

## مطالعه ترکیبات اسانس، فنول و فلاونوئید گیاه دارویی مورد (*Myrtus communis* L.) در سه رویشگاه جنگلی زاگرس

وهب سهرابی موری<sup>۱</sup>، داوود آزادفر<sup>۲\*</sup>، خدایار همتی<sup>۳</sup> و زهره سعیدی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> مدرس هنرستان کشاورزی، اداره کل آموزش و پرورش استان مازندران،

<sup>۲</sup> گروه جنگل‌شناسی، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

<sup>۳</sup> گروه باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

<sup>۴</sup> دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱۱/۲۵)

### چکیده

درختچه دارویی مورد با نام علمی *Myrtus communis* L. از جمله درختچه‌های جنگلی با ارزش دارویی است. هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات اسانس، فنول و فلاونوئید این گیاه در سه رویشگاه جنگلی زاگرس بود. به این منظور از ۲۰ پایه با فاصله حداقل ۱۵ متر در فصل گلدهی نمونه برگ تهیه گردید. سپس اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر انجام شد و محتوای فنول و فلاونوئید به ترتیب با استفاده از روش‌های فولین-سیوکالتیو و کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده گردید. نتایج نشان داد بیشترین میزان محتوی فنول و فلاونوئید به ترتیب مربوط به رویشگاه مال‌آقا خوزستان با میانگین ۳/۰۴۸ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره و ۷/۷۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره است. نتایج همچنین نشان داد پنج ترکیب آلفاپینن، سینتول، لینالول، آلفاترینتول و لینالیل استات ترکیبات اصلی و غالب اسانس این گونه را در همه رویشگاه‌ها تشکیل می‌دهند. یافته‌های این پژوهش نشان داد خصوصیات محیطی رویشگاه به‌ویژه ارتفاع از سطح دریا، هدایت الکتریکی و کربن آلی بر روی محتوی فنول و فلاونوئید تأثیر دارد.

کلمات کلیدی: آلفاپینن، خصوصیات محیطی، گیاه دارویی مورد، محتوی فنول و فلاونوئید

### مقدمه

(al., 2021). گیاه مورد درختچه کوچک همیشه‌سبز و معطری است که برگ‌های آن متقابل، ساده، پایا، نوک تیز به رنگ سبز تیره و معطر به طول ۱/۵ تا ۳/۵ و عرض ۰/۷ تا ۱ سانتی‌متر، تخم‌مرغی، سرنیزه‌ای، چرمی شفاف با نقاط کم رنگ، تقریباً بدون رگبرگ و در صورت له‌شدن بسیار معطر است (میرآزادی و همکاران، ۱۳۹۰). ارتفاع آن بین یک تا سه متر است و

یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده میرتاسه درختچه مورد *Myrtus communis* L. است که رویشگاه‌های مختلف آن در نیمه جنوبی کشور گسترش دارند. یکی از ویژگی‌های این خانواده وجود غدد تولید اسانس‌های روغنی است که در طب سنتی در سراسر جهان از آن استفاده می‌شده است (Faten et

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: azadfar@gau.ac.ir

در ایران بررسی شد (صبورا و همکاران، ۱۳۹۲). نتایج مشخص کرد تفاوت شرایط منطقه مانند تغییرات اقلیمی، ارتفاع و تغییر خزانۀ ژنتیکی در سطح سرده، تأثیر معناداری بر میزان ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها دارد. در تحقیق دیگری به بررسی سنجش محتوی فنول و فلاونوئید عصاره برگ درختان انجیر و لرگ پرداخته شد (جعفری و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج آن‌ها نشان داد بین عوامل خاک نظیر پتاسیم، سدیم، فسفر و ازت با میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فنلی در عصاره‌های برگ هر دو گیاه همبستگی معناداری دارد. در مطالعه دیگری اسانس و اسیدهای چرب برگ و بذر درختچه مورد بررسی شد (Seyda, 2018). در این تحقیق اسانس برگ با استفاده از دستگاه کلونجر و اسیدهای چرب بذر با استفاده از روش پرس سرد بدست آمد. سپس با دستگاه کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنج جرمی آنالیز شدند. نتایج نشان داد ۱/۸ سینتول (% ۲۱/۶۸)، آلفاپینن (% ۱۸/۰۲)، لینالول (% ۱۴/۱۲) و آلفا ترپینیل استات (% ۱۰/۴) به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس و اسید لینولئیک (% ۷۷/۵۹) و اسید پالمیتیک (% ۱۰/۳۶) به‌عنوان اسیدهای چرب اصلی شناسایی شدند. این مطالعه نشان داد استفاده تغذیه‌ای و صنعتی از برگ و دانه این گیاه به‌دلیل محتوای فیتوشیمیایی غنی از اسانس و روغن دانه امکان‌پذیر است. میرآزادی و همکاران (۱۳۹۰) طی مطالعه‌ای به بررسی و توصیف برخی از عوامل اکولوژیک رویشگاه جنگلی درختچه مورد در لرستان پرداختند. نتایج نشان داد که حداکثر بازده اسانس مربوط به رویشگاه سپید دشت است که از نظر ارتفاع از سطح دریا، مقادیر سدیم، فسفر و کربن آلی خاک با دو رویشگاه دیگر تفاوت دارد. آن‌ها همچنین بیان کردند که وجود اختلاف بین عوامل اکولوژیکی و خاکی بین سه رویشگاه می‌تواند بر نوع و درصد اجزای متشکله اسانس تأثیر عمده‌ای داشته باشد. با توجه به مشاهدات Aidi و همکاران (۲۰۰۹) از مقایسه اسانس برگ دو وارسته از درختچه مورد در مراحل مختلف فنولوژیکی (گلدهی، رویشی و باردهی)، مشاهده شد بیشترین عملکرد اسانس در مرحله گلدهی با ۶٪ برای رقم ایتالیکا و ۴٪ برای رقم باتیکا است.

حداکثر ارتفاع آن به ۵ متر می‌رسد (میرآزادی و همکاران، ۱۳۹۰). امروزه درختچه مورد و متابولیت‌های ثانویه آن به صورت علمی در صنعت پزشکی، صنایع غذایی و لوازم آرایشی و بهداشتی به‌کار گرفته شده‌است (Mulas et al., 2002; Sabiha et al., 2011; Sen et al., 2020). رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم، خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد (مزارعی و فهمیده، ۱۳۹۹). هر یک از این عوامل می‌تواند تأثیر به‌سزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهی داشته باشد (میرآزادی و همکاران، ۱۳۹۰). تفاوت‌های اقلیمی سبب ایجاد اکوتیپ‌های متنوعی از گونه‌های مختلف گیاهان دارویی شده است (Donohue, 2002). این گیاهان مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه و مواد مؤثره اولیه هستند. مشخص شده که اغلب اسانس‌های گیاهی خواص حشره‌کشی، ضدقارچی، ضدانگلی، آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک دارند (عالی و همکاران، ۱۳۹۶) که این فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی به مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها بستگی دارد (An-jun et al., 2010). گیاهان دارویی به‌عنوان یک منبع مهم محصولات طبیعی زیستی مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها شناخته می‌شوند (Tungmannithum et al., 2018). از چند دهه پیش تحقیقات بر روی فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی از گیاهان دارویی به طرز قابل‌توجهی افزایش یافته است (Tungmannithum et al., 2018). ترکیبات فنولی و فلاونوئید بزرگترین گروه از متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند که معمولاً در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، دانه‌ها، ریشه و در سایر قسمت‌های گیاهان دیده می‌شود و در بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک مانند رشد سلولی نقش دارند (Raghavendra et al., 2010). اندام‌های مختلف گیاه که جهت استخراج اسانس مورد استفاده قرار می‌گیرد به‌دلیل ارتباط اندام گیاهی با آناتومی و فیزیولوژی گیاه به‌عنوان عامل درونی تأثیرگذار در تنوع شیمیایی اسانس در نظر گرفته می‌شود (Barra, 2009). در تحقیقی فنول، فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ساقه و برگ شش‌گونه میخک وحشی

منطقی نداشته و حالت پراکنده داشتند امکان به‌کارگیری روش‌های مختلف نمونه‌برداری وجود نداشت. لذا از چهار جهت جغرافیایی ۲۵ متر وارد توده شده و از اولین پایه به صورت انتخابی نمونه‌برداری صورت گرفت. چهار پایه بعدی با حداقل فاصله ۱۵ متری انتخاب شدند و در مجموع ۲۰ پایه انتخاب و برای هر پایه از چهار جهت درختچه به سمت داخل درختچه (برای از بین بردن اثرات حاشیه‌ای)، نمونه‌های برگ جمع‌آوری شد که این برگ‌ها در شرایط مناسب در سایه و به‌طور طبیعی در محیط آزمایشگاه به مدت یک ماه خشک شدند. سپس مقدار ۴۰۰ گرم برگ توزین شد و با سه تکرار به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی تربیت مدرس به‌منظور اندازه‌گیری اسانس، محتوی فنول و فلاونوئید کل فرستاده شد.

**آزمایشات خاک:** به‌منظور برداشت نمونه خاک، از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری، نمونه خاک تهیه شد. در هر رویشگاه از چهار گوشه به‌همراه یک نمونه در وسط رویشگاه، خاک جمع‌آوری شد که پس از ترکیب آن‌ها با یکدیگر، یک نمونه یکنواخت و یکسان به وزن تقریبی یک کیلوگرم به‌عنوان معرف رویشگاه بدست آمد. نمونه‌های خاک در دمای آزمایشگاه خشک، کوبیده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند. سپس نمونه‌ها با سه تکرار به آزمایشگاه برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی منتقل شدند. بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1965)، کربن آلی به روش والکی- بلک (Walkley and Black, 1934)، آهک خاک ( $\text{CaCO}_3$ ) به روش خنثی‌کردن با اسید کلریدریک (Trivedy and Goel, 1986)، هدایت الکتریکی با روش گل اشباع (Bouyoucos, 1965)، نیتروژن کل به روش کج‌لدال (Bremner and Mulvaney, 1965)، فسفر قابل جذب با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و به روش اولسون (Olsen, 1954) و پتاسیم به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم نرمال (Trivedy and Goel, 1986) و با دستگاه فلیم فوتومتری تعیین شد.

**عصاره‌گیری برگ:** ۷/۵ گرم از برگ گیاهان، آسیاب، وزن و درون شیشه ریخته شد (Arabshahi and Urooj, 2007). سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ (اتانول- آب مقطر) به نمونه

ترکیبات اسانس بدست آمده در طول مراحل فنولوژیکی تغییرات معنی‌داری نشان داد که این تغییرات احتمالاً به خاطر شرایط محیطی و تغییرات فیزیولوژیکی گیاه است. در مطالعه دیگری به منظور ارزیابی شیمیوتاکسونومی ۵۲ ژنوتیپ مختلف درختچه مورد از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی برای جداسازی اسانس استفاده شد (Marianna et al., 2020). نتایج آنان نشان داد بیشترین درصد حجمی مربوط به لیمونن، سینئول، آلفا پینن، ترپینئول و لینالول است. همچنین نتایج با استفاده از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که خصوصیات گیاه مادری و عوامل اکولوژیک باعث ایجاد تمایز در بین جمعیت‌ها شده‌اند. با این پیشینه و با توجه به اینکه گیاه دارویی مورد در صنایع مختلف دارویی، بهداشتی و آرایشی بسیار مورد استفاده قرار گرفته است و از آنجا که میزان و نوع مواد مؤثره بسته به شرایط زیستگاهی هر گونه متفاوت است و با توجه به پراکندگی گسترده گیاه دارویی مورد، هدف مطالعه تعیین میزان فنول و فلاونوئید و ترکیبات اسانس برگ گیاه مورد در سه رویشگاه زاگرس (لرستان، خوزستان و چهارمحال بختیاری) است.

## مواد و روش‌ها

**مناطق مورد مطالعه:** در این پژوهش پس از مطالعات کتابخانه‌ای و بررسی‌های میدانی، سه رویشگاه درختچه مورد در استان لرستان (مورانی)، خوزستان (مال‌آقا) و چهارمحال و بختیاری (لردگان) به شرح ذیل انتخاب شدند (جدول ۱).

**روش نمونه‌برداری:** در این پژوهش به‌منظور شناسایی رویشگاه‌های مورد مطالعه از طریق پیمایش مناطق جنگلی و با استفاده از راهنمایی کارشناسان ادارات کل منابع طبیعی، رویشگاه‌های مورد نظر انتخاب و مختصات رویشگاه با استفاده از دستگاه GPS ثبت گردید. در انتخاب رویشگاه‌ها سعی شد رویشگاه‌هایی انتخاب شود که حداقل دست خوردگی را از نظر چرا و بهره‌برداری داشته باشند. نمونه‌برداری از برگ‌ها در تیرماه (اواسط فصل گلدهی) صورت گرفت. با توجه به اینکه کلیه توده‌های مورد در استان‌های مورد مطالعه شکل هندسی

جدول ۱- خصوصیات اقلیمی رویشگاه‌های جنگلی مورد مطالعه

نام رویشگاه	مساحت (مترمربع)	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	میانگین بارندگی سالانه (میلی‌متر)	میانگین دمای سالانه (سانتی‌گراد)
مورانی لرستان	۷۵۰۰	۷۵۲	۴۷° ۴۵' ۰۱"	۳۳° ۲۵' ۳۹"	۲۸۵/۶	۲۹/۴
مال‌آقا خوزستان	۱۳۵۰۰	۹۵۰	۵۰° ۰۱' ۴۲"	۳۱° ۳۵' ۳۰"	۳۸۰/۳	۲۵/۴
لردگان چهارمحال	۱۲۰۰۰	۱۳۵۰	۵۰° ۴۷' ۴۱"	۳۱° ۳۸' ۰۶"	۴۵۰/۲	۱۸/۷

گیاهی اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت روی همزن قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت، عصاره بدست آمده را به آرامی در شیشه دیگر ریخته و دوباره ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ به گیاه اضافه شد و برای ۲۴ ساعت دیگر روی همزن نگهداری شد. عصاره به دست آمده را با عبور دادن از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف کرده و در دستگاه روتاری RV10 ساخت آلمان، حلال از عصاره جدا گردید. سپس عصاره بجا مانده را در یک ویال خالی ریخته و زیر جریان ازت گذاشته تا باقی مانده حلال نیز تبخیر شود و در نهایت عصاره قیری شکل بر جای می‌ماند. سپس ویال حاوی عصاره را درون دستگاه دسیکاتور گذاشته و دسیکاتور همراه با ویال‌های حاوی عصاره به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت و بعد از آن عصاره‌ها در دمای ۸۰- درجه نگهداری شدند (مشابیحی و آتشی، ۱۳۹۵).

**تهیه اسانس:** مقدار ۴۰ گرم از هر نمونه با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت سه ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر (Clevenger) مدل Pyrex آلمان و با سه تکرار اسانس‌گیری شد. آنگیزی اسانس با سدیم سولفات انجام شد و اسانس خالص توزین شده و در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شد تا این که به دستگاه‌های GC و GC-MS تزریق شود. باید دقت کرد که اسانس حتی‌الامکان عاری از آب باشد، زیرا در غیر این صورت وجود آب باعث هیدرولیز استرهای موجود در اسانس و تبدیل آن به اسید و الکل می‌شود.

**اندازه‌گیری فلاونوئید:** اندازه‌گیری فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومنیوم انجام شد. مقدار ۰/۵ سی‌سی از عصاره برگ مورد با ۱/۵ سی‌سی آب مقطر رقیق می‌شود. سپس

۰/۵ سی‌سی آلومنیوم کلراید ۱۰ درصد، ۰/۱ سی‌سی پتاسیم استات ۱ مولار و در پایان ۲/۸ سی‌سی آب مقطر اضافه می‌گردد. محلول حاصل به مدت نیم ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار داده و سپس با استفاده از دستگاه الیزا ریدر اسپکتروفتومتر مدل Epoch ساخت شرکت BioTek امریکا در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده و مقدار فلاونوئید کل براساس خط استاندارد کوئرستین تعیین شد. منحنی استاندارد برحسب غلظت کوئرستین در مقادیر مختلف رسم شده و برای محاسبه مورد استفاده قرار گرفت. آزمایشات سه بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد (Chang et al., 2002).

**اندازه‌گیری فنول:** ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر عصاره برگ مورد برداشته و با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد. از معرف فولین خالص مقدار ۲۰ میلی‌لیتر به آن اضافه گردید. مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷ درصد w/v) به آن افزوده و به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. جذب نمونه‌های آبی رنگ در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر که مشخصات آن قبلاً ذکر شد خوانده گردید. منحنی استاندارد توسط اسید گالیک در غلظت‌های مختلف تهیه و مانند عصاره آماده و از متانول اسیدی به‌عنوان بلانک استفاده گردید. سپس میزان فنول برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره محاسبه شد. آزمایشات سه بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد (Waterhouse and Laurie, 2006).

**آنالیز اسانس:** به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. پس از آماده‌سازی اسانس و تزریق آن به دستگاه کروماتوگرافی

داده‌های بدست آمده با سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه و با نرم‌افزار SPSS 22 آنالیز شدند. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح  $P < 0.05$  و  $P < 0.01$  مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

**بررسی اثر رویشگاه بر تغییرات متابولیت‌های ثانویه (فنول و فلاونوئید):** نتایج تجزیه واریانس یک طرفه به‌منظور بررسی تأثیر رویشگاه بر مقادیر محتوی فنول و فلاونوئید نشان داد که اثر رویشگاه بر روی مقادیر متابولیت‌های ثانویه (فنول و فلاونوئید) معنی‌دار است (جدول ۲).

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد مقدار فنول و فلاونوئید در بین رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌داری به‌ترتیب در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وجود دارد. ضریب تغییرات فنول مقدار کمتری (۱۳/۷) نسبت به فلاونوئید (۱۵/۰۵) نشان داد. مقایسه میانگین محتوی فنول و فلاونوئید در رویشگاه‌های مورد *Myrtus communis* L. در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیشترین مقدار فنول مربوط به رویشگاه مال‌آقا با میانگین ۷/۹۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره و کمترین مقدار مربوط به رویشگاه لردگان با میانگین ۶/۱۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره است. بیشترین مقدار فلاونوئید مربوط به رویشگاه مال‌آقا با ۳/۰۴ و کمترین مقدار مربوط به رویشگاه لردگان با ۲/۱۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره است. محتوی فنول در رویشگاه‌های مورانی و مال‌آقا از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با رویشگاه لردگان داشت. مقدار فلاونوئید در رویشگاه مال‌آقا از نظر آماری در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری با رویشگاه‌های مورانی و لردگان داشت.

نتایج ارزیابی همبستگی بین محتوی فنول و فلاونوئید با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و ارتفاع از سطح دریا در رویشگاه‌های *Myrtus communis* با استفاده از ضریب پیرسون در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین مقدار فلاونوئید و اسیدیته همبستگی منفی و

گازی، مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس بدست آمد. همچنین درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده هر اسانس و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی تزریق شد و طیف جرمی ترکیب‌ها بدست آمد. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از جمله زمان و شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC-MS صورت گرفت. درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با توجه به سطح زیرمنحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال‌کردن سطح و نادیده‌گرفتن ضرایب پاسخ بدست آمد.

### مشخصات دستگاه: برای آنالیز کروماتوگرافی گازی (GC)

اسانس از کروماتوگراف Agilent مدل ۶۸۹۰N ساخت آمریکا مجهز به ستون HPS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. از گاز نیتروژن ( $N_2$ ) با سرعت ۰/۸ میلی‌متر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای اولیه ستون ۶۰ درجه بود و برنامه‌ریزی شد که چهار درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش پیدا کند تا به ۲۸۰ درجه برسد. دمای قسمت تزریق و آشکارساز به‌ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. نسبت شکاف ۱:۱۰۰ برای رقیق‌کردن نمونه‌ها استفاده شد. اسانس تزریق‌شده به دستگاه نیز ۰/۱ میکرولیتر بود.

برای آنالیز اسانس از کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) Agilent مدل ۵۹۷۳ ساخت آمریکا مجهز به ستون HPS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. از گاز هلیوم با سرعت ۰/۸ میلی‌متر بر دقیقه به‌عنوان حامل استفاده شد. دمای آون از ۴۵ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و سپس به ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه رسید. از گاز هلیوم با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید.

جدول ۲- آنالیز واریانس میزان فنول و فلاونوئید نمونه‌های برگ گیاه دارویی مورد (*Myrtus communis*)

میانگین مربعات		درجه آزادی	منبع تغییرات
فلاونوئید	فنول		
۰/۶۱۴**	۳/۰۴۲*	۲	رویشگاه
۰/۰۰۷	۰/۳۴۷	۶	خطا
۱۵/۰۵	۱۳/۷	-	ضریب تغییرات

\* و \*\* به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین محتوای فنول و فلاونوئید کل در رویشگاه‌های مورد مطالعه مورد (*Myrtus communis* L.)

رویشگاه	محتوی فنول (mg Galic acid/g)	فلاونوئید کل (mg Quercetin/g)
مورانی	۷/۷۷±۰/۹۱ <sup>a</sup>	۲/۵۹±۰/۱۸ <sup>b</sup>
مال آقا	۷/۹۸±۰/۳۸ <sup>a</sup>	۳/۰۴±۰/۰۵ <sup>a</sup>
لردگان	۶/۱۹±۰/۵۵ <sup>b</sup>	۲/۱۴±۰/۱۵ <sup>c</sup>

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  برای فنول و در سطح  $P < 0.01$  برای فلاونوئید هستند.

جدول ۴- همبستگی بین محتوی فنول و فلاونوئید کل با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و ارتفاع از سطح دریا در رویشگاه‌های گیاه

دارویی (*Myrtus communis* L.)

فلاونوئید	فنول	هدایت الکتریکی	اسیدیته	نیتروژن	کربن آلی	شن	سیلت	رس	فسفر	پتاسیم	ارتفاع
فلاونوئید	۰/۷۱*	۰/۲۳ <sup>ns</sup>	۰/۷۳*	۰/۴۹ <sup>ns</sup>	۰/۴۹ <sup>ns</sup>	۰/۴۲ <sup>ns</sup>	۰/۳۹ <sup>ns</sup>	۰/۴۳ <sup>ns</sup>	۰/۹۸**	۰/۸۲**	۰/۷۸*
فنول	۰/۷۱*	۰/۵۱ <sup>ns</sup>	۰/۵۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۳۵ <sup>ns</sup>	۰/۳۰ <sup>ns</sup>	۰/۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۹۸**	۰/۱۳ <sup>ns</sup>

ns و \* و \*\* به ترتیب بدون اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

رویشگاه‌ها بود که در رویشگاه مال آقا خوزستان با ۵۰/۰۷ درصد بیشترین مقدار را داشت. رویشگاه مورانی با ۴۸/۱۱ درصد و رویشگاه لردگان با ۴۵/۷۱ درصد به ترتیب بیشترین مقدار آلفا پینین را داشتند. مقدار سینئول در رویشگاه مال آقا خوزستان ۲۳/۸۴ درصد، در رویشگاه مورانی لرستان ۲۳/۳۹ درصد و در رویشگاه لردگان ۲۲/۸۴ درصد بود. لینالول به‌عنوان سومین ترکیب غالب در رویشگاه مال آقا خوزستان با ۹/۱۳ درصد بیشترین مقدار و رویشگاه مورانی لرستان با ۸/۱۲ درصد کمترین مقدار را دارا بود. بیشترین و کمترین مقدار آلفا ترپینئول به ترتیب مربوط به رویشگاه‌های مورانی و لردگان با ۳/۳۹ و ۲/۸۹ درصد و بیشترین مقدار لینالیل استات هم مربوط

معنی‌دار ( $r = -0.73$ ) وجود دارد. همچنین بین فلاونوئید با فسفر همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r = 0.98$ ) وجود دارد. همچنین فلاونوئید با پتاسیم و ارتفاع از سطح دریا همبستگی منفی و معنی‌داری را به ترتیب ( $r = -0.82$ ) و ( $r = -0.78$ ) نشان داد. نتایج همچنین مشخص کرد بین فنول و پتاسیم همبستگی منفی و معنی‌داری ( $r = -0.98$ ) وجود دارد. بین فنول و فلاونوئید و دیگر پارامترها رابطه قوی و معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج آنالیز اسانس گونه مورد در جدول ۵ نشان داده شده است. در مجموع ۲۳ ترکیب استخراج گردید که چهار ترکیب آن شناسایی نشد. در همه رویشگاه‌ها ترکیبات آلفا پینین، سینئول، لینالول، آلفا ترپینئول و لینالیل استات بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. آلفا پینین، اسانس غالب در همه

جدول ۵- میانگین مقادیر ترکیبات مؤثره اسانس گیاه دارویی مورد (*Myrtus communis* L.)

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	رویشگاه مورانی لرستان	رویشگاه مال آقا خوزستان	رویشگاه لردگان چهارمحال بختیاری
۱	$\alpha$ -Pinene	۱۱۴۲	۴۸/۱۱	۵۰/۰۷	۴۵/۷۱
۲	$\beta$ -Pinene	۱۱۷۲	۰/۲۴	۰/۲۸	۰/۲۹
۳	Cineol	۱۲۳۶	۲۳/۳۹	۲۳/۸۴	۲۲/۸۴
۴	Ocimene	۱۳۰۰	۰/۳۹	۰/۱۷	۰/۴۲
۵	linalool	۱۳۳۸	۸/۱۲	۹/۱۳	۸/۴۲
۶	Allo ocimene	۱۳۷۵	۱/۱۱	۰/۲۲	۲/۶۴
۷	Trans- pinocarveol	۱۳۹۶	۰/۱۸	۰/۲۶	۰/۳۳
۸	$\alpha$ -Terpineol	۱۴۵۸	۳/۳۹	۳/۰۹	۲/۸۹
۹	Linalyl acetate	۱۵۰۶	۵/۶۰	۵/۸۱	۵/۵۰
۱۰	$\alpha$ -citral	۱۵۲۴	۰/۱۶	۰/۰۷	۰/۱۳
۱۱	Myrtenalacetate	۱۵۶۰	۰/۶۱	۰/۲۴	۰/۱۶
۱۲	$\alpha$ -Terpinyl acetate	۱۵۶۷	۰/۴۸	۰/۲۸	۰/۲۴
۱۳	Not detect	۱۵۸۹	۰/۴۱	۰/۴۷	۰/۷۵
۱۴	geranyl acetate	۱۶۱۳	۱/۱۸	۱/۰۷	۱/۲۵
۱۵	Methyl eugenol	۱۶۴۴	۰/۹۵	۰/۴۲	۰/۵۸
۱۶	Caryophyllene	۱۶۸۰	۰/۸۶	۰/۴۱	۱/۳۱
۱۷	Not detect	۱۷۴۹	۰/۲۱	۰/۳۷	۰/۲۳
۱۸	Caryophyllene oxide	۱۸۳۲	۰/۲۸	۰/۱۴	۰/۴
۱۹	Not detect	۱۸۶۰	۰/۲۱	۰/۴۲	۰/۴۵
۲۰	Durohydroquinon	۱۸۸۷	۰/۶۷	۰/۶۷	۱/۸۵
۲۱	Humulene	۱۹۶۶	۰/۳	۰/۶۱	۰/۶۶
۲۲	Not detect	۱۹۷۰	۰/۲۷	۰/۳۲	۰/۳۲
۲۳	(Humulene oxide II)	۱۹۸۲	۰/۳۴	۰/۱۵	۰/۲۵

به رویشگاه مال آقا و کمترین مقدار آن مربوط به رویشگاه لردگان با ۵/۸۱ و ۵/۵۰ درصد ثبت گردید. در جدول ۶ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در رویشگاه‌های مورد بررسی نشان داده شده است. نتایج نشان داد که رویشگاه مورانی کمترین اسیدیته با ۸/۱ و رویشگاه مال آقا و لردگان بیشترین اسیدیته را با ۸/۳ داشتند. بیشترین و کمترین هدایت الکتریکی به ترتیب مربوط به رویشگاه لردگان و مورانی با میانگین ۱/۰۶ و ۰/۳۳ دسی‌زیمنس بر متر بود.

بیشترین و کمترین کربنات کلسیم به ترتیب مربوط به رویشگاه مال آقا و مورانی با میانگین ۵۸/۵ و ۳۷/۶ درصد بود. بیشترین کربن آلی (OC) مربوط به رویشگاه مال آقا با میانگین ۱/۹۵ درصد و کمترین میزان کربن آلی مربوط به رویشگاه‌های لردگان با میانگین ۰/۳۷ درصد بود. بیشترین درصد ازت مربوط به رویشگاه لردگان با میانگین ۰/۱۸ درصد بود. بیشترین و کمترین میزان فسفر قابل جذب به ترتیب مربوط به رویشگاه‌های لردگان و مال آقا با میانگین ۴/۶ و ۲/۴۴ میلی‌گرم

جدول ۶- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در رویشگاه های مورد مطالعه

خصوصیات خاک	رویشگاه مورانی لرستان	رویشگاه مال آقا خوزستان	رویشگاه لردگان چهارمحال بختیاری
اسیدیته (pH)	۸/۱±۰/۱۶	۸/۳±۰/۱۴	۸/۳±۰/۱۵
هدایت الکتریکی (ds/m)	۰/۴۳±۰/۰۳	۰/۳۳±۰/۰۲	۱/۰۶±۰/۰۸
کربنات کلسیم (%)	۳۷/۶±۳/۱۲	۵۸/۵±۴/۱۸	۵۷/۱±۳/۰۸
کربن آلی (%)	۱/۲۴±۰/۰۶	۱/۹۵±۰/۰۹	۰/۳۷±۰/۱۵
نیترژن کل (%)	۰/۱۱±۰/۰۱	۰/۱۶±۰/۰۴	۰/۱۸±۰/۰۳
فسفر (m/kg)	۳/۷۹±۰/۲۶	۲/۴۴±۰/۰۹	۴/۶±۰/۰۳
پتاسیم (m/kg)	۳۰۲±۱۸	۱۲۰±۱۱/۰۱	۲۰۴±۰/۱۷
شن (%)	۵۷±۳	۳۵±۱	۳۳±۴
رس (%)	۲۱±۳	۲۱±۲	۳۳±۳
سیلت (%)	۲۲±۱	۴۴±۳	۳۴±۱
بافت	لوم شنی	لوم	لوم رسی

بر کیلوگرم بود. بیشترین و کمترین میزان پتاسیم مربوط به رویشگاه های مورانی و مال آقا به ترتیب با میانگین ۳۰۲ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. بیشترین و کمترین درصد شن به ترتیب مربوط به رویشگاه های مورانی و لردگان با میانگین ۵۷ و ۳۳ درصد بود. بیشترین درصد رس مربوط به رویشگاه لردگان با میانگین ۳۳ درصد و کمترین درصد رس مربوط به رویشگاه مال آقا و مورانی با میانگین ۲۱ درصد بود. بیشترین درصد سیلت مربوط به رویشگاه مال آقا با میانگین ۴۴ درصد و کمترین میزان سیلت مربوط به رویشگاه مورانی با میانگین ۲۲ درصد بود. بافت خاک رویشگاه لردگان لومی-رسی، رویشگاه مال آقا لومی و رویشگاه مورانی دارای بافت شنی-لومی بود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مکان جمع آوری تأثیر معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد روی خصوصیات فیتوشیمیایی شامل محتوی فنول و فلاونوئید کل دارد (جدول ۲). قاسمی و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه خود بر روی ویژگی های فیتوشیمیایی ژنوتیپ های ریواس از نقاط مختلف ایران نشان دادند شرایط محیطی و محل نمونه برداری تأثیر معنی داری روی فنول و فلاونوئید کل دارد. متفاوت بودن خصوصیات شیمیایی در مکان های مختلف یا به عبارتی دیگر اثر رویشگاه روی گیاهان دارویی مختلف در پژوهش های

محققین (مزارعی و همکاران، ۱۳۹۹؛ Ayerza and Coates, 2009; Marzouki *et al.*, 2004) به اثبات رسیده است. از مهم ترین خصوصیات این دسته از مواد مؤثره خاصیت آنتی اکسیدانی آنهاست که به آنها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال های آزاد را می دهد (Falleh *et al.*, 2012). ترکیبات فنولی شامل فنول های ساده و پلی فنول ها هستند. فلاونوئیدها از مهم ترین ترکیبات پلی فنولی در گیاهان هستند. در گیاهان دارویی دو گروه اصلی از متابولیت های ثانویه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها هستند که تقریباً در تمام بخش های گیاهان وجود دارند و در بسیاری از فعالیت های فیزیولوژیک مانند رشد سلولی نقش دارند (Raghavendra *et al.*, 2010). در این مطالعه حداکثر میزان فنول و فلاونوئید مربوط به رویشگاه مال آقا و کم ترین میزان فنول مربوط به رویشگاه لردگان بود. با توجه به اینکه رویشگاه های مختلف در مناطق مختلف براساس شرایط اقلیمی و ادا فیزیکی تأثیرات متفاوتی بر روی گونه های مختلف می گذارند، شرایط محیطی مناسب و متعادل و ویژگی های خاک می تواند از عوامل مؤثر بر افزایش متابولیت های ثانویه در رویشگاه مال آقا نسبت به دو رویشگاه دیگر شده باشد. همان طور که در جدول ۶ مشاهده می شود رویشگاه مال آقا کمترین و رویشگاه لردگان بیشترین



میزان هدایت الکتریکی خاک را دارند. عواملی همچون هدایت الکتریکی می‌تواند بر روی متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار باشد. هدایت الکتریکی خاک نماینده میزان املاح هادی محلول خاک است. هدایت الکتریکی بالا سبب محدود کردن رشد گیاه شده و در نهایت می‌تواند روی درصد اسانس آن تأثیر گذاشته و میزان آن را پایین آورد. همچنین محیط‌های شور علاوه بر تأثیر روی رشد گیاهان موجب کاهش متابولیت‌های ثانویه می‌شود (محمدی سلیمانی، ۱۳۸۸؛ Ozturk et al., 2004). مواد آلی خاک نقش مهمی روی خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک داشته و تأثیر زیادی روی تبادل کاتیون‌ها، فعالیت میکروارگانیسم‌ها و خاکدانه‌ها و متعاقب آن افزایش متابولیت‌های ثانویه دارند (عسگری و سفیدکن، ۱۳۸۳؛ Falleh et al., 2012). در جدول ۶ مشاهده می‌شود درصد کربن آلی در رویشگاه‌های مورانی (۱/۲۴) و مال‌آقا (۱/۹۵) بیشتر از رویشگاه لردگان (۰/۳۷) بود. افزایش میزان کربن آلی را می‌توان به بقایای گیاهی و برگ‌های این گیاهان نسبت داد که باعث اصلاح و بهبود خواص فیزیکی و بیولوژیکی خاک می‌شوند (Marianna et al., 2020). از طرف دیگر افزایش پوشش گیاهی و لاشبرگ حاصل از آن و کاهش تبخیر از سطح خاک عامل کاهش‌دهنده هدایت الکتریکی (جعفری و همکاران، ۱۳۹۴) در رویشگاه‌های مورانی و مال‌آقا نسبت به رویشگاه لردگان می‌تواند باشد. ارتفاع از سطح دریا از دیگر عواملی است که متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود بین ارتفاع از سطح دریا و میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید همبستگی منفی وجود دارد. قنبری و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای میزان اسانس گیاه بومادران را در پنج منطقه در استان آذربایجان شرقی بررسی و بیان کردند که بیشترین ماده مؤثره مربوط به منطقه جلفا با ارتفاع ۱۰۲۶ متر و کمترین میزان ماده مؤثره مربوط به منطقه پیربالا با ارتفاع ۲۵۵۷ متر است. کاغذلو و همکاران (۱۳۹۶) اثر ارتفاع بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های آقطی را در استان گلستان بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد با کاهش ارتفاع، میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه

آقطی افزایش می‌یابد. در تحقیق دیگری مزارعی و همکاران (۱۳۹۹) به ارزیابی و مقایسه فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سه گیاه دارویی پرمصرف در استان فارس پرداختند. نتایج آنها نشان داد میزان فنول و فلاونوئید با افزایش ارتفاع کاهش می‌یابد (آذرنیوند و همکاران، ۱۳۸۸؛ آریانفر و همکاران، ۱۳۹۷؛ Mahdavi and Rahmani; 2015). چرا که فصل رشد طولانی‌تر در ارتفاعات پایین‌تر می‌تواند به رشد سریع‌تر گیاه منجر شود که به نوبه خود می‌تواند مقادیر بیشتری از منابع متابولیت‌های ثانویه را جهت محافظت از گیاه اختصاص دهد. ارتفاع از سطح دریا از جمله فاکتورهای مهم و تأثیرگذار بر رشد و عملکرد گیاهان است. تغییرات دما در اثر تغییر ارتفاع از مهم‌ترین عوامل مؤثر در تغییرات مربوط به ارتفاع محل زندگی گیاه است به‌طوری‌که با افزایش و یا کاهش ارتفاع عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش دریافتی تغییر می‌کند (Fille cacher et al., 2012). به‌نظر می‌رسد افزایش ارتفاع با کاهش دما، افزایش شدت نور و افزایش شدت وزش باد همراه است. این تغییرات همراه با کاهش درجه حرارت بر مقدار رطوبت هوا و خاک تأثیر داشته و منجر به کاهش اسانس در ارتفاعات می‌شود (آریانفر و همکاران، ۱۳۹۷). براساس نتایج بدست آمده از آنالیز GC-MS، پنج ترکیب آلفاپینن، سینئول، لینالول، الفاترپینئول و لینالیل استات ترکیبات اصلی و غالب اسانس این گونه را تشکیل می‌دهند (Brazzali et al., 2012; Foudil- Cherif et al., 2013; Gavahian, 2013; Hennia et al., 2016; Maggio et al., 2019). همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود ترکیب درختچه دارویی مورد دارای تنوع زیادی است و این امر بیانگر اهمیت زیاد این گونه در زمینه دارویی است. همچنین می‌تواند نشان‌دهنده مقوله مهم تنوع ژنتیکی آن در پاسخ به تغییرات محیطی در طی زمان باشد. نتایج نشان داد که آلفاترپینن مهم‌ترین ترکیب اسانس گیاه مورد است که در رویشگاه مال‌آقا بیشترین مقدار (۵۰/۰۷٪) را به خود اختصاص داده که این مقدار در رویشگاه لردگان کمترین مقدار (۴۵/۷۱٪) است. این ترکیب از دسته مونوترپن‌ها است. مطالعات متعددی

رویشگاه یکسان در نظر گرفته شد، تفاوت موجود در نوع و درصد اجزای متشکله اسانس می‌تواند ناشی از تغییرات ژنتیکی یا غیرژنتیکی در پاسخ به تفاوت‌های محیطی اکوسیستم رویشگاه‌ها از قبیل ترکیب شیمیایی خاک و عوامل فیزیوگرافیک باشد. رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌های مختلف تابع نوع گونه، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی است. هر یک از این عوامل می‌توانند به تنهایی یا با هم تأثیر به‌سزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشند که در این تحقیق ارتفاع از سطح دریا، کربن آلی و هدایت الکتریکی مهم‌ترین عوامل بودند. با توجه به استفاده از نظرات کارشناسان مجرب ادارات کل در معرفی بهترین توده‌های هر استان برای این تحقیق به‌نظر می‌رسد رویشگاه مال‌آقا استان خوزستان از نظر کمی و کیفی از دیگر مناطق رویشی برتر باشد. لذا به‌عنوان یک گونه گیاهی چند منظوره، کاربرد آن در احیا منطقه و استفاده علاقمندان حوزه پزشکی و تجاری برای استخراج مواد مؤثره با کیفیت در این استان توصیه می‌گردد.

#### تقدیر و تشکر

نگارندگان از کارشناسان ادارات کل منابع طبیعی استان‌های لرستان، خوزستان، چهارمحال و بختیاری، مدیریت محترم دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، مدیریت محترم دانشکده کشاورزی تربیت‌مدرس و همه عزیزانی که به نحوی در آماده‌سازی این تحقیق کمک نمودند سپاسگذاری می‌نمایند.

خواص ضد درد آلفاپینن را گزارش نموده‌اند (Rouatbi *et al.*, 2007). علاوه بر این مطالعات دیگری خواص ضد اضطراب و اثرات خواب‌آوری این ماده را گزارش نموده‌اند (Yang *et al.*, 2016; Satou *et al.*, 2014). همچنین ماده مهم دیگر ترکیبات اسانس گونه مورد سینتول از دسته ترپنوئیدها است. مطالعات متعددی اثرات فارماکولوژیک متعددی همچون اثرات ضد درد، ضد التهاب، بیهوش‌کنندگی و شل‌کننده عضلانی این ماده را گزارش کرده‌اند (Lahlou *et al.*, 2002). لینالول ترکیب مهم دیگری است که در مطالعات حیوانی اثرات ضد تشنج و آرام‌بخش و در مطالعات انسانی اثرات ضد اضطراب و آرام‌بخش را نشان داده است (یوسفی و همکاران، ۱۳۹۷). همچنین مطالعات دیگری این مونوترپن‌ها مسئول اثرات شلی عضلات معرفی شده‌اند (Birhanie *et al.*, 2016). علاوه بر اینها، ترکیبات دیگری نیز در ساختمان اسانس مورد به‌طور جزئی یافت شدند که جهت تعیین نقش تک تک آنها نیاز به تحقیقات مجزای بیشتری است. چهار ترکیب از پنج ترکیب اصلی در رویشگاه مال‌آقا بیشترین بودند. در رویشگاه لردگان کمترین مقدار و در رویشگاه مورانی حد متوسطی داشتند. این نتایج می‌تواند مؤید وجود تفاوت‌های اکولوژیک و تأثیر آنها بر درصد هر یک از ترکیب‌های اسانس گونه مورد در سه رویشگاه باشد (Flamini *et al.*, 2004) که در این تحقیق ارتفاع از سطح دریا، هدایت الکتریکی و کربن آلی عوامل اثرگذارتری بودند.

#### نتیجه‌گیری

با وجود اینکه شرایط انتخاب نمونه‌ها، خشک‌شدن، استخراج اسانس و شناسایی ترکیب‌های موجود برای نمونه‌های هر سه

#### منابع

- آریانفر، م.، اکبری نودهی، د.، همتی، خ. و رستم‌پور، م. (۱۳۹۷) اثر ارتفاع و جهت بر بازده اسانس و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های دارویی *Artemisia aucheri* Boiss. و *Artemisia sieberi* Besser. در مراتع خراسان جنوبی. نشریه علمی پژوهشی مرتع ۱۲: ۲۹۴-۲۸۱.
- آذرینوند، ح.، قوام، م.، سفیدکن، ف. و طویلی، ع. (۱۳۸۸) بررسی تأثیر ویژگی‌های اکولوژیک (خاک و ارتفاع) بر کمیت و کیفیت اسانس گل و برگ *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium*

ایران ۲۰: ۵۵۶-۵۷۱.

جعفری، ن.، نادری، پ. و ابراهیم‌زاده، م. (۱۳۹۴) سنجش محتوای فنل و فلاونوئید تام و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ درختان انجیر (*Ficus carica*) و لرگ (*Fraxinifolia pterocarya*) با روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲۵: ۱۶-۱.

قاسمی، ق.، فتاحی، م. و علیرضالو، ا. (۱۳۹۷) مطالعه ویژگی‌های فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف ریواس (*Rheum ribes L.*) جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی ۲۸: ۷۳-۷۸.

قنبری، م.، سوری، م. ک.، امیدبگی، ر. و میرزایی، ح. (۱۳۹۳) بررسی برخی خصوصیات بوم‌شناختی، ریختی و میزان اسانس بومادران هزار برگ (*Achillea millefolium L.*) در منطقه آذربایجان. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۰: ۶۹۲-۷۰۱.

صبورا، ع.، دادمهر، خ. و رنجبر، م. (۱۳۹۲) سنجش محتوای فنل و فلاونوئید تام و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ساقه و برگ شش‌گونه میخک وحشی (*Dianthus L.*) ایران. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۹: ۲۹۵-۲۸۱. عالی، ا.، محمودی، ر.، کاظمی‌نیا، م.، حضرتی، ر. و آذری، ف. (۱۳۹۶) اسانس‌های گیاهی به‌عنوان ترکیبات دارویی طبیعی. مجله دانشگاه علوم پزشکی تهران ۷۵: ۴۸۹-۴۸۰.

کاغذلو، ز.، همتی، خ. و خراسانی‌نژاد، س. (۱۳۹۶) اثر ارتفاع بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های مختلف گیاه آقوی (*Sambucus ebulus L.*) در سه شهر در استان گلستان. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی ۴۷: ۱۳-۱.

عسگری، ف. و سفیدکن، ف. (۱۳۸۳) مقایسه کمی و کیفی اسانس *Melissa officinalis L.* از مناطق مختلف. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۰: ۲۳۷-۲۲۹.

محمدی سلیمانی، ص. (۱۳۸۸) اثر برخی عوامل محیطی بر ترکیب اسانس مریم‌نخودی (*Stachys laxa*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

مزارعی، ا. و فهمیده، ل. (۱۳۹۹) ارزیابی و مقایسه فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سه گیاه دارویی پرمصرف در رویشگاه‌های طبیعی استان فارس. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۲۹: ۱۰۵-۹۰.

مشایخی، ک. و آتشین، ص. (۱۳۹۵) راهنمای آزمایشات گیاهی. تحقیقات آموزش کشاورزی، تهران.

میرآزادی، ز.، پیلهور، ب.، مشکوه‌السادات، م. ه. و کرمان، ر. (۱۳۹۰) توصیف شرایط رویشگاهی و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس درختچه مورد (مطالعه موردی: رویشگاه چم مورد در استان لرستان). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۳: ۷۹-۷۱.

یوسفی، ف.، عباسی، س. و نجفی‌زاده، پ. (۱۳۹۷) بررسی فیتوشیمیایی و اثرات مصرف توأم اسانس مورد (*Myrtus communis*) با تیوپتال در موش صحرایی نر. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد ۲۰: ۸۷-۹۹.

Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. (2007) Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. Food Chemistry 102: 1233-1240.

Aidi, W., Mhamdi, B. and Marzouk, B. (2009) GC Comparative analysis of leaf essential oils from two myrtle varieties at different phenological stages. Chromatographia 69: 145-150.

An-Jun, L., Yue-Wie, W., Zen-Zyan, Z., Yan, W. and Ying, C. (2010) Extraction and antimicrobial activities of polysaccharide from walnut kernel pellicle. Modern Food Science and Technology 26: 160-5.

Ayerza, R. and Coates, W. (2004) Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of Sout America. Tropical Science 34: 131-135.

Barra, A. (2009) Factors affecting chemical variability of essential oils: A review of recent developments. Natural Product Communications 4: 1147-1154.

Brazzali, O., Tomi, F., Casanova, J. and Bighelli, A. (2012) Occurrence of C8-C10 esters in Mediterranean *Myrtus communis L.* leaf essential oil. Flavour Fragr Journal 27: 335-340.

- Birhanie, M. W., Walle, B. and Rebba, K. (2016) Hypnotic effect of the essential oil from the leaves of *Myrtus communis* on mice. *Nature and Science of Sleep* 8: 267-75.
- Bouyoucos, G. J. (1965) Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal* 54: 464-465.
- Bremner, J. M. and Mulvaney, C. S. (1965) Nitrogen-total. In: *Methods of Soil Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties*. (ed. Page, A. L.) Pp. 596-622. American Society of Agronomy Inc. Madison, Wisconsin USA.
- Chang, S. S., Yang, M. H., Wen, H. M and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Donohue, K. (2002) Germination timing influences natural selection on life history characters *Arabidopsis thaliana*. *Ecology* 83: 1006-1016.
- Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M. E., Abdelly, C. and Magne, C. (2012) Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 11: 243-254.
- Faten, M. I., Rasha, F., Salwa, E. H., Saber, F. H., Elsayed, A. O. and Reda, S. M. (2021) Egyptian *Myrtus communis* L. essential oil potential role as *in vitro* antioxidant, cytotoxic and  $\alpha$ -amylase inhibitor. *Egyptian Journal of Chemistry* 64: 3005-3017.
- Fille cache, A., Aliabadi, A., Farzane, H., Borzooei, M. and dadrasi, A. (2012) Ecology study of *Salvia leriifolia* in Sabzevar. In: 8<sup>th</sup> Congress of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University.
- Flamini, G., Luigicioni, P., Morelli, I. and Maccioni, S. (2004) Phytochemical typologies in some population of *Myrtus communis* on capriore promontory (East Liguria, Italy). *Food Chemistry* 85: 599-604.
- Foudil-Cherif, Y., Boutarene, N. and Yassaa, N. (2013) Chemical composition of essential oils of algerian *Myrtus communis* and chiral analysis of their leave volatiles. *Journal of Essential Oil Research* 25: 402-408.
- Gavahian, M., Farahnaky, A., Javidnia, K. and Majzoobi, M. (2013) A novel technology for extraction of essential oil from *Myrtus communis*: Ohmic-assisted hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Research* 25: 257-266.
- Hennia, A., Miguel, M. G., Brada, M., Nemmiche, S. and Figueiredo, A. C. (2016) Composition of chemical variability and effect of distillation time on leaf and fruits essential oils of *Myrtus communis* from north western Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 28: 146-156.
- Lahlou, S., Figueiredo, A. F., Magalhaes, P. J. C. and Leal-Cardoso, J. H. (2002) Cardiovascular effects of 1, 8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils in normotensive rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 80: 1125-1131.
- Maggio, A., Loizzo, M. R., Riccobono, L., Bruno, M., Tenuta, M. C., Leporini, M., Falco, T., Leto, C., Tuttolomondo, T., Cammalleri, I., La Bella, S. and Tundis, R. (2019) Comparative chemical composition and bioactivity of leaves essential oils from nine Sicilian accessions of *Myrtus communis* L. *Journal of Essential Oil Research* 31: 546-555.
- Mahdavi, M. and Rahmani, V. (2015) The effects of ecologic and habitational factors on the essence quality of *Stachys lavandulifolia* Vahl. in north Khorassan province. *International Journal of Farming and Allied Sciences* 4: 448-456.
- Marianna, U., Mauro, M., Nicola, C. and Maurizio, M. (2020) Chemical composition of myrtle (*Myrtus communis* L.) berries essential oils as observed in a collection of genotypes. *Molecules* 23: 2502.
- Marzouki, H., Elaissi, A., Khaldi, A., Bouzid, S., Falconieri, D., Marongiu, B., Piras, A. and Porcedda, S. (2009) Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *Open Natural Products* 2: 86-91.
- Mulas, M., Francesconi, A. H. D. and Perinu, B. (2002) Myrtle (*Myrtus communis* L.) as a new aromatic crop: Cultivar selection. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 9: 127-131.
- Olsen, S. R., Cole, C., Watanabe, F. S. and Dean, C. A. (1954) Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. *Journal of Chemical Information and Modeling* 53: 1689-1699.
- Ozturk, A., Ipek, A., Unlukara, A. and Gurbuz, B. (2004) Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of *lemon balm* depression of growth and essential oil formation in *Melissa officinalis*. *Pakistan Journal of Botany* 36: 787-792.
- Raghavendra, A. S., Gonugunta, V. K., Christmann, A. and Grill, E. (2010) ABA perception and signalling. *Trends Plant Sciences* 15: 395-401.
- Rouatbi, M., Duquenoy, A. and Giampaoli, P. (2007) Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam. *Food Engineering* 78: 708-714.
- Sabiha, S., Aftab, M. A., Asif, M. and Mohd, A. (2011) *Myrtus communis* L. A review. *Indian. Journal of Natural Product and Plant Resources* 2: 395-402.
- Satou, T., Kasuya, H., Maeda, K. and Koike, K. (2014) Daily inhalation of  $\alpha$ -pinene in mice: Effects on behavior and organ accumulation. *Phytother Research* 28: 1284-1287.
- Sen, A., Kurkcuoglu, M., Yildirim, A., Dogan, A., Bitis, L. and Canbaser, K. (2020) Chemical and biological profiles of essential oil from different parts of *Myrtus communis* L. subsp. *Communis* from Turkey. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 85: 71-78.

- Seyda, K. (2018) *Myrtus communis* L.: Characterisation of essential oil of leaves and fatty acids of seeds using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MSD). *Journal of Natural and Applied Sciences* 22: 488-492.
- Trivedy, R. K. and Goel, P. K. (1986) Chemical and biological methods for water pollution studies. Environmental Publications 98-112.
- Tungmunnithum, 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.
- Walkley, A. and Black, I. A. (1934) Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
- 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.
- Yang, H., Woo, J., Pae, A. N., Um, M. Y., Cho, N. C. and Park, K. D. (2016)  $\alpha$ -Pinene, a major constituent of pine tree oils, enhances non-rapid eye movement sleep in mice through GABAA-benzodiazepine receptors. *Molecular Pharmacology* 90: 530-9.

## Study of essential oil, phenol and flavonoid compounds of *Myrtus communis* L. in three forest habitats of Zagros

Vahab Sohrabi Muri<sup>1</sup>, Davood Azadfar<sup>2\*</sup>, Khodayar Hemmati<sup>3</sup>, Zohreh Saeedi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ph.D Student, Department of Forest Sciences, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

<sup>2</sup> Department of Forest Sciences, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

<sup>3</sup> Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

<sup>4</sup> Department of Forest Sciences, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(Received: 24/09/2021, Accepted: 14/02/2022)

### Abstract

The medicinal shrub, scientifically named *Myrtus communis* L. is one of the valuable wild medicinal shrubs. The aim of this study was to investigate the essential oil, phenol and flavonoid compositions of this plant in three forest habitats of Zagros. For this purpose, leaf samples were prepared from 20 stands with a distance of at least 15 meters during the flowering season. Then, essential oil extraction was carried out by water distillation using Clevenger apparatus and the content of phenol and flavonoids was measured using Folin-Cocaltive and Aluminum Chloride methods, respectively and Gas chromatography and gas chromatography devices connected to mass spectrometers were used to identify the essential oil compounds. The results showed that the highest content of phenols and flavonoids was related to the habitat of Mal-Agha Khuzestan with an average of 3.048 mg of quercetin per gram of extract and 7.79 mg of gallic acid per gram of extract, respectively. The results also showed that the five compounds of  $\alpha$ -pinene, cineole, linalool, alphaterpineol and linalyl acetate were the main and predominant essential oils of this species in all habitats. Findings of this study showed that the environmental characteristics of the habitat, especially altitude, electrical conductivity and organic carbon affect the phenol and flavonoid content.

**Keywords:**  $\alpha$ -pinene, Containing phenols and flavonoids, Environmental Properties, *Myrtus communis*

Corresponding author, Email: azadfar@gau.ac.ir