی با افزایش ارتفاع کاملاً مشهود است یعنی بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل مجموع و کاروتنوئید به ترتیب با ۶/۷۵، ۱۰/۵۶، ۱۷/۳۱ و ۳/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ارتفاع ۱۶۵۰ متر از منطقه بهرستاق به‌دست آمد، درحالی‌که کمترین میزان به ترتیب با ۲/۹۹، ۳/۶۳، ۶/۶۲ و ۲/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ارتفاع ۸۵۰ متر از منطقه نمارستاق مشاهده شد (جدول ۳). عامل ارتفاع یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهان است. با افزایش ارتفاع میزان تشعشع و کیفیت نور خورشید و اختلاف دمای شب و روز افزایش یافته که در نتیجه با افزایش میزان فتوسنتز و کاهش شدت تنفس در شب همراه خواهد شد و همچنین افزایش فتوسنتز میزان ذخیره کربوهیدرات را بالا

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی گیاه علف مار

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	ویتامین ث	ظرفیت آنتی اکسیدانسی (%)	فنول (mg/g)	فلاونوئید (μm/g)
منطقه (A)	۲	۴/۵۹**	۱۲/۷۵**	۳۲/۵۶**	۰/۶۴**	۲/۱۸**	۲۸/۶۵**	۱۳۸/۲۲**	۱۱/۱۳**	۰/۵۸**
خطای a	۶	۰/۲۸	۰/۲۴	۰/۵۲	۰/۰۴۱	۰/۰۲۷	۰/۴۵	۲/۲۳	۰/۲۶	۰/۰۰۶
ارتفاع (B)	۳	۸/۹۱**	۱۸/۳۸**	۵۲/۷۸**	۰/۸۸**	۰/۷۶**	۹۹/۷۳**	۲۲۶/۵۲**	۲۴/۱۲**	۱/۳۴**
A × B	۶	۰/۹۴*	۱/۸۰**	۲/۲۹*	۰/۰۹۴*	۰/۰۹**	۳/۳۶**	۱۴/۳*	۱/۵۹**	۰/۰۵۸*
خطای b	۱۸	۰/۳۱	۰/۳۰	۰/۷۴	۰/۰۳۲	۰/۰۱۸	۰/۶۰	۵/۳۰	۰/۱۱	۰/۰۱۸
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۸۰	۷/۴۸	۶/۸۶	۵/۹۶	۱۲/۶۸	۹/۶۲	۳/۱۰	۱/۴۶	۳/۶۲

* تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، ns عدم معنی داری

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل منطقه و ارتفاع برای صفات بیوشیمیایی گیاه علف مار

تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین
منطقه	ارتفاع (متر)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(μm/g)
نمارستاق	۸۵۰	۲/۹۹±۰/۳۶ ^f	۳/۶۳±۰/۲۲ ^f	۶/۶۲±۰/۲۷ ^h	۰/۵۸±۰/۰۲ ^g
	۱۰۰۰	۴/۵۹±۰/۱۵ ^{de}	۶/۳۱±۰/۲۱ ^{de}	۱۰/۹۰±۰/۲۹ ^{fg}	۰/۶۴±۰/۰۷ ^{efg}
	۱۱۵۰	۵/۰۴±۰/۱۰ ^{cd}	۷/۶۴±۰/۰۵ ^c	۱۲/۶۸±۰/۱۵ ^{de}	۰/۷۳±۰/۰۵ ^{efg}
	۱۳۰۰	۵/۸۱±۰/۳۷ ^{abc}	۷/۸۱±۰/۰۴ ^{bc}	۱۳/۶۲±۰/۰۴ ^{bcd}	۰/۸۹±۰/۰۸ ^{de}
دلارستاق	۱۰۰۰	۳/۹۹±۰/۱۰ ^e	۵/۸۱±۰/۴۷ ^e	۹/۸۰±۰/۴۷ ^g	۰/۶۱±۰/۰۶ ^{fg}
	۱۱۵۰	۴/۸۰±۰/۰۵ ^{cde}	۷/۰۵±۰/۴۸ ^{cd}	۱۱/۸۵±۰/۴۴ ^{ef}	۰/۸۰±۰/۰۹ ^{defg}
	۱۳۰۰	۵/۳۴±۰/۰۴ ^{bcd}	۷/۷۷±۰/۰۳ ^{bc}	۱۳/۱۱±۰/۰۷ ^{cde}	۰/۸۶±۰/۰۴ ^{def}
	۱۴۵۰	۶/۱۴±۰/۰۴ ^{ab}	۸/۶۸±۰/۵۶ ^b	۱۴/۸۲±۰/۸۸ ^b	۱/۳۳±۰/۱۳ ^c
بهرستاق	۱۲۰۰	۴/۶۷±۰/۲۳ ^{de}	۷/۳۸±۰/۲۶ ^c	۱۲/۰۴±۰/۱۹ ^{ef}	۰/۹۹±۰/۰۱ ^d
	۱۳۵۰	۵/۶۰±۰/۰۴ ^{bcd}	۷/۷۲±۰/۱۱ ^{bc}	۱۳/۳۲±۰/۲۶ ^{cde}	۱/۳۹±۰/۱۵ ^c
	۱۵۰۰	۶/۳۲±۰/۰۴ ^{ab}	۷/۹۷±۰/۰۱ ^{bc}	۱۴/۲۹±۰/۳۵ ^{bc}	۱/۶۶±۰/۰۱ ^b
	۱۶۵۰	۶/۷۵±۰/۰۴ ^a	۱۰/۵۶±۰/۰۴۵ ^a	۱۷/۳۱±۰/۹۹ ^a	۲/۰۵±۰/۱۱ ^a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم اختلاف معنی داری ندارند.

ارتفاع ۱۶۵۰ متر منطقه بهرستاق و کمترین مقدار آن با ۰/۵۸ میکرومول بر وزن تر در ارتفاع ۸۵۰ متر منطقه نمارستاق به دست آمده است، یعنی فاصله بین بیشترین و کمترین مقدار آنتوسیانین تقریباً چهار برابر بود (جدول ۳). بسیاری از عصاره‌های گیاهی سرشار از ترکیبات مختلف فنولیک هستند که در مجموع به آن‌ها پلی فنول گفته می‌شود. پلی فنول‌ها شامل چندین گروه از ترکیبات مانند اسیدهای فنولیک،

آنتوسیانین‌های رنگارنگ و فلاونوئیدهای ساده و پیچیده هستند (Lotfi et al., 2019). آنتوسیانیدین‌ها، فلاونوئیدهایی هستند که از نظر ساختمانی با فلاون‌ها در ارتباط هستند. فرم گلیکوزیددار آنها، آنتوسیانین نامیده می‌شود. آنتوسیانین‌ها و آنتوسیانیدین‌ها در همه بافت‌های گیاهی شامل برگ‌ها، ساقه‌ها، ریشه، گل‌ها و میوه‌ها یافت می‌شوند. رنگ و پایداری این رنگدانه‌ها تحت تأثیر pH، نور، دما و ساختار است. طبق

ادامه جدول ۳-

منطقه	ارتفاع (متر)	ویتامین ث (mg/g)	آنتی اکسیدان (%)	فنول (mg/g)	فلاونوئید (μm/g)
نمارستاق	۸۵۰	۳/۷۱±۰/۲۸ ^g	۶۲/۹۶±۳/۴۸ ^g	۱۸/۷۶±۰/۳۰ ^f	۳/۰۵±۰/۰۲ ^h
	۱۰۰۰	۵/۱۹±۰/۰۵ ^{ef}	۷۰/۷۷±۰/۳۳ ^{ef}	۲۱/۵۰±۰/۱۵ ^d	۳/۲۷±۰/۰۶ ^{fg}
	۱۱۵۰	۷/۱۶±۰/۲۵ ^d	۷۳/۳۰±۰/۲۳ ^{cde}	۲۲/۸۷±۰/۰۵ ^e	۳/۷۴±۰/۰۲ ^{de}
	۱۳۰۰	۱۰/۱۵±۰/۱۸ ^{bc}	۷۶/۶۳±۰/۸۶ ^{bcd}	۲۴/۱۵±۰/۰۲ ^{ab}	۳/۹۸±۰/۰۱ ^{bc}
دلارستاق	۱۰۰۰	۴/۲۱±۰/۳۳ ^{fg}	۶۷/۲۰±۰/۵۶ ^f	۲۰/۴۰±۰/۰۵ ^e	۳/۴۴±۰/۰۳ ^{fg}
	۱۱۵۰	۷/۱۵±۰/۸۶ ^d	۷۳/۱۶±۰/۶۵ ^{cde}	۲۲/۲۹±۰/۱۰ ^c	۳/۵۴±۰/۰۱ ^{ef}
	۱۳۰۰	۹/۳۶±۰/۳۳ ^c	۷۷/۰۷±۰/۵۳ ^{bc}	۲۳/۵۸±۰/۲۸ ^b	۳/۸۲±۰/۰۹ ^{cd}
	۱۴۵۰	۱۱/۲۳±۰/۴۵ ^b	۷۹/۹۲±۰/۸۶ ^{ab}	۲۴/۳۸±۰/۰۴ ^a	۳/۱۷±۰/۰۱ ^b
بهرستاق	۱۲۰۰	۵/۵۵±۰/۳۵ ^e	۷۳/۰۰±۰/۵۶ ^{de}	۲۲/۶۴±۰/۲۰ ^c	۳/۵۷±۰/۰۴ ^{ef}
	۱۳۵۰	۷/۷۷±۰/۵۸ ^d	۷۶/۶۶±۰/۶۶ ^{bcd}	۲۳/۵۲±۰/۲۱ ^b	۳/۷۰±۰/۰۹ ^{de}
	۱۵۰۰	۹/۶۳±۰/۴۲ ^c	۷۹/۳۷±۰/۴۵ ^{ab}	۲۴/۱۴±۰/۰۷ ^{ab}	۴/۰۳±۰/۰۱ ^{bc}
	۱۶۵۰	۱۵/۶۰±۰/۵۵ ^a	۸۱/۷۸±۰/۳۰ ^a	۲۴/۶۶±۰/۲۰ ^a	۴/۵۱±۰/۱۷ ^a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

مطالعات علمی اثرات سلامتی آنتوسیانیدین‌ها و آنتوسیانین‌ها، ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی آنها است (Landi et al., 2015; Khoo et al., 2017). اختلاف ارتفاع بین مکان‌ها (از ۸۵۰ تا ۱۶۵۰ متر از سطح دریا) در القای کیفیت مختلف نور و میزان درجه حرارت مؤثر بوده و سبب تراکم آنتوسیانین در اندام‌های گیاه شده است که نوعی مقاومت در مقابل تنش‌های سرمایی است به‌طوری‌که Khayyat و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی نمونه‌های زرشک حاصل از ارتفاعات مختلف بیان کردند که برای افزایش رنگ میوه زرشک به آفتاب مستقیم نیاز است، با این حال درجه حرارت پایین به‌خصوص شب‌های خنک برای رشد رنگ و تجمع آنتوسیانین میوه زرشک مهم است. همچنین در بررسی‌های Khoo و همکاران (۲۰۱۷) اشاره شده است که با افزایش ارتفاع میزان اشعه UV-B افزایش یافته که سبب بیان بیش از حد ژن‌های اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه می‌شوند تا محتویات آنتوسیانین برای جبران اثرات زیان‌بار اشعه ماوراءبنفش تجمع بیشتری داشته باشد. فنول و فلاونوئیدها هم از جمله ترکیبات موجود در گیاه

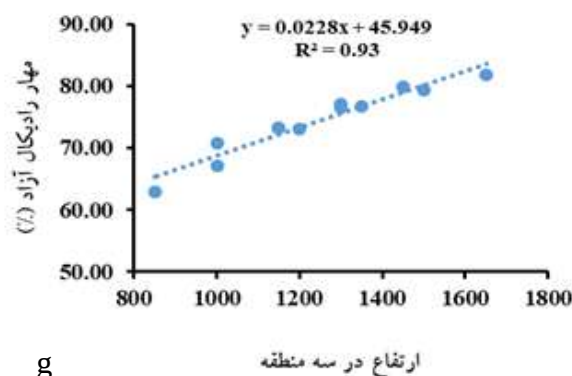
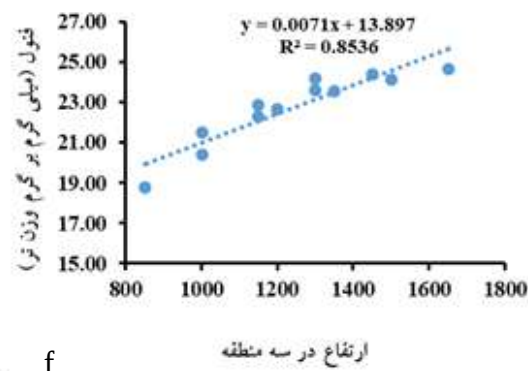
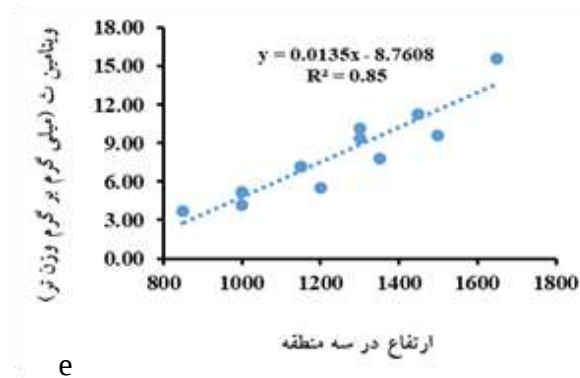
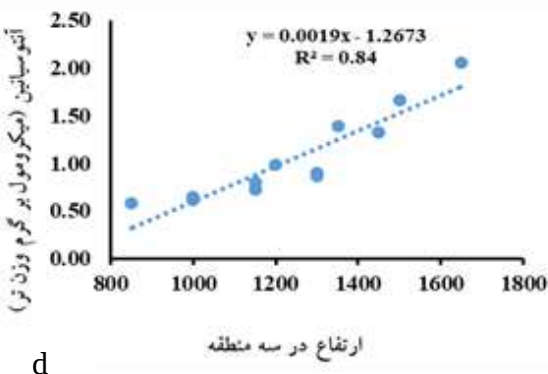
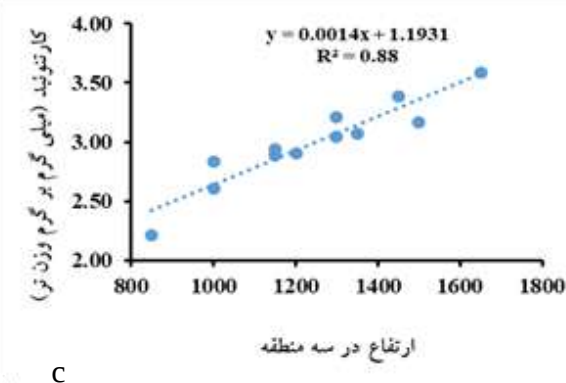
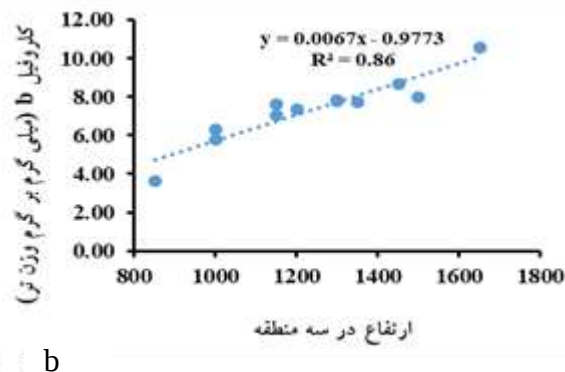
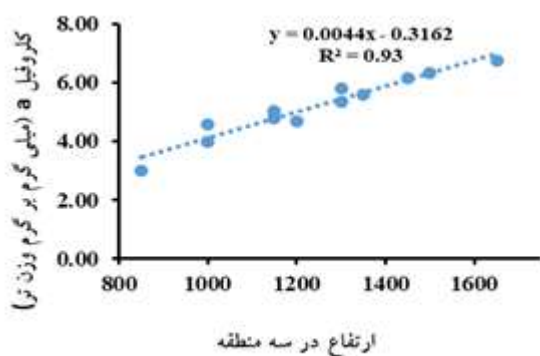
علف مار هستند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اصلی، خواص دارویی مهم این گیاه را شامل می‌شوند. در گیاهان دارویی دو گروه اصلی از متابولیت‌های ثانویه، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند که تقریباً در همه اندام‌های این گیاهان یافت می‌شوند و فقط کمیت و کیفیت آن‌ها در اندام‌های مختلف متفاوت است (صابری و همکاران، ۱۳۹۶). مطابق جدول ۳ کمترین مقدار این صفات فیتوشیمیایی (از ۱۸/۷۶ و ۳/۰۵ میلی‌گرم و میکرومول بر گرم وزن تر) در ارتفاع ۸۵۰ متر منطقه نمارستاق تا بیشترین مقدار آن‌ها (۲۴/۶۶ و ۴/۵۱ میلی‌گرم و میکرومول بر گرم وزن تر) در ارتفاع ۱۶۵۰ متر منطقه بهرستاق متغیر بوده است ضمن اینکه فنول در بین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، این گروه از ترکیبات در برخی از گیاهان دارویی نظیر علف مار وجود دارند و دارای قدرت احیاکنندگی بالا هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به فرم خنثی تبدیل کنند (قربان‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). بررسی‌های تجلی و خزاعی‌پور (۱۳۸۱) نیز حاکی از آن است که فنول و فلاونوئیدهای گیاه

زالزالک (*Crataegus microphylla*) در ارتفاعات بالاتر بیشتر از ارتفاعات پایین تر افزایش داشت به طوری که این افزایش در ارتفاع ۱۰۰۰ متری بیشتر از ارتفاعات پایین تر مشاهده شد.

ظرفیت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال آزاد: ظرفیت آنتی اکسیدانی یکی دیگر از صفات بیوشیمیایی مهم در گیاهان دارویی است که نشان دهنده قابلیت عصاره گیاه در برابر مهار رادیکال های آزاد می باشد، طبق اطلاعات به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) این صفت هم معنی دار شد و با افزایش ارتفاع مقدار آن نیز افزایش یافت، یعنی بیشترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی با ۸۱/۷۸ درصد مهار رادیکال آزاد در ارتفاع ۱۶۵۰ متر منطقه بهرستاق و کمترین مقدار آن ۶۲/۹۶ درصد مهار رادیکال آزاد در ارتفاع ۸۵۰ متر منطقه نامرستاق مشاهده شده است (جدول ۳). همچنین براساس شکل ۲ میزان تغییرات رنگیزه های فتوستزی، پارامترهای آنتی اکسیدانی و ظرفیت آنتی اکسیدانی در ارتفاع های مختلف مناطق سه گانه براساس معادله خطوط و شیب خط رسم شده مشخص گردید (کلروفیل a: $r^2 = 0.93$ ، کلروفیل b: $r^2 = 0.86$ ، کاروتنوئید: $r^2 = 0.88$ ، آنتوسیانین: $r^2 = 0.84$ ، ویتامین ث: $r^2 = 0.85$ ، فنول: $r^2 = 0.85$ ، فلاونوئید: $r^2 = 0.91$ ، ظرفیت آنتی اکسیدانی: $r^2 = 0.93$)، که میزان آن ها با افزایش ارتفاع از سطح دریا روند صعودی داشت و شیب خط رگرسیون برای تمامی صفات مثبت و تأییدکننده این رابطه بود. بیشترین مقدار رابطه رگرسیونی هم در کلروفیل a و ظرفیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد. با بررسی گیاه گزنه در ارتفاعات مختلف، نجار فیروزجائی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش نمودند شیب رگرسیون ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در ارتفاعات پایین تر از ۱۰۰۰ متر بسیار کمتر از ارتفاعات بالاتر بود به طوری که در ارتفاعات بالاتر شیب خط رگرسیون افزایش بیشتری نشان داد.

تولید ترکیبات فیزیولوژیکی در گیاهان با استرس های محیطی افزایش می یابد. به همین دلیل گیاهان خودرو و کشت شده در ارتفاعات کوهستانی در مقایسه با گیاهان مناطق پست به دلیل شرایط خشکی، میزان نور و اشعه فرابنفش تحت استرس های شدید قرار گرفته و ترکیبات فیزیولوژیکی در آن ها

افزایش می یابد (کاغذلو و همکاران، ۱۳۹۶). به طور کلی ترکیبات دارویی گیاهان در ارتفاعات بالاتر در مقایسه با ارتفاعات پایین بیشتر است و دارای حداکثر پتانسیل آنتی اکسیدانی است. تفاوت در سطح ترکیبات می تواند به توانایی گیاهان در مقابله با استرس غیرزنده از درجه حرارت پایین تر و اشعه ماوراءبنفش بالاتر باشد (Cirak et al., 2017). همان طور که عنوان شد عوامل مختلفی بر روی عصاره گیاهان دارویی اثر می گذارد. گیاه در مقابل ارتفاع های مختلف واکنش های مختلفی را از خود نشان می دهد. یکی از آن ها افزایش تولید رادیکال آزاد است. گیاه اختلاف ارتفاع را به عنوان تنش محاسبه می کند و برای مقابله با آن مکانیسم دفاعی خود را فعال می کند و در نتیجه میزان رادیکال آزاد افزایش می یابد. تولید رادیکال آزاد هم نوعی واکنش منفی تلقی می شود و هم واکنش مثبت. رادیکال های آزاد ترکیبات بیولوژیکی هستند که حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده اند و برای جبران کمبود الکترون باعث تخریب DNA، پروتئین ها و غیره می شوند. چون در اوربیتال آخر رادیکال آزاد یک الکترون کم دارد و برای جبران الکترون خود به پروتئین ها و ... می چسبد و آن ها را تخریب می کند بنابراین نقش منفی دارند (Alkadi, 2020)، از طرفی وقتی گیاه تحت تأثیر تنش قرار می گیرد بعضی از قسمت ها نباید فعال شوند بنابراین بعضی از پروتئین ها که در مسیر فعال می شوند باید از کار بیافتند که رادیکال آزاد این کار را انجام می دهد بنابراین نقش مثبت خواهند داشت همچنین گیاه برای جلوگیری از آسیب پروتئین های خودش از دو طریق آنزیمی و غیر آنزیمی فعالیت هایی را تنظیم می کند تا رادیکال های آزاد را مهار کند. روش غیر آنزیمی با تولید آنتی اکسیدان هایی مثل فنول ها و فلاونوئیدها کمبود الکترون رادیکال های آزاد را جبران می کنند و باعث مهار می گردد که با DPPH یا درصد مهار رادیکال آزاد سنجیده و به عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی شناخته می شود. فنول و فلاونوئیدها چون منشأ مشترک دارند و افزایش هر کدام از آن ها باعث افزایش دیگری می شود و در اکثر موارد افزایش فنول ها و فلاونوئیدها باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی



شکل ۲- رگرسیون مثبت بین ارتفاع و رنگیزه‌های فتوسنتزی (a, b, c)، رگرسیون مثبت بین ارتفاع و آنتوسیانین (d) رگرسیون مثبت بین ارتفاع و ویتامین ث (e) رگرسیون مثبت بین ارتفاع و فنول (f) رگرسیون مثبت بین ارتفاع و فلاونوئید (g) رگرسیون مثبت بین ارتفاع و آنتی‌اکسیدان (h) در گیاه دارویی علف مار

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده پیرسون صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در گیاه علف مار

کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	ویتامین ث	آنتی‌اکسیدان	فنول	فلاونوئید
۱								
کلروفیل b	۰/۹۴۱**	۱						
کلروفیل کل	۰/۹۷۸**	۰/۹۹۱**	۱					
کاروتنوئید	۰/۹۴۰**	۰/۹۵۳**	۰/۹۶۲**	۱				
آنتوسیانین	۰/۸۲۹**	۰/۷۹۱**	۰/۸۱۷**	۰/۷۸۷**	۱			
ویتامین ث	۰/۹۰۹**	۰/۹۰۳**	۰/۹۱۸**	۰/۹۰۴**	۰/۸۲۰**	۱		
آنتی‌اکسیدان	۰/۹۸۵**	۰/۹۴۷**	۰/۹۷۶**	۰/۹۳۴**	۰/۸۰۳**	۰/۸۹۸**	۱	
فنول	۰/۹۶۸**	۰/۹۳۵**	۰/۹۶۱**	۰/۹۲۱**	۰/۷۱۹**	۰/۸۵۰**	۰/۹۸۳**	۱
فلاونوئید	۰/۹۴۲**	۰/۹۳۹**	۰/۹۵۴**	۰/۹۶۵**	۰/۸۲۱**	۰/۹۵۹**	۰/۹۲۷**	۰/۹۰۳**

** تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

می‌شود بجز در موارد محدودی مثل گل پامچال و مهر سلیمان که با افزایش ارتفاع و کاهش دمای هوا بعضی از آنزیم‌های مؤثر در تولید فنول و فلاونوئیدها غیرفعال می‌شوند و میزان آن‌ها کاهش می‌یابد. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌طور قابل توجهی اکسیدشدن سوبستراها را به تأخیر می‌اندازند یا از آن جلوگیری می‌کنند. در حقیقت، رادیکال‌های آزاد محصول جانبی متابولیسم ارگانل‌ها هستند و اثرات مخرب آنها از طریق سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی خنثی می‌شوند (Alkadi, 2020; Caunii et al., 2015). نتایج این بخش از تحقیق با نتایج تحقیقات برخی از محققین که اثر ارتفاع را بر میزان ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی گیاهانی نظیر درمنه (آریانفر و همکاران، ۱۳۹۷)، پونه (نوروزی و همکاران، ۱۳۹۶)، گزنه (نجار فیروزجایی و همکاران، ۱۳۹۳)، نسترن (سعیدی و همکاران، ۱۳۹۳)، گل‌گاوزبان ایرانی (باباخانزاده سیرجانی و همکاران، ۱۳۹۲)، گردو (Ghasemi et al., 2011)، بادرنجبویه (عسگری و سفیدکن، ۱۳۸۳) و ... بررسی کردند مطابقت دارد. آنها بیان کردند که تحت شرایط جغرافیایی مرتفع‌تر، کاهش دمای هوا و رطوبت نسبی و همچنین افزایش کیفیت نور مهم‌ترین دلایلی هستند که موجب تحریک مکانیسم سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنولی خواهد شد، اگرچه محققین دیگر با مطالعه در مورد مهر سلیمان (Suyal et al., 2019)، پیرو (قربانزاده و

همکاران، ۱۳۹۸)، آقطی (کاغذلو و همکاران، ۱۳۹۶)، هندوانه ابوجهل (صابری و همکاران، ۱۳۹۶) و بقیه موارد نتایج متفاوتی گزارش کردند و همبستگی ارتفاع از سطح دریا با ترکیبات فنولی را منفی ارزیابی کردند.

نتایج حاصل از تجزیه ضرایب همبستگی ساده پیرسون بین صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده در گیاه علف مار (جدول ۴) نشان داد بین کلروفیل a و کلروفیل کل و همچنین بین کلروفیل b و کلروفیل کل همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد ($r = 0.978$ و $r = 0.991$). از آنجا که مجموع کلروفیل a و b میزان کلروفیل کل را تعیین می‌نمایند بدیهی است که افزایش هر یک از این ترکیبات موجب افزایش کلروفیل کل گردد. همچنین بین میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید نیز که هر دو جز رنگدانه‌های فتوسنتزی هستند، همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد ($r = 0.962$). ترکیبات بسیاری در گیاهان دارویی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را تشکیل می‌دهند و تجزیه ضرایب همبستگی (جدول ۴) به وضوح نشان می‌دهد پارامترهای آنتی‌اکسیدانی (ویتامین ث، آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید) که از اجزای بسیار مهم ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان دارویی را شامل می‌شوند با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه علف مار همبستگی بالایی دارند ($r = 0.803$ ، $r = 0.898$ و $r = 0.927$) که نشان‌دهنده ارزش دارویی ویژه این گیاه

است. فعالیت آنتی اکسیدانی هم در گیاه به مقابله با فعالیت رادیکال‌های آزاد تولیدشده از عوامل محیطی می‌پردازد و هم بدن انسان را از رادیکال‌های آزاد حفظ خواهد نمود. همبستگی مثبت و معنی‌دار آنتوسیانین و فلاونوئید در کل جمعیت گاوزبان ایرانی بنگین با ارتفاع ۱۳۰۰ متر در مطالعه باباخانزاده سیرجانی و همکاران (۱۳۹۲) بیان شد. همچنین ارتباط بین میزان ترکیبات فلاونوئیدی، فنول و فعالیت آنتی اکسیدانی در مطالعات ۲۸ فراورده گیاهی شامل دانه‌های روغنی، دانه‌های غلات و گیاهان دارویی گزارش گردیده است (کاغذلو و همکاران، ۱۳۹۶).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات فیزیولوژیکی گیاه دارویی علف مار کاملاً تحت تأثیر عامل ارتفاع قرار گرفت و کمیت همه صفات به‌صورت مثبت و معنی‌دار افزایش داشت. به‌طوری‌که کلروفیل a، ظرفیت آنتی اکسیدانی و فلاونوئید بیشترین رابطه را با منطقه و ارتفاع نشان دادند (شکل ۲).

منابع

- آریانفر، م.، اکبری نودهی، د.، همتی، خ. و رستم‌پور، م. (۱۳۹۷) تأثیر ارتفاع و جهت در عملکرد اسانس و برخی از خواص فیتوشیمیایی گونه‌های دارویی *Artemisia aucheri* Boiss. و *Artemisia sieberi* در مراتع خراسان جنوبی. نشریه مرتع ۱۲: ۲۹۴-۲۸۱.
- امیدبیگی، ر. (۱۳۸۴) تولید و ساخت گیاهان دارویی. انتشارات به‌نشر. مشهد.
- باباخانزاده سیرجانی، ا.، هادیان، ج.، آبدوستی و. و لاریجانی، ک. (۱۳۹۲) تأثیر رویشگاه‌های مختلف بر محتوای فلاونوئید و آنتوسیانین *Echium amoenum fish and mey* در اشکورت استان گیلان. سومین همایش گیاهان دارویی، آمل، ایران.
- تجلی، ا. و خزاعی‌پور، م. (۱۳۸۱) تأثیر ارتفاع از سطح دریا و اندام بر فلاونوئیدهای زالزالک (*Crataegus microphylla*). مجله بین المللی علوم زیستی ۷: ۵۸-۵۴.
- راشدی، ه.، امیری، ح. و قارزی، ا. (۱۳۹۳) بررسی فیتوشیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی گیاه علف مار استان خوزستان. مجله دانشگاه علوم پزشکی قزوین ۱۸: ۱۷-۱۱.
- رنجبر، س.، ابراهیمی، م. و اکبرزاده، م. (۱۳۹۴) بررسی کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی *Salvia hydrangea* L. در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۳: ۲۴-۱۲.
- سعیدی ک. و امیدبیگی ر. (۱۳۸۸) اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی، کربوهیدرات‌های محلول، کاروتنوئیدها و عناصر معدنی میوه نسترن کوهی (*Rosa canina* L.) در جنوب غربی ایران. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۵: ۲۱۵-۲۰۳.

همچنین تجزیه ضرایب همبستگی بین صفات نیز تأثیرات مثبت و معنی‌دار را نشان داد و بیشترین ضریب همبستگی نیز مربوط به صفات فوق بود که تأییدکننده رابطه مثبت بین این صفات و منطقه و ارتفاع می‌باشد. طبق مطالعات انجام‌شده هم گیاه علف مار که از پراکنش گسترده‌ای برخوردار است دارای پتانسیل غنی از ترکیبات فیزیولوژیکی بوده و در مناطق مرتفع نیز میزان این ترکیبات افزایش چشمگیری دارد. بنابراین با شناسایی رویشگاه‌های مختلف و ارزیابی تأثیر عوامل محیطی بر عملکرد کمی و کیفی ترکیبات فیزیولوژیکی گیاهان دارویی، می‌توان برای اهلی کردن و حفظ تنوع ژنتیکی این گیاهان تلاش نمود و پس از شناسایی شرایط اقلیمی مناسب می‌توان جهت تولید متابولیت‌های خاص گیاه در محیط‌کشت‌های مصنوعی برنامه‌ریزی انجام داد. همچنین می‌توان در مناطق اشاره‌شده کشت گیاهان هم خانواده یا نزدیک به این گیاه را نیز توسعه و رونق داد.

سعیدی، ک.، سفیدکن، ف. و بابائی، ا. (۱۳۹۳) تعیین محتوای کاروتنوئید و لیکوپن میوه نسترن در مناطق ایران. فصلنامه گیاهان دارویی و معطر ۳۰: ۸۴۲-۸۳۹.

سروری، الف.، دیانتی، ق.، رضایی، م. ب. و زادبر، م. (۱۳۹۴) تأثیر برخی فاکتورهای محیطی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه *Stachys lavandifolia* Vahl. در استان خراسان رضوی. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۲: ۷-۱.

صابری، م.، نیک‌نهاد، ح.، حشمتی، غ.، بارانی، ح. و شهریار، ع. (۱۳۹۶) بررسی میزان تغییرات برخی مواد مؤثره عصاره اندام‌های گیاه هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis* L. Schrab) در دو رویشگاه استان سیستان و بلوچستان. نشریه حفاظت زیست بوم گیاهان ۵: ۶۳-۴۹.

کاغذلو، ز.، همتی، خ. و خراسانی‌نژاد، س. (۱۳۹۶) تأثیر ارتفاع بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های مختلف *Sambucus ebulus* L. در سه شهر استان گلستان. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۲: ۱۳-۱.

عسگری، ف. و سفیدکن، ف. (۱۳۸۳) مقایسه اسانس (*Melissa officinalis*) از مناطق مختلف. نشریه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۰: ۲۳۷-۲۲۹.

قربان‌زاده، ا.، قاسم‌نژاد، ع.، خوشحال سرمست، م. و نژاد ابراهیمی، ص. (۱۳۹۸) بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی اسانس و عملکرد آنتی‌اکسیدانی سرشاخه‌های گیاه دارویی *Juniperus communis* L. در رویشگاه‌های مختلف مازندران و گلستان. اکوفیتوشیمیایی گیاهان دارویی ۷: ۳۲-۱۵.

قهرمان، ع. (۱۳۸۸) کروموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران.

محمدنژاد گنجی، م.، مرادی، ح. و قنبری، ع. (۱۳۹۶) کمیت و کیفیت مثنویه گیاه اسطوخودوس تحت تأثیر عامل بوم‌شناختی ارتفاع از سطح دریا. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۱۷۲-۱۶۶.

نبوی، س. ج.، زالی، س. ح.، قربانی، ج. و کاظمی، س. ی. (۱۳۹۶) بررسی اثر برخی از عوامل اکولوژیک بر مواد مؤثره (عصاره) سرشاخه‌های گیاه پیرو (*Juniperus communis* L.) در مراتع ییلاقی هزار جریب بهشهر. فرایند و کارکرد گیاهی ۶: ۳۷۲-۳۶۵.

نجارفریوزجایی، م.، همتی، خ.، خراسانی‌نژاد، س.، دارائی گرمه‌خانی، ا. و باقری فرد، ا. (۱۳۹۳) اثر ارتفاع بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی برگ گیاه گزنه *Urtica dioica* L. در استان‌های مازندران و گیلان. اکوفیزیولوژی ایران ۳: ۱۱-۱.

نوروزی، و.، یوسف‌زاده، س.، اسیلان، ک. و منصوری‌فر، س. (۱۳۹۶) ارزیابی تغییر در اسانس، کلروفیل، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدهای *Mentha longifolia* L. Hods فرعی *Longifolia* در رویشگاه‌های مختلف مرند. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۵: ۶۴-۵۲.

- Alkadi, H. A. (2020) Review on free radicals and antioxidants. Infectious Disorders Drug Targets 18: 16-26.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-150.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. G. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.
- Cirak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Seyisd, F. and Yayla, F. (2017) Altitudinal changes in secondary metabolite contents of *Hypercom androsaemum* and *Hypericum polyphyllum*. Biochemical Systematics and Ecology 70: 108-115.
- Caunii, A., Butu, M., Rodino, S., Motoc, M., Negrea, A., Samfira, I. and Butnariu, M. (2015) Isolation and separation of inulin from *Phalaris arundinacea* roots. Revista de Chimie 66: 472-476.
- Davis, F. S. and Albrigo, L. G. (1994) Citrus. CAB. International Press, Wallington, UK.
- Demasi, S., Caser, M., Lonati, M., Cioni, P. L., Pistelli, L., Najjar, B. and Scariot, V. (2018) Latitude and altitude influence secondary metabolite production in peripheral alpine populations of the mediterranean species *Lavandula angustifolia* Mill. Frontiers in Plant Science 9: 1-11.
- Dixon, R. A. (2001) Natural products and plant disease resistance. Nature 411: 843-847.

- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M. and Eslami, B. (2010) Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. Central European Journal of Biology 5: 338-345.
- Ghasemi, Y., Ghasemnezhad, A., Atashi, A., Mashayekhi, K. and Ghorbani, M. (2011) Variations in antioxidant capacity of nectarine fruits (*Prunus persica* cv. red-gold) affected by harvest date. International Journal of Plant Production 5: 311-318.
- Khayyat, M., Barati, Z., Aminifard, M. H. and Samadzadeh, A. (2020) Anthocyanin accumulation and color development in seedless barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruits: The role of altitude and sun light - the preliminary results. International Journal of Fruit Science 1-14.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T. and Lim, S. M. (2017) Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. Food and Nutrition Research 61: 1-21.
- Kumar, P., Sethi, S., Sharma, R. R., Singh, S., Saha, S., Sharma, V. K., Sharma, S. K. and Varghese, E. (2019) Influence of altitudinal variation on the physical and biochemical characteristics of apple (*Malus domestica*). Indian Journal of Agricultural Sciences 89: 145-52.
- Labarrere, B., Prinzing, A., Dorey, T., Chesneau, E. and Hennion, F. (2019) Variations of secondary metabolites among natural populations of sub-antarctic *Ranunculus* species suggest functional redundancy and versatility. Plants 8: 1-23.
- Landi, M., Tattini, M. and Gould, K. S. (2015) Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. Environmental and Experimental Botany 1-14.
- Lotfi, S., Kordsardouei, H. and Oloumi, H. (2019) Study of total phenolic content and antioxidant capacity of the ethanolic extracts of two medicinal plants, *Hibiscus sabdariffa* L. and *Amaranthus caudatus* L. Banat's Journal of Biotechnology 19: 66-74.
- Moghaddasian, B., Eradatmand Asli, D., Alaghemand, A. and Torabi, A. (2014) Variation of rutin content in different parts of *Capparis spinosa* during their phenological cycles. International Journal of Biosciences 4: 147-153.
- Moghaddasian, B., Eradatmand Asli, D., Alaghemand, A. and Torabi, A. (2013) Simultaneous determination of rutin and quercetin in different parts of *Capparis spinosa*. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 2: 35-38.
- Ramezani, Z., Aghel, N. and Keyghobadi, H. (2008) Rutin from different parts of *Capparis spinosa* growing wild in Khuzestan/Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 11: 768-772.
- Suyal, R., Rawat, S., Rawal, R. S. and Bhatt, I. D. (2019) Variability in morphology, phytochemicals, and antioxidants in *Polygonatum verticillatum* (L.) All. populations under different altitudes and habitat conditions in Western Himalaya, India. Environmental Monitoring and Assessment 191: 783-801.
- Spearing, A. M. and Karlander, E. P. (1979) Effects of light and low temperatures on chlorophyll content and metabolism of *Chlorella sorokiniana* Shakira and Krauss. Environmental and Experimental Botany 19: 237-243.
- Tungmunthum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A. and Yangsabai, A. (2018) Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. Medicines 5: 1-16.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology 64: 88-93.
- Waterhouse, A. L. and Laurie, V. F. (2006) Oxidation of wine phenolics a critical evaluation and hypotheses. American Journal of Enology and Viticulture 57: 306-313.

Alteration of phytochemical content of the capers (*Capparis spinosa*) collected from different microclimates

Ali Ghanbari¹, Mohammad Reza Azimi^{*1}, Alireza Rafiei², Pouria Biparva³ and Mohammad Ali Ebrahimzadeh⁴

¹Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran, ²Department of Immunology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran, ³Department of Basic Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Sari, Iran, ⁴Department of Pharmaceutical Chemistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari

(Received: 06/07/2020, Accepted: 08/09/2020)

Abstract

Capers (*Capparis spinosa*) are one of the valuable medicinal plants that can grow in a wide range of ecological situations. In order to investigate the effect of climate on the physiological compounds of this plant, plant samples were collected in late summer with three replications from the mountainous areas of Amol city (Nemarestaq, Delarestaq and Behrestaq) at four altitudes with a difference of 150 meters (minimum altitude 850 meters). Some physiological traits of leaves and fruits were measured and analyzed by compound analysis in a completely randomized design. Data analysis showed that all the measured traits were affected by climate and were statistically significant, so that the highest amount of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, vitamin C, phenol, flavonoids, anthocyanins, antioxidants at an altitude of 1650 meters in Behrestagh region with 6.75, 10.56, 3.59, 15.60, 24.66 mg/g fresh weight, 4.51, 2.55 $\mu\text{mol/g}$ fresh weight and 81.78% inhibition, respectively, and the lowest was observed at an altitude of 850 meters in Nemarstagh area. Regression slope also proved the significant relationship between traits and region and altitude, and antioxidant capacity which is the most important medicinal property of this plant, along with chlorophyll a, had the highest relationship ($r^2 = 0.93$). Also, the analysis of Pearson simple correlation coefficients showed a positive and significant effect between the traits. In general, with increasing altitude, an increase in the amount of measured physiological compounds that have medicinal effects was observed, so it is possible to develop the cultivation of some medicinal plants close to this family in the highlands.

Keywords: Altitude, Correlation, Ecology, Medicine, Zone