

اثر ارتفاع بر برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی آقطی (*Sambucus ebulus* L.) در سه رویشگاه مختلف استان مازندران

رقیه پولکی خشکرودی، نادعلی باقری* و نادعلی بابائیان جلودار

گروه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷)

چکیده

آقطی (*Sambucus ebulus* L.) از گیاهان دارویی ارزشمندی است که دارای پراکنش گسترده‌ای در امتداد جنگل‌ها، کنار جاده‌ها و چمنزارهای شمال ایران است. به منظور بررسی تأثیر ارتفاع روی برخی ترکیبات بیوشیمیایی از جمله فنل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، نمونه‌های گیاهی شامل اندام‌های برگ، ساقه، ریشه و میوه در اواخر تابستان از مناطق ساری، بابل و آمل و در ارتفاعات ۱۰۰-، ۶۰۰-۵۰۰ و ۱۰۰۰-۹۰۰ متر با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی جمع‌آوری شدند. نتایج حاکی از آن بود که ارتفاع و اثر متقابل ارتفاع و منطقه تأثیر معنی‌داری بر میزان همه متابولیت‌های ثانویه مورد بررسی، داشت. با افزایش ارتفاع از سطح دریا، میزان آنزیم CAT، GPX و APX افزایش داشته است. همچنین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز با افزایش ارتفاع از سطح دریا افزایش پیدا کرده است. با توجه به اینکه این ترکیبات جز مهمترین ترکیبات ثانویه گیاهان دارویی هستند، می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین مقدار ترکیبات مؤثره گیاه دارویی آقطی در ارتفاعات بالا وجود دارد. بیشترین همبستگی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید ($r=0/958$) بوده، همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با همه صفات مورد بررسی همبستگی معنی‌داری ($P \leq 0/05$ و $P \leq 0/01$) نشان داد. به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد گیاه دارویی آقطی، سرشار از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده، و می‌توان از آن به عنوان یک منبع گیاهی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در صنایع غذا و دارو استفاده کرد.

کلمات کلیدی: آقطی (*Sambucus ebulus* L.)، آنزیم، ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، گرادیان ارتفاعی

مقدمه

دارند (کریمیان و همکاران، ۱۳۹۲). گیاهان دارویی به گستره وسیعی از گیاهان اطلاق می‌شود که در پیشگیری و درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این گیاهان در اندام‌های مختلف خود، دارای ترکیبات شیمیایی مفیدی هستند که تاکنون پژوهش‌های زیادی پیرامون استخراج این مواد مؤثره و استفاده از آنها در صنعت دارو و غذا صورت گرفته است (فروزه و میردیلامی، ۱۳۹۸). یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های

کشور ایران از لحاظ شرایط اقلیمی و موقعیت جغرافیایی خاص، از تنوع گیاهی بالایی برخوردار است بطوریکه بیش از ۸۰۰۰ گونه گیاهی را در خود جای داده است که بیشتر این گونه‌های گیاهی، در مراتع می‌روید (کریمیان و همکاران، ۱۳۹۱). گیاهان مرتعی علاوه بر تولید علوفه، قابلیت‌های دیگری مانند کاربردهای خوراکی، دارویی، صنعتی و تزئینی نیز

دارد. در شهریور ماه بذرها می‌رسند و در زمستان به زمین می‌ریزند. معمولاً ارتفاع آن بین ۲۰۰-۶۰ سانتی‌متر است و به شکل کلونی از ریزوم گسترده رشد می‌کند (محمدی‌پور، ۱۳۹۲). آقطی یک گیاه دارویی است که به دلیل سمی بودن، میزان استفاده از آن به عنوان غذا محدود می‌شود. این گیاه در گذشته نقش مهمی در طب سنتی ایران باستان داشت، بنابراین تعداد زیادی از داروهای تهیه‌شده از گیاه *S. ebulus L.* با موفقیت، در ایران استفاده می‌شود. این گیاه در رومانی، ترکیه و تقریباً در تمام کشورهای شبه جزیره بالکان به ویژه بلغارستان جز گیاهان بسیار مهم محسوب می‌شود (Tasinov et al., 2013).

کاغذلو و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی اثر ارتفاع بر برخی از صفات بیوشیمیایی گیاه آقطی نشان دادند که عامل ارتفاع، دارای اثرات معنی‌داری بر صفات مورد بررسی است. در واقع با افزایش ارتفاع از محتوی فنل و فلاونوئید کاسته شده و بهترین کیفیت متعلق به گیاهان در ارتفاعات پایین است. جمشیدی و همکاران (۱۳۸۹) در تحقیقی مشابه بر گیاه آقطی، نتیجه گرفتند که میزان متابولیت‌های ثانویه در ارتفاعات، بیشتر از منطقه نزدیک به سطح دریا بوده است. در واقع با افزایش ارتفاع، میزان فنل و فلاونوئید میوه گیاه افزایش قابل توجهی را نشان داد. افشارمحمدیان و انصاری پیری (۱۳۹۵) در تحقیقی روی گیاه استویا به بررسی تأثیر سطوح مختلف سرما روی فعالیت برخی از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی گیاه استویا پرداختند. نتایج حاکی از آن بود که تفاوت معنی‌داری در آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پراکسیداز (POD) تحت تنش سرما نشان ندادند.

با توجه به بومی بودن گیاه آقطی، دسترسی آسان و ارزان و مصرف دارویی این گیاه از زمان‌های دور در کشور، این قبیل مطالعات می‌تواند مقدمه‌ای جهت استفاده عملی از عصاره‌های این گیاه به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی، رنگسازی و دیگر صنایع باشد تا بدین طریق، هم امکان استفاده از یک منبع سهل‌الوصول و

طبیعی، ترکیبات فنلی گیاهان هستند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به میزان ترکیبات پلی‌فنلی بستگی دارد. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات اکسیدکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند، بطوری‌که از بروز بیماری‌های متعددی از جمله بیماری‌های التهابی، سرطان، دیابت، سکت قلبی، آلزایمر و پارکینسون جلوگیری می‌نمایند (سپهری‌فر و حسنلو، ۱۳۸۸).

گیاهان دارای مجموعه‌ای از سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی متشکل از اجزای آنزیمی و غیرآنزیمی هستند. سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی شامل آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی (ویتامین E، بتاکاروتن، لیکوپن و سایر ترکیبات) و محلول در آب (اسید آسکوربیک، گلوکاتینون و سایر ترکیبات) است. اجزای آنزیمی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (GPX) هستند. در گیاهان، SOD نقش اصلی را در دفاع در مقابل تنش اکسیداتیو دارد. این آنزیم متعلق به متالوآنزیم‌ها است که سبب تبدیل رادیکال سوپراکسید به اکسیژن و پراکسید هیدروژن می‌شود. گایاکول پراکسیداز نیز یک پروتئین است که ترجیحاً ترکیبات آروماتیک‌دهنده الکترون را به ازای مصرف پراکسید هیدروژن اکسید می‌کند (Sharma et al., 2012).

میزان کمی و کیفی مواد مؤثره موجود در گیاهان در هر منطقه، تحت تأثیر شرایط اقلیمی، عوامل محیطی و تنش‌های اکولوژیک در آن منطقه است (باقری و همکاران، ۱۴۰۰). ارتفاع از سطح دریا از جمله مهمترین عوامل تأثیرگذار بر رشد و عملکرد گیاهان است. تغییرات دمایی در اثر تغییر ارتفاع از مهمترین عوامل مؤثر در تغییرات مربوط به ارتفاع رویش گیاه است، بطوری‌که با افزایش و یا کاهش ارتفاع، عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش دریافتی تغییر می‌کند (Fille cache et al., 2012).

گیاه دارویی آقطی (*Sambucus ebulus L.*) از تیره Caprifoliaceae به‌طور گسترده در مناطق شمال ایران می‌روید. این گیاه دو ساله و علفی است و در صنایع دارویی کاربرد

(McDonald et al., 2001).

نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم نمونه خشک محاسبه شد. معادله استاندارد $R^2 = 0.99$ و $Y = 0.0053x - 0.0086$ براساس غلظت‌های متفاوت اسید گالیک (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم) محاسبه گردید و میزان ترکیبات فنلی معادل گالیک اسید در هر گرم پودر خشک اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک گزارش شد (مشایخی و آتشی، ۱۳۹۳).

فلاونوئید: مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش نورسنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد. برای انجام این روش، یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی در لوله آزمایش ریخته، به آن یک میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۲ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای محیط قرار گرفت و بعد از آن میزان جذب نوری در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Chang et al., 2002).

نتایج فلاونوئید نیز برحسب میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم نمونه خشک محاسبه گردید. معادله استاندارد $R^2 = 0.999$ و $Y = 0.006x - 0.007$ براساس غلظت‌های متفاوت کوئرستین محاسبه گردید و میزان ترکیبات فلاونوئیدی معادل کوئرستین در هر گرم پودر خشک اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گزارش شد (جعفری و همکاران، ۱۳۹۴).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl): برای انجام آزمایش فوق، از روش Molyneux (۲۰۰۳) استفاده شد. ابتدا محلول DPPH استاندارد ۰/۱ میلی‌مولار (در حلال متانول) تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی به ۱/۹ میلی‌لیتر محلول استاندارد تهیه شده اضافه و به آرامی تکان داده شد تا مخلوط شود و پس از آن به مدت نیم ساعت در دمای اتاق و در شرایط تاریکی نگهداری شد. در آخر جذب محلول استاندارد و نمونه‌ها در طول-موج ۵۱۷ نانومتر خوانده و در فرمول زیر قرار داده شد تا درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بدست آید (Butsat and Siriamornpun, 2010).

مقرون به صرفه فراهم گردد و هم از هدررفتن محصول جلوگیری شود. بنابراین در این مطالعه با توجه به تأثیر عوامل اقلیمی و محیطی بر میزان مواد مؤثره گیاهان، ترکیبات ثانویه گیاه دارویی آقطی در چند ارتفاع و منطقه متفاوت، و همچنین در اندام‌های مختلف این گیاه، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

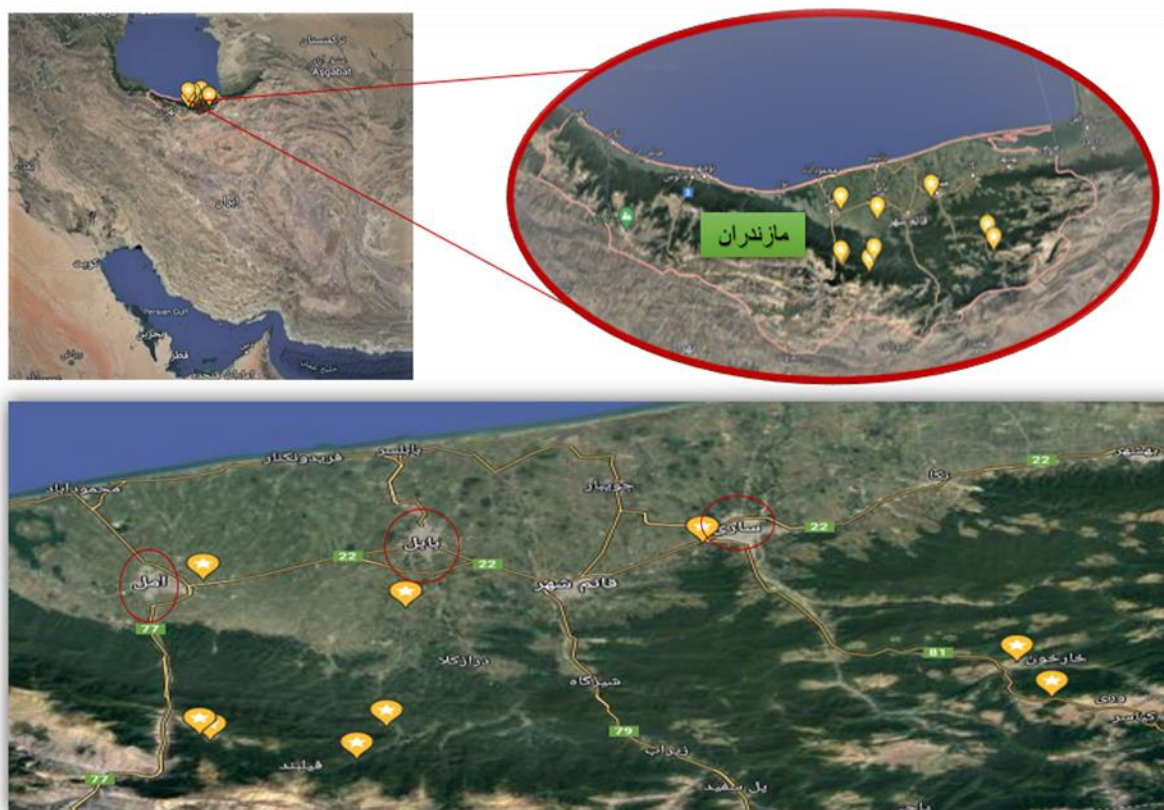
برای انجام این پژوهش، نمونه‌های برگ، ساقه، ریشه و میوه گیاه آقطی در سه ارتفاع ۱۰۰-، ۶۰۰-۵۰۰، ۱۰۰۰-۹۰۰ و از شهرستان‌های آمل، بابل و ساری واقع در استان مازندران (تصویر ۱)، جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال داده شد. سپس اندام‌های برگ، ساقه و ریشه با استفاده از ازت مایع و هاون چینی، پودر و به فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند و همچنین میوه این گیاه نیز در آون با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک و با استفاده از هاون چینی پودر گردید و تا زمان اندازه‌گیری آزمایشات، در یخچال معمولی در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موقعیت مناطق جمع‌آوری گیاهان، با استفاده از دستگاه موقعیت‌سنج (GPS) از نظر ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی تعیین گردید (جدول ۱).

عصاره متانولی: برای عصاره‌گیری به ازای هر ۰/۱ گرم نمونه، ۵ میلی‌لیتر متانول ۹۸ درصد اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفت و پس از آن، به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه حمام التراسونیک قرار داده شد تا محلول همگن شود. سپس از عصاره رویی جهت اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

اندازه‌گیری فنل: جهت اندازه‌گیری محتوای فنل کل، از معرف فولین سیوکالتو استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی به ۲۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتو ۱۰ درصد اضافه و چند ثانیه ورتکس شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷۰۰ میلی‌مولار به آن اضافه و به مدت دو ساعت در دمای اتاق نگه داشته و سپس در طول موج ۷۶۵ نانومتر، جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل spekol 2000 خوانده شد

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه گیاه آقطی

منطقه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	کاربری زمین
آمل (رشکلا)	۱۰۰-۰	"۱۴۳۶ ^۰ ۲۸N	"۲۴۵۲ ^۰ ۲۴E	زراعی
آمل (پاریمه)	۶۰۰-۵۰۰	"۳۰۳۶ ^۰ ۱۳N	"۳۶۵۲ ^۰ ۲۳E	مرتعی
آمل (پاشاکلا)	۱۰۰۰-۹۰۰	"۳۷۳۶ ^۰ ۱۲N	"۵۵۵۲ ^۰ ۲۴E	مرتعی
بابل (گتاب)	۱۰۰-۰	"۳۰۳۶ ^۰ ۲۵N	"۱۰۵۲ ^۰ ۳۹E	زراعی
بابل (لمسوکلا)	۶۰۰-۵۰۰	"۱۵۳۶ ^۰ ۱۳N	"۵۵۵۲ ^۰ ۳۸E	مرتعی
بابل (شورکش)	۱۰۰۰-۹۰۰	"۴۴۳۶ ^۰ ۰۹N	"۵۷۵۲ ^۰ ۳۵E	مرتعی
ساری (گرچی کلا)	۱۰۰-۰	"۴۴۳۶ ^۰ ۳۲N	"۱۳۵۳ ^۰ ۰۱E	زراعی
ساری (قادیکلا)	۶۰۰-۵۰۰	"۱۱۳۶ ^۰ ۱۹N	"۵۵۵۳ ^۰ ۲۳E	مرتعی
ساری (اسکارد)	۱۰۰۰-۹۰۰	"۰۳۳۶ ^۰ ۱۶N	"۴۰۵۳ ^۰ ۲۵E	مرتعی



تصویر ۱- مناطق نمونه برداری

دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) و دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات (K_2HPO_4) نیاز است که در نهایت ۱۶ میلی‌لیتر از محلول اول را به ۸۴ میلی‌لیتر محلول دوم اضافه کرده و pH آن را به ۷/۵ می‌رسانیم.

$$\text{درصد مهارکنندگی} = 1 - \frac{\text{عدد جذب نمونه}}{\text{عدد جذب کنترل}}$$

بافر استخراج (بافر فسفات): برای تهیه بافر فسفات ۰/۱ میلی‌مولار با pH=۷/۵، به دو محلول ۰/۲ مولار پتاسیم

تأثیر ارتفاع از سطح دریا، اندام و مناطق متفاوت روی این گیاه بود.

براساس نتایج مقایسه میانگین سه عامل ارتفاع، منطقه و اندام (شکل ۱)، بیشترین میزان فنل، در منطقه ساری با اختلاف زیاد نسبت به مناطق بابل و آمل مشاهده شد. میزان فنل در برگ با افزایش ارتفاع از سطح دریا، کاهش داشته ولی در سایر اندام‌ها این روند افزایشی بود.

براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین (شکل ۲)، مقدار فلاونوئید در اندام‌های میوه و برگ بیشتر از ریشه و ساقه بود. در همه اندام‌ها بجز برگ، با افزایش ارتفاع از سطح دریا، مقدار فلاونوئید افزایش داشته است. بیشترین مقدار فلاونوئید مربوط به اندام میوه، ارتفاع ۹۰۰-۱۰۰۰ و در منطقه ساری (۰.۲۳/ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) بود.

مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (شکل ۳) نشان داد که بیشترین درصد، مربوط به منطقه ساری، ارتفاع ۹۰۰-۱۰۰۰ و اندام برگ (۹۷/۲۲٪)، کمترین مقدار مربوط به اندام ریشه، ارتفاع ۱۰۰-۰ و در منطقه آمل (۶۳/۹۵٪) بود. روند تغییرات این متابولیت در ارتفاعات مختلف، این گونه بود که در هر سه منطقه و همه اندام‌ها، با افزایش ارتفاع، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش داشت.

آنزیم‌ها: نتایج مقایسه میانگین آنزیم کاتالاز گیاه دارویی آقطی در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف (شکل ۴)، نشان داد که این آنزیم در برگ و میوه گیاه، بیشتر از ساقه و ریشه آن فعالیت دارد. این آنزیم با افزایش ارتفاع از سطح دریا، بجز در اندام ریشه، در سایر اندام‌ها روند افزایشی داشت.

براساس نتایج مقایسه میانگین، اثر تیمارها بر آنزیم گایاکول پراکسیداز (شکل ۵)، بیشترین میزان این آنزیم در اندام ریشه مشاهده شد و کمترین میزان را میوه دارا بود. بیشترین مقدار در منطقه آمل، ارتفاع ۹۰۰-۱۰۰۰ در اندام ریشه (۵۳۳ واحد بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار مربوط به منطقه ساری، ارتفاع ۱۰۰-۰ و در اندام میوه (۰/۷ واحد بر گرم وزن تر) بود. این آنزیم همانند آنزیم کاتالاز، با افزایش ارتفاع از سطح دریا، بجز در اندام ریشه، در سایر اندام‌ها روند افزایشی داشت.

استخراج عصاره آنزیمی: ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات به ۰/۱ گرم نمونه، اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل Centurion با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴°C قرار داده شد. سپس از فاز رویی برای انجام آزمایشات استفاده شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌ها: برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز از روش Mahely و Chanes (۱۹۹۶)، برای اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز از روش Yoshimura و همکاران (۲۰۰۰) و برای سوپراکسید دیسموتاز از روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) استفاده شد.

در این مطالعه، از آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. فاکتورهای آزمایش شامل منطقه، ارتفاع از سطح دریا و اندام گیاهی بود. تجزیه واریانس با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد، استفاده شد.

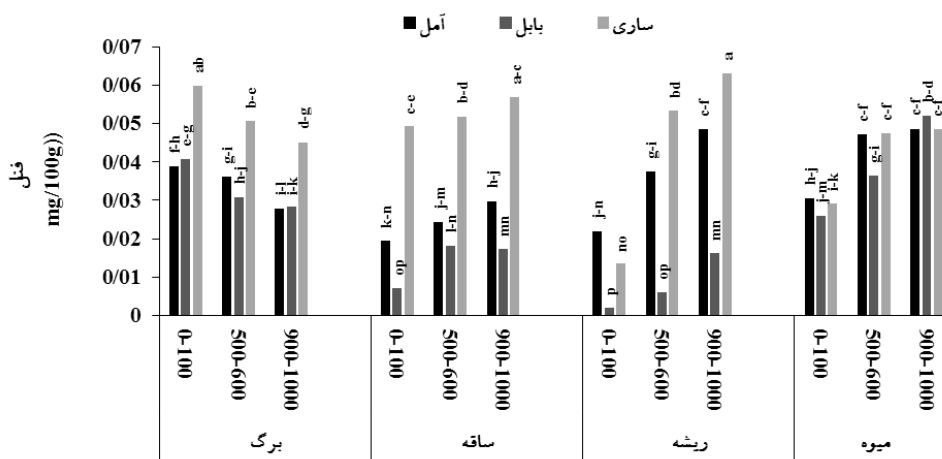
نتایج

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر ارتفاع و اندام، بر همه صفات معنی‌دار بود. اثر منطقه نیز بر همه صفات اندازه‌گیری شده به جز فلاونوئید و آسکوربات پراکسیداز، در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری نشان داد. همچنین اختلاف معنی‌داری در اثر متقابل منطقه و ارتفاع روی همه صفات اندازه‌گیری شده مشاهده شد. اثر متقابل منطقه و اندام بر همه صفات بجز آسکوربات پراکسیداز، اثر معنی‌داری نشان داد. اثر متقابل اندام و ارتفاع بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود در صورتی‌که بر فنل، فلاونوئید و آسکوربات پراکسیداز اثر معنی‌داری نشان نداد. اثر سه‌جانبه منطقه، اندام و ارتفاع، نیز بر همه متابولیت‌های اندازه‌گیری شده بجز فلاونوئید و آسکوربات پراکسیداز، اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت. نتایج بیانگر

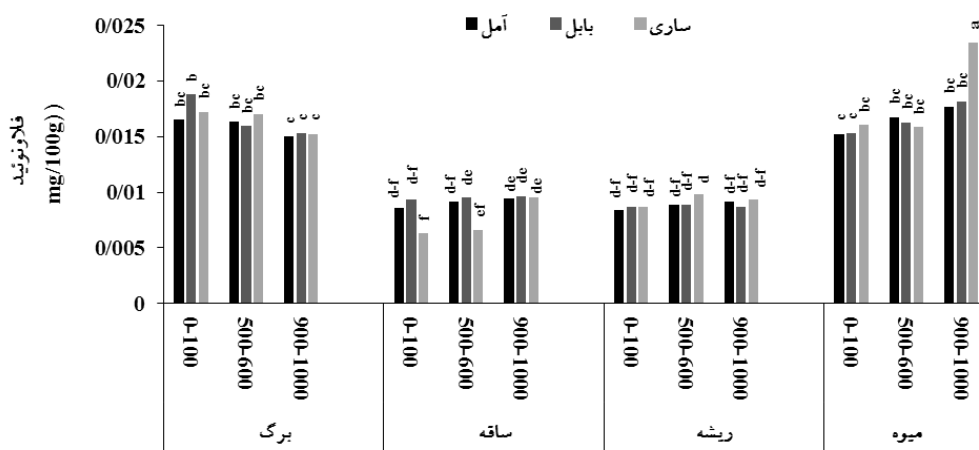
جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی مورد بررسی گیاه آقطی

منابع تغییر	درجه آزادی	فنل	فلاونوئید	ظرفیت آنتی اکسیدانی	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز
منطقه	۲	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۴۵/۴۷**	۱۰۶۷۸/۴۶**	۱۱۳۱/۷۲**	۳۷۱۹۳۷۶/۸ ^{ns}	۳۲۰۱/۱۴**
اندام	۳	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**	۶۰۲۰/۶۱**	۱۲۵۷۸۹/۳۶**	۵۶۰۶۱۴/۲۴**	۸۳۲۹۰۰۰۰**	۶۴۵۷۷۷/۱۲**
ارتفاع	۲	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۰۹*	۳۴۸/۹**	۵۹۷۳۴/۷۱**	۲۱۶۹۹/۸۴**	۶۵۲۸۰۰۰۰**	۳۳۲۵/۶۵**
منطقه × اندام	۶	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۰۷*	۳۸/۵۷**	۱۴۴۹۶/۴۲**	۴۴۴۹/۸۸**	۶۸۴۹۰۰۰۰ ^{ns}	۳۷۱۱**
اندام × ارتفاع	۶	۰/۰۰۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۶ ^{ns}	۱۱/۷۱**	۱۵۴۵۴/۸۸**	۱۲۹۷۹/۷۱**	۱۱۰۹۰۰۰۰ ^{ns}	۱۸۱/۱۳۵**
منطقه × ارتفاع	۴	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۱**	۱۹۸/۵۲**	۱۹۹۸۹/۱۶**	۱۱۲۹۷/۰۳**	۵۰۸۵۰۰۰۰**	۱۳۳۱**
منطقه × اندام × ارتفاع	۱۲	۰/۰۰۰۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۰۳ ^{ns}	۱۱/۵۲**	۸۱۷۸/۰۳**	۱۱۵۴۲/۸۸**	۲۶۳۲۰۰۰۰ ^{ns}	۱۷۸/۲۸**
خطا	۷۲	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۶۸	۷۰/۶۸	۱۰۱/۱۲	۷۳۸۸۰۰۰۰	۲۳/۸
ضریب تغییرات (%)		۱۲/۷۷	۱۱/۷۸	۰/۳۳	۱۴/۵۱	۹/۲	۱۸/۶۲	۴/۶۳

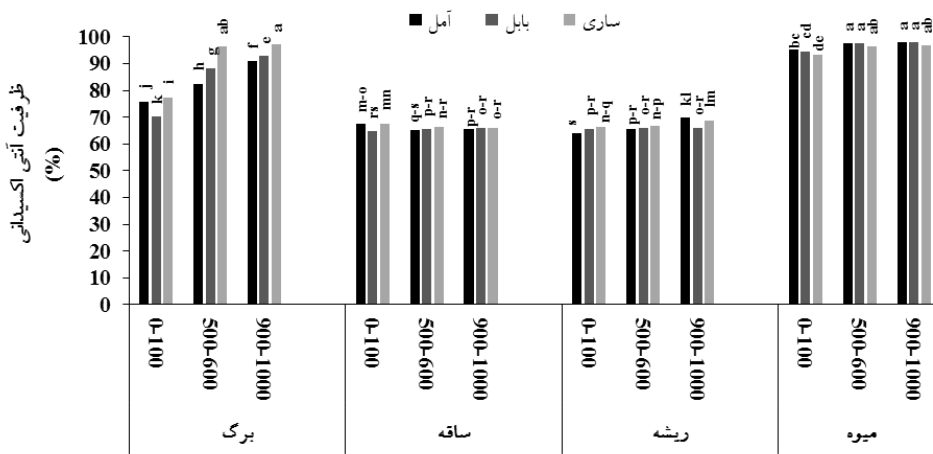
ns، * و **؛ به ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد است.



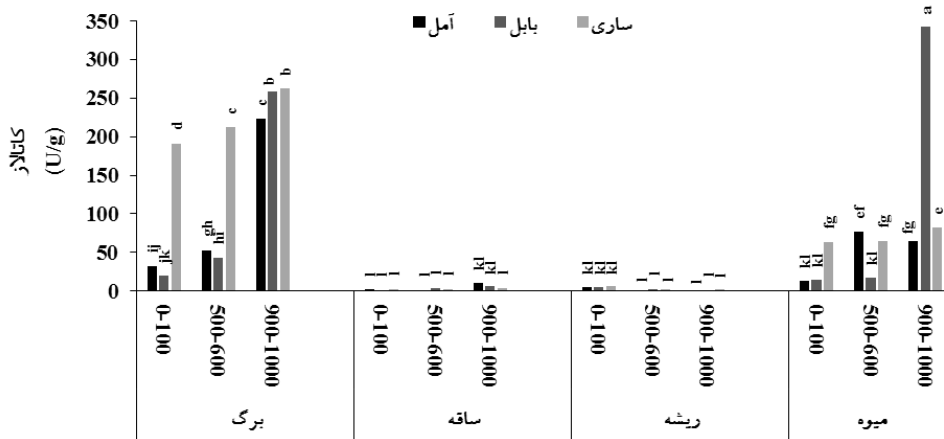
شکل ۱- مقایسه فنل در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف



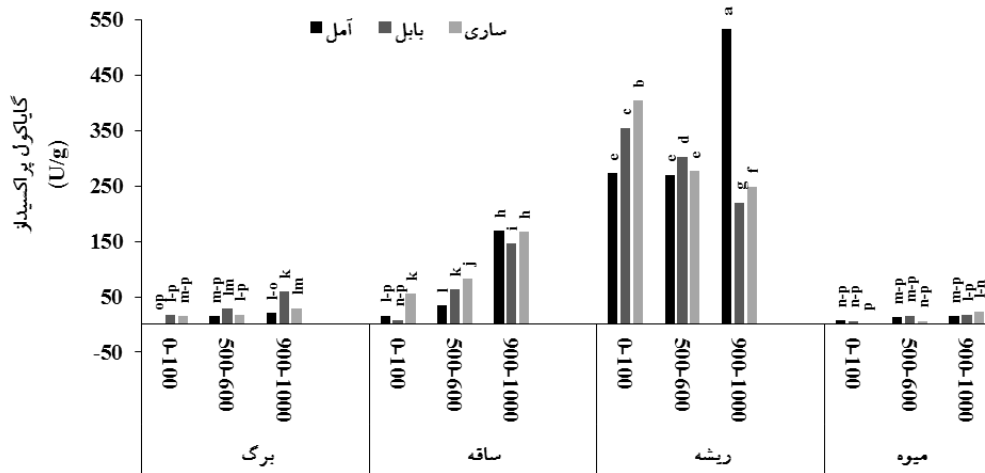
شکل ۲- مقایسه فلاونوئید در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف



شکل ۳- مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف

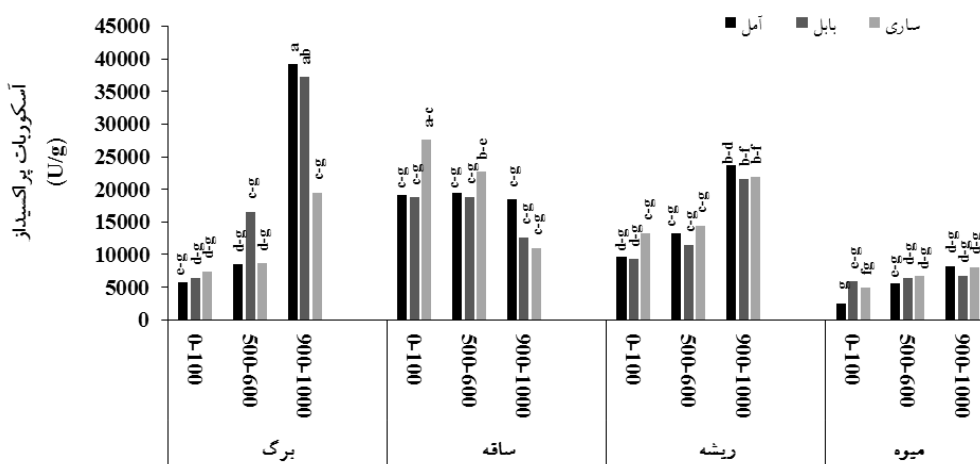


شکل ۴- مقایسه آنزیم کاتالاز در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف



شکل ۵- مقایسه آنزیم گایاکول پراکسیداز در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف

مقایسه میانگین آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شکل ۶) نشان داد که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، روند تغییرات در مقدار این



شکل ۶- مقایسه آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف



شکل ۷- مقایسه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ارتفاعات، اندام‌ها و مناطق مختلف

نتایج حاصل از برآورد ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه نشان داد (جدول ۳) که بالاترین همبستگی بین فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ($R^2=0/958$) در سطح احتمال یک درصد برقرار بود و همچنین آنتی‌اکسیدان با سایر متابولیت‌های مورد بررسی، همبستگی معنی‌داری داشت. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با آنزیم آسکوربات پراکسیداز همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($R^2=0/905$) نشان داد.

بحث

تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط مختلف رشدی گیاهان متفاوت است. بنابراین نوع و غلظت متابولیت‌های ثانویه تولید

آنزیم، افزایشی بود. این آنزیم برخلاف سایر آنزیم‌های اندازه‌گیری شده در همه اندام‌ها به مقدار قابل توجهی مشاهده شد.

نتایج مقایسه میانگین سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۷) نشان داد که بیشترین میزان این آنزیم در اندام میوه مشاهده شد و مقدار آن در سایر اندام‌های مورد بررسی بسیار کمتر از اندام میوه بودند. با افزایش ارتفاع از ۱۰۰- تا ۹۰۰-۱۰۰۰، روند مقدار این آنزیم در همه اندام‌ها کاهش بود. بیشترین مقدار این آنزیم در اندام میوه، ارتفاع ۱۰۰- منطقه بابل (۳۹۲) واحد بر گرم وزن تر) و کمترین میزان مربوط به اندام ریشه، ارتفاع ۹۰۰-۱۰۰۰ و منطقه بابل (۱۷/۱) واحد بر گرم وزن تر) بود.

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات بیوشیمیایی مورد بررسی در گیاه آقطی

فنل	فلاونوئید	آنتی‌اکسیدان	کاتالاز	گایاکول	آسکوربات	سوپراکسید
				پراکسیداز	پراکسیداز	دیسموتاز
فنل	۱					
فلاونوئید	۰/۳۸ ^{ns}	۱				
آنتی‌اکسیدان	۰/۴۶۸*	۰/۹۵۸**	۱			
کاتالاز	۰/۴۵۷*	۰/۸۰۴**	۰/۷۴۳**	۱		
گایاکول پراکسیداز	-۰/۲۸۱ ^{ns}	-۰/۷۱۵**	-۰/۶۹۵**	-۰/۶۰۹**	۱	
آسکوربات پراکسیداز	-۰/۲۲۵ ^{ns}	-۰/۶۱۷**	-۰/۷۷۱**	-۰/۳۲۷ ^{ns}	۰/۲۹۱ ^{ns}	۱
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۲۵۶ ^{ns}	۰/۶۲۸**	۰/۷۸۹**	۰/۲۳۶ ^{ns}	-۰/۴۵۹*	-۰/۹۰۵**

^{ns} و ^{*} به ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌دار بودن و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

شده در گیاه با دخالت عوامل بسیاری از جمله تنوع گونه گیاهی، مرحله رشد، فیزیولوژی، ژنوتیپ، عوامل محیطی (آب و هوا، ارتفاع از سطح دریا، خاک و موارد دیگر) در طول دوره رشد، روش‌های استخراج و اندازه‌گیری دچار نوسان می‌شوند (Isah, 2019). همچنین بعضی از این عوامل به عنوان تنش‌های محیطی محسوب می‌شود لذا با گسترش تنش‌های محیطی، میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان افزایش می‌یابد به همین دلیل گیاهانی که در مناطق کوهستانی رشد می‌کنند نسبت به گیاهان رشدیافته در مناطق پست، بیشتر در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند (کاغذلو و همکاران، ۱۳۹۶).

نتایج آزمایش حاضر نشان داد، عامل ارتفاع بر میزان متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار بوده است بطوری‌که میزان فنل و فلاونوئید با افزایش ارتفاع از سطح دریا، در اندام برگ کاهش یافته بود. در حالی‌که در سایر اندام‌ها این روند افزایشی بود. همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز با افزایش ارتفاع، افزایش نشان داد. همچنین نتایج تحقیق حاضر، اختلاف معنی‌داری را در اندام‌های مختلف گیاه آقطی و مناطق مختلف نمونه‌برداری، نشان داد بطوری‌که میزان فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه و برگ بیشتر از اندام‌های ساقه و ریشه بود. به علاوه، تأثیر متقابل این عوامل نیز مشاهده شد. مازندرانی و همکاران (۱۳۸۸)، اسدیان و همکاران (۱۳۹۰)، باباخانزاده سجیرانی و همکاران (۱۳۹۲)، نجار فیروزجایی و همکاران (۱۳۹۳) و

قنبری و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعاتشان در تأثیر ارتفاع و رویشگاه بر میزان ترکیبات فنلی کل و فلاونوئید گیاهان به ترتیب آقطی (*Sambucus ebulus L.*)، گل‌راعی (*Hypericum Sp.*)، گل‌گاوزبان (*Echium*)، گزنه (*Urtica dioica L.*) و علف مار (*Capparis spinosa*)، بیان داشتند که بیشترین میزان این متابولیت‌ها در ارتفاعات مشاهده شد که نتایج این محققان با نتایج تحقیق حاضر در تأثیر ارتفاع بر میزان فنل و فلاونوئید، در اندام‌های ساقه، ریشه و میوه آقطی مشابه بوده است. چورلی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی خصوصیات بیوشیمیایی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) در رویشگاه‌های مناطق سمنان، خراسان رضوی و جنوبی مشخص کردند که کمترین میزان فنل کل را منطقه مشهد (ارتفاع ۱۴۶۴ متر) و بیشترین میزان را منطقه شاهرود (ارتفاع ۲۰۷۱ متر) داشت که دلیل آن را ارتفاع بالای شاهرود دانستند. همچنین بیشترین میزان فنل و فلاونوئید را در اندام برگ مشاهده کردند در حالی‌که اندام برگ کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را داشته و بیشترین میزان این متابولیت را مربوط به اندام گل اعلام کردند.

برخلاف این تحقیقات، نتایج تحقیق محمدی‌پور (۱۳۹۲) و کاغذلو و همکاران (۱۳۹۶) که بر گیاه آقطی داشتند نتیجه گرفتند که بیشترین میزان فنل کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در ارتفاع کم مشاهده شد و اظهار داشتند که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، از میزان این متابولیت‌ها کاسته

داشت درحالی‌که آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) روند کاهشی نشان داد. SOD، اولین سد دفاعی گیاهان برای حذف رادیکال‌های آزاد است. این آنزیم نقش اصلی را در سیستم دفاعی آنزیمی در سوپراکسید دارد (Gill and Tuteja, 2010).

رضایی‌نیا و همکاران (۱۳۹۸) و نعیمی و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی تأثیر تنش خشکی بر میزان آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان به‌ترتیب، پنج ژنوتیپ گندم دوروم (*Triticum durum*) و پنج ژنوتیپ نخود (*Cicer arietinum*)، دریافتند که با افزایش سطوح تنش خشکی، میزان این آنزیم‌ها در این گیاهان افزایش داشت که نشان‌دهنده مقابله گیاه با تنش وارده و تلاش برای ایجاد تطابق با شرایط محیطی است. Marie و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش شوری بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در اندام برگ ۷۵٪ نسبت به شاهد (بدون تنش) کاهش داشت و در غلظت‌های بالاتر میزان این کاهش بیشتر بود. براساس نتایج Kuk و همکاران (۲۰۰۳)، گایاکول پراکسیداز پس از کاتالاز، در درجه دوم اهمیت در حذف H_2O_2 در جریان تنش، ایفای نقش می‌نماید. بنابراین برقراری ارتباط بین افزایش این آنزیم با تحمل بیشتر تنش دور از انتظار نخواهد بود. افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با ایجاد تنش شوری در چغندر قند (*Beta vulgaris*) (Bor et al., 2013)، همچنین تنش خشکی در گیاه نخود (*Cicer arietinum*) (رضایی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۸) گزارش شد.

آسکوربیک اسید به‌طور مستقیم به سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن منفرد متصل و آنها را پالایش می‌کند و H_2O_2 را از طریق آنزیم آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با ایجاد تنش شوری در چغندر قند (*Beta vulgaris*) (Bor et al., 2013) و زیره سبز (*Cuminum cyminum*) (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۹) گزارش شد. برخلاف این تحقیقات، افشارمحمدیان و انصاری پیری (۱۳۹۵) در تحقیقی مبنی بر تأثیر سطوح مختلف تنش سرما بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاه استویا (*Stevia*

شده است. همچنین باقری و همکاران (۱۴۰۰) در تحقیقی بر گیاه ماهور تماشایی (*Verbascum Sp.*) بیان داشتند که بیشترین میزان فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در اندام گل، و در ارتفاع ۲۱۰۰ متر مشاهده شد و با افزایش ارتفاع به ۲۷۰۰ متر، این متابولیت روند کاهشی داشته است. تفاوت در نتایج تحقیقات مختلف در موضوعی مشابه، نشان‌دهنده این است که عوامل دیگری به غیر از تغییر ارتفاع از سطح دریا از جمله کیفیت خاک، مرحله رشدی گیاه، آب و هوا، روش استخراج و اندازه‌گیری و دیگر عوامل، بر میزان کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه مؤثرند. نیکخواه امیرآباد و همکاران (۱۳۹۵) در تحقیقی که به تأثیر ارتفاع و مرحله رشد بر گیاه چویل (*Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss.) داشتند، نتیجه گرفتند که میزان عملکرد آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر ارتفاع و مراحل رشد گیاه قرار داشت بطوری‌که در مرحله گلدهی دارای بیشترین مقدار بوده و با افزایش ارتفاع، میزان آنتی‌اکسیدان نیز افزایش یافت.

مکانیسم دفاعی گیاه در مقابله با تنش‌ها، فعال شده و منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد خواهد شد. بنابراین گیاه برای ممانعت از آسیب به پروتئین‌ها، از دو طریق آنزیمی و غیرآنزیمی، مقدار رادیکال آزاد را کنترل می‌کند. در روش غیرآنزیمی، کمبود الکترون رادیکال‌های آزاد از طریق بیوستز آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل فلاونوئید جبران می‌شود و مهار آن را در پی دارد که به عنوان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شناخته می‌شود. از طرفی با افزایش ارتفاع از سطح دریا، دمای هوا کاهش و میزان اشعه U-V افزایش می‌یابد که باعث فعال شدن یا غیرفعال شدن بعضی از آنزیم‌ها می‌شود و در نتیجه میزان آنها افزایش یا کاهش می‌یابد (Alkadi, 2020; Caunii et al., 2015). نتایج مربوط به آزمایش آنزیم‌ها نشان داد که ارتفاع از سطح دریا، منطقه، اندام و اثرات دوگانه و سه‌گانه این عوامل بر آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در سطح احتمال یک درصد بسیار معنی‌دار بود. آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با افزایش ارتفاع از سطح دریا افزایش

طبق نتایج بدست آمده در این تحقیق، صفات مورد بررسی در هر سه منطقه و هر چهار اندام، تحت تأثیر تفاوت ارتفاع از سطح دریا قرار گرفتند بدین معنا که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، متابولیت‌ها از جمله ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روندی افزایشی داشته است که به دلیل اهمیت این ترکیبات که جز مهم‌ترین ترکیبات ثانویه گیاهان دارویی هستند می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی آقطی، در گیاهان روئیده در ارتفاعات بالا وجود دارد. بنابراین طبیعت، خصوصاً میزان ارتفاع در مناطق کوهستانی، بهترین ویژگی تأثیرگذار برای بدست آوردن ترکیبات دارویی غلیظ‌تر و با ماهیت مطلوب‌تر در گیاهان است.

همچنین در تحقیق حاضر، آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، با افزایش ارتفاع از سطح دریا، تغییر کرده است که نشان‌دهنده وجود تنش‌های محیطی، در ارتفاعات است. در تحقیق حاضر، که به تأثیر ارتفاع بر برخی متابولیت‌های ثانویه صورت گرفت، عوامل دیگری علاوه بر ارتفاع از سطح دریا، بر مسیر بیوستز متابولیت‌های ثانویه مطرح می‌شود که از جمله می‌توان به عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی اشاره کرد. اکوتیپ خود شامل برهم‌کنش عوامل مختلفی مانند: آب و هوا، خاک، دما، بارندگی و موارد مشابه دیگر است و همه این عوامل در رشد و نمو گیاه و مسیرهای منتج به تولید متابولیت‌ها مؤثرند که به همراه اثر ارتفاع باید مورد بررسی قرار گیرد.

با توجه به پراکنش گیاه دارویی آقطی در کنار جاده‌ها، چمنزارها و در مناطق کوهستانی، همچنین دسترسی آسان، به نظر می‌رسد ارتفاع از سطح دریا، منطقه و اندام، تأثیر قابل توجهی در میزان ترکیبات دارویی این گیاه دارد لذا به منظور استخراج، فرآوری و استفاده از مواد مؤثره این گیاه، توجه به موارد مذکور توصیه می‌شود.

rebaudiana Bertoni)، گزارش کردند که، اختلاف معنی‌داری در مطالعه آنها مشاهده نشد. گزارش‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد گونه‌های گیاهی براساس شدت تنش، واکنش‌های متفاوتی دارند یعنی ممکن است میزان آن‌ها افزایش یابد، کاهش یابد و یا حتی بدون تغییر باقی ماند و یا روند افزایشی-کاهشی یا کاهشی-افزایشی داشته باشند (Abid et al., 2018; Gunes et al., 2008).

تجزیه ضرایب همبستگی به وضوح نشان می‌دهد اجزای آنزیمی آنتی‌اکسیدان، که از اجزای بسیار مهم ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده هستند، با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی) و فلاونوئید در گیاه دارویی آقطی همبستگی بالایی دارند که نشان‌دهنده ارزش دارویی و مقاومت بالای این گیاه به تنش‌ها است. همچنین بین فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری برقرار بود که مطابق با تحقیقات Velioğlu و همکاران (۲۰۰۰)، Cai و همکاران (۲۰۰۴)، و سپهری‌فر و حسنلو (۱۳۸۸) بود. آنها گزارش کردند که بین میزان فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی رابطه‌ای مستقیم و معنی‌داری وجود دارد. اثرات آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی تا حدودی به حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنها نسبت داده می‌شود که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی دیده می‌شود (Mathew and Abraham, 2006). در اکثر موارد افزایش فنل‌ها و فلاونوئیدها باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود بجز در موارد معدودی مثل گل پامچال (*Primula vulgaris*)، مهر سلیمان (*Polygonatum*) و موارد دیگر، که با افزایش ارتفاع و کاهش دمای هوا، بعضی از آنزیم‌های مؤثر در تولید فنل‌ها و فلاونوئیدها غیرفعال می‌شوند و میزان آنها کاهش می‌یابد (Alkadi, 2020; Caunii et al., 2015).

نتیجه‌گیری

منابع

اسدیان، قوام‌الدین، راهنورد، آپتین، پورشمسیان، خلیل، قربانپور، منصور، و تقوی، مریم السادات (۱۳۹۰). بررسی تنوع اجزای بیوشیمیایی *Hypericum perforatum* L. رشد یافته در شمال ایران. *مجله تحقیقات علوم کشاورزی*، ۷(۱)، ۲۷-۳۶.

<https://sid.ir/paper/450686/fa>

افشارمحمدیان، منصور. و انصاری پیری، زهرا. (۱۳۹۵). تأثیر سطوح مختلف سرما روی پروتئین کل، پرولین و فعالیت برخی از آنتی اکسیدان‌های آنزیمی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni). پژوهش‌های سلولی و مولکولی، ۳۰(۲)، ۱۴۰-۱۳۰.

DOR: 20.1001.1.23832738.1396.30.2.3.4

باباخانزاده سجیرانی، اسماعیل، هادیان، جواد، عبدوسی، وحید، و لاریجانی، کامبیز (۱۳۹۲). بررسی برخی از اثرات رویشگاه‌های مختلف روی میزان ترکیبات فلاونوئید و آنتوسیانین گیاه گل‌گاوزبان ایرانی در منطقه اشکورات استان گیلان. همایش ملی گیاهان دارویی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، آمل.

باقری، زهرا، فروزه، محمدرحیم، مازندرانی، معصومه، شهیری طبرستانی، هدی، و آتشی، صادق (۱۴۰۰). اثر ارتفاع، حلال، نوع اندام گیاه و روش استخراج بر برخی ویژگی‌های فیتوشیمیایی گل ماهور تماشایی در مراتع چهارباغ استان گلستان. مرتع، ۱۵(۱)، ۸۴-

<https://sid.ir/paper/390039/fa> ۹۷

جعفری، ناصر، نادری، پوراندخت و ابراهیم‌زاده، محمدعلی (۱۳۹۴). سنجش محتوای فنل و فلاونوئید تام و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی (*Ficus carica*) و لرگ (*Pterocarya fraxinifolia*) عصاره برگ درختان انجیر با روش اسپکتروفتومتری و

کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا. زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۷(۲۵)، ۱-۱۶. DOR:

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088264.1394.7.25.2.2>

جمشیدی، مرجان، مازندرانی، معصومه، و فتحی آزاد، فاطمه (۱۳۸۹). بررسی تأثیر ارتفاع بر میزان متابولیت‌های ثانویه میوه گیاه آقطی (*Sambucus ebulus* L.). همایش ملی گیاهان دارویی.

چورلی، صدیقه، خراسانی‌نژاد، سارا، همتی، خدایار، و کاشفی، بهاره (۱۳۹۵). بررسی محتوای مورفولوژیکی، آنتی‌اکسیدانی و اسانس گیاه دارویی (*Stachys lavandulifolia* Vahl.) در رویشگاه‌های استان‌های سمنان، خراسان شمالی و رضوی. مجله فیزیولوژی

محیطی گیاهی، ۱۱(۴۱)، ۴۱-۵۲. <https://sid.ir/paper/506263/fa>

رضایی‌نیا، مریم، بی‌همتا، محمدرضا، پیغمبری، سید علی، و عباسی، علی‌رضا (۱۳۹۸). تأثیر تنش خشکی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و صفات فیزیولوژیکی در ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.). پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱۱(۳۰)،

۱۱-۲۲. <http://dx.doi.org/10.29252/jcb.11.30.11>

سپهری‌فر، روشنک، و حسنلو، طاهره (۱۳۸۸). بررسی ترکیبات پلی‌فنلی، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدهای تام و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی قره‌قاط (*Vaccinium martostaphylos* L.) جمع‌آوری شده از چهار منطقه مختلف ایران. فصلنامه

گیاهان دارویی، ۹(۱)، ۶۶-۷۴. DOR: <http://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2010.9.33.8.4>

فروزه، محمدرحیم، و میردیلانی، سیده زهره. (۱۳۹۸). بررسی تأثیر عوامل محیطی بر تغییرات ترکیب شیمیایی اسانس گونه‌های دارویی (*Achillea millefolium*). مجله علمی پژوهشی مرتع، ۱۳(۴)، ۵۹۶-۶۰۹. <https://sid.ir/paper/520156/fa>

قربانلی، مه‌لقا، احمدی، فریده، منفرد، اعظم، و بخشی خانیکی، غلامحسین (۱۳۸۹). اثر تنش شوری و برهم‌کنش آن با آسکوربات بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پرولین و مالون دی‌آلدئید در گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.)

چهار هفته پس از جوانه‌زنی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۸(۱۵۵)، ۱۴-۲۷. <https://sid.ir/paper/105519/fa>

قنبری، علی، عظیمی، محمدرضا، رفیعی، علی‌رضا، بی‌پروا، پوریا، و ابراهیم‌زاده، محمدعلی (۱۳۹۹). تغییر محتوی فیتوشیمیایی گیاه دارویی علف مار (*Capparis spinosa*) جمع‌آوری شده از خرد اقلیم‌های مختلف. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۹(۳۹)، ۱۶۵-۱۷۸.

DOR: <http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1399.9.39.18.7>

کاغذلو، زهرا، همتی، خدایار، و خراسانی‌نژاد، سارا (۱۳۹۶). اثر ارتفاع بر برخی متابولیت‌های ثانویه اندام‌های مختلف گیاه آقطی

- (*Sambucus ebulus* L.) در سه شهر در استان گلستان. فیزیولوژی محیطی گیاهی (پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران)، ۱۲(۳)، ۱-۱۳. DOR: <https://dorl.net/dor/20.1001.1.76712423.1396.12.47.3.5>
- کریمیان، وحید، وهابی، محمدرضا، فضیلتی، محمد، و ترکش اصفهانی، مصطفی (۱۳۹۱). تأثیر عوامل اکولوژیکی بر ترکیب شیمیایی *Verbascum songaricum* Schrenk. مجله گیاه پزشکی، ۳(۳)، ۱۹۱-۱۹۸. <https://sid.ir/paper/193792/fa>
- کریمیان، وحید، وهابی، محمدرضا، فضیلتی، محمد، و ترکش اصفهانی، مصطفی (۱۳۹۲). بررسی ویژگی‌های اکولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه خرگوش *Verbascum cheirantifolium* Boiss در اکوسیستم‌های مرتعی شهرستان دنا. نشریه حفاظت زیست-بوم گیاهان، ۱(۱)، ۳۳-۴۸. URL: <http://pec.gonbad.ac.ir/article-1-41-fa.html>
- مازندرانی، معصومه، جمشیدی، مرجان، و فتحی آزاد، فاطمه (۱۳۸۸). بررسی مهمترین مواد مؤثره ثانویه گیاه دارویی آقطی (*Sambucus ebulus* L.) در دو رویشگاه مختلف استان مازندران. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، ۶(۱)، ۵۸-۶۷. <https://sid.ir/paper/185583/fa>
- محمدی‌پور، سحر (۱۳۹۲). اثر ارتفاع و اکوتیپ بر روی برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی آقطی. کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
- مشایخی، کامبیز، و آتشی، صادق (۱۳۹۳). روش‌های تحلیل فیزیولوژی گیاهی (بررسی قبل و بعد از برداشت)، تحقیقات آموزش کشاورزی، گرگان.
- نجار فیروزجایی، مصطفی، همتی، خدایار، خراسانی‌نژاد، سارا، دارایی گرمه‌خانی، امیر، و باقری‌فرد، امین اله (۱۳۹۳). اثر ارتفاع بر خصوصیات مورفولوژیکی برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) در استان‌های مازندران و گلستان. نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، ۹(۵)، ۱-۱۱. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.76712423.1393.9.35.1.8>
- نعیمی، طاهره، فهمیده، لیلا، و فاخری، براتعلی (۱۳۹۸). بررسی بیان ژن TaNAC2A و سطوح آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز پنج ژنوتیپ گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) تحت تنش خشکی. مقاله پژوهشی اصلاح نباتات زراعی، ۱۲(۳۳)، ۲۸-۲۰. <https://sid.ir/paper/181077/fa>
- نیکخواه امیرآباد، حمیده، حسینی، بهمن، قوستا، یوبرت، و فتاحی، محمد (۱۳۹۵). تأثیر ارتفاع و مراحل مختلف فنولوژیکی بر خواص فیتوشیمیایی و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی گیاه دارویی (*Ferulago angulate* (Schlecht) Boiss.) از ارتفاعات دنا. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۷(۵)، ۱۶-۲۹. <https://sid.ir/paper/247889/fa>
- Abid, M., Ali, S., Qi, L. K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D., & Dai, T. (2018). Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Scientific Reports*, 8(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21441-7>.
- Alkadi, H. A. (2020). Review on free radicals and antioxidants. *Journal of Infectious Disorders Drug Targets*, 18, 16-26. <https://doi.org/10.2174/1871526518666180628124323>.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Journal of Analytical biochemistry*, 44, 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8).
- Bor, M., O., Zdemir F., & Turkan, I. (2003). The effect of alt stre on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of suger beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beet (*Beta maritime* L.). *Journal of Plant Science*, 164, 77-84. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00338-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00338-2).
- Butsat, S., & Siriamornpun, S. (2010). Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk bran and endosperm of Thai rice. *Journal of Food chemistry*, 119, 606-613. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.001>.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plant associated with anticancer. *Journal of Life Sciences*, 74, 2157-2184. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.047>.
- Caunii, A., Butu, M., Rodino, S., Motoc, M., Negrea, A., Samfira, I., & Butnariu, M. (2015). Isolation and separation of inulin from *Phalaris arundinacea* roots. *Journal of Revista de Chimie*, 66, 472-476. <http://www.revistadechimie.ro>.
- Chanes, B., & Mahely, A. C. (1996). Assay of catalase and peroxidase. In: *Methods in Enzymology* (eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. D.) Pp.764-791. Academic Press, New York.

- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food Drug Analysis*, 10, 178-82. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
- Fille cache, A., Aliabadi, A., Farzane, H., Borzooei, M., & Adadrasi, A. (2012). Ecology study of (*Salvia leriifolia*) in Sabzevar. Congress of Horticultural Sciences. Bu-Ali Sina University.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemtry*, 48(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Gunes, A., Pilbeam, D. J., Inal, A., & Coban, S. (2008). Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39(13), 1885-1903. <https://doi.org/10.1080/00103620802134651>.
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Journal of Biological Research*, 52, 1-25. <http://dx.doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>.
- Kuk, Y. I., Shin, J. S., Burgos, N. R., Hwang, T. E., Han, O., Cho, B. H., Jung, S., & Guh, J. O. (2003). Antioxidative enzyme offer protection from chihing damage in rice plants. *Journal of Crop Science Society of America*, 43, 2109-2117.
- Marie, N., Mannehb, B., Cissokoc, M., Dramea, N., Kakaid, R. G., Boccoa, R., Baimeya, H., & Wopereisa, M. (2010). Drought resistance in an interspecific backcross population of rice (*Oryza* spp) derived from the cross W Ab56-104 (*O. sativa*) × CG14 (*O. glaberrima*). *Journal of Plant Science*, 179, 364-373. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.06.006>.
- Mathew, S., & Abraham, T. E. (2006). In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Journal of Food Chemistry Toxicology*, 44, 198-206. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.06.013>.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., Robards, K., & Stadt man, E. R. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Journal of Food Chemistry*, 73, 73-84. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0).
- Molyneux, P. (2003). The use of the stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, 26, 211-219.
- Noctor, G., & Foyer, Ch. (1998) Hedrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Journal of Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>.
- Sharma, A., Jha, A. M., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plant under stressful conditions. *Journal of Botany*, 26, 1-26. doi:10.1155/2012/217037.
- Tasinov, O., Kiselova-Kaneva, Y., & Ivanova, D. (2013). *Sambucus ebulus* - from traditional medicine to recent study. *Journal of Scripta Scientifica Medica*, 45, 36-42. <http://dx.doi.org/10.14748/ssm.v45i2.319>.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (2000). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products agricultural. *Journal of Food Chemistry*, 46, 37-41. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>.
- Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T., & Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Journal of Plant Physiology*, 123, 223-233. <https://doi.org/10.1104/pp.123.1.223>.

Effect of altitude on some secondary metabolites of the medicinal plant (*Sambucus ebulus* L.) in three different habitats of Mazandaran province

Roghayeh Polaki Khoshkroudi, Nad Ali Bagheri*, Nad Ali Babaeian Jelodar

Biotechnology Department of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Received: 25/11/2022, Accepted: 17/01/2023)

Abstract

Aqti (*Sambucus ebulus* L.) is one of the valuable medicinal plants that has a wide distribution along the forests, roadsides and meadows of northern Iran. Different organs of the plant, including leaf, stem, root and fruit, were collected to investigate the effect of elevation on some biochemical compounds, including phenol, flavonoid, antioxidant capacity and catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD). The sampling was carried out in late summer in Sari, Babool and Amol districts and at elevations of 0-100, 500-600 and 900-1000 meters above sea level with three replications in the form of a completely random design. The results indicated that elevation and the interaction of elevation and region had a significant effect on the amount of all secondary metabolites examined. With the increase in elevation, the amounts of CAT, GPX and APX enzymes have increased. Also, the antioxidant capacity has increased with the increase in elevation above sea level. Considering that these compounds are among the most important secondary compounds in medicinal plants, it can be concluded that the most effective compounds of the Aqti medicinal plant are found at high elevations. The highest correlation was determined between antioxidant capacity and flavonoid ($r = 0.958$); antioxidant capacity showed a significant correlation with all investigated traits ($P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$). In general, the results show that the medicinal plant Aqti is rich in antioxidant properties and can be used as a plant source of antioxidant compounds in the food and medicinal industries.

Keywords: *Sambucus ebulus* L., Enzyme, Phenolic compounds, Antioxidant capacity, Flavonoid, Elevation gradient

Corresponding author, Email: bagherinadali@yahoo.com