

بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی، آناتومیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی چوچاق (*Eryngium caucasicum* Trautv.)

نگار طالعی^۱، یوسف حمید اوغلی^{۲*}، جمالعلی الفتی^۲ و مهدی زارعی محمدآباد^۳

^۱ گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان، ایران

^۲ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ایران

^۳ گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵)

چکیده

Eryngium caucasicum (چوچاق) از خانواده *Apiacea* بومی نواحی شمالی ایران با خاصیت دارویی و غذایی قابل توجهی است. در این پژوهش ویژگی‌های مورفولوژیکی و آناتومیکی برگ، دم برگ، ساقه و ریشه چوچاق با میکروسکوپ نوری، همچنین میزان فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر و آنالیز ترکیبات اسانس بخش هوایی با استفاده از دستگاه GC و GCMS ارزیابی شد. بررسی‌ها نشان داد مزوفیل برگ‌های گیاه دو لپه‌ای چوچاق در دو طرف ناحیه فوقانی و تحتانی برگ زیر اپیدرم از پارانشیم نردبانی و در مرکز پارانشیم اسفنجی وجود دارد. همچنین آرایش مشخص بافت مکانیکی کلانشیم، به ویژه در برگ‌ها، چین و چروک‌های مشخص در کوتیکول برگ نیز دیده می‌شود. ساقه و دمگل دارای شیارهای طولی و سلول‌های کلانشیم هستند. آثرانشیم در ساقه و ریشه وجود دارد، ولی اسکلرانسیم در هیچ یک از قسمت‌های مورد مطالعه گیاه دیده نشد. ذرات اگزالات کلسیم و کانال‌های ترشحی در تمام قسمت‌های مورد مطالعه مشاهده شد. اندام هوایی چوچاق دارای ۵۳/۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک فلاونوئید، ۴۸/۷۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک فنل و ۶۲/۹۷ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. میزان اسانس استخراج شده از اندام‌های هوایی ۳۷ درصد و عمده ترین ترکیبات موجود در اسانس شامل Piperitone (۴۸/۷۸ درصد)، β -Sesquiphellandrene (۱۲/۶۴ درصد)، (Z)-Falcarinol (۷/۸۵ درصد) و β -Farnesene (۶/۳۶ درصد) بود.

کلمات کلیدی: آناتومی، آنتی‌اکسیدان، چوچاق، مورفولوژی، GCMS

مقدمه

نقاط آسیا نیز معرفی شده است (Njenga, 1995). تعداد ۹ گونه از این گیاه علفی خاردار، در سراسر ایران پراکنده است. رایج‌ترین آنها *E. caucasicum*، *E. billardieri* و *E. bungei* هستند (کاشفی و همکاران، ۱۳۹۴). چوچاق (*Eryngium caucasicum*) گیاهی است علفی و چند ساله با برگ‌های خاردار

جنس *Eryngium* از ۲۳۰-۲۵۰ گونه تشکیل شده است و از نظر طبقه‌بندی پیچیده‌ترین و بزرگترین جنس از خانواده *Apiaceae* است. این جنس در سراسر جهان، عمدتاً در اروپا، آفریقا، قاره آمریکا و استرالیا گسترده است و در بسیاری از

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: hamidoghli@yahoo.com

و نقره‌ای و گل‌های تابستانی کوچک که در شمال ایران، ترکیه، قفقاز، آسیای مرکزی، افغانستان و پاکستان می‌روید و معمولاً در چمنزارها، مراتع و کنار جاده‌ها یافت می‌شود. برگ چوچاق خوراکی بوده و برای طعم‌دادن به غذا استفاده می‌شود، اما در مرحله گلدهی به دلیل زبری و خاردار شدن قابل استفاده نیست. چوچاق برای درمان فشار خون، کاهش قند خون، مشکلات گوارشی، آسم، سوختگی، تب، اسهال، مالاریا و غیره استفاده می‌شود (محمدی‌پور و همکاران، ۱۳۹۸؛ بویه و همکاران، ۱۳۹۱). تجزیه و تحلیل فیتوشیمیایی نشان داده که گونه‌های متعلق به جنس *Eryngium* منبع غنی فلاونوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها و تری‌ترپنوئیدها هستند. به دلیل داشتن فنل و فلاونوئید فراوان، پتانسیل زیادی در دفع رادیکال‌های اکسید نیتریک دارد که از آن در داروهای مانند آفرودیسیاک (داروی تقویت جنسی)، نروین (آرامش‌بخش) استفاده می‌شود (کاشفی و همکاران، ۱۳۹۴). علاوه بر این، *Eryngial* یک ترکیب فعال زیستی از *Eryngium* است که دارای اثر ضدباکتریایی قابل توجهی است (Erdem et al., 2015).

مطالعه صفات تشریحی و ریختی یکی از راه‌های تحقیق در تاکسونومی مدرن است. گروه‌های متعدد گیاهی وجود دارند که بر اساس صفات تشریحی آن‌ها را از یکدیگر متمایز کرده‌اند. از متداول‌ترین صفات تشریحی، ساختمان برگ و ساقه و بعضی صفات پوششی را می‌توان نام برد. به علت کثرت گیاهان و لزوم طبقه‌بندی، تاکسونومیست‌ها گیاهان مشابه را در یک تیره جای می‌دهند و از خصوصیات رویشی، زایشی و طبقه‌بندی آن‌ها استفاده می‌کنند. امروزه به علت اینکه صفات تشریحی خیلی مطمئن‌تر از صفات ظاهری هستند، لذا استفاده از مطالعات میکروسکوپی در طبقه‌بندی پیشنهاد می‌شود (Metcalf, 1963; Metcalf, 1979)، زیرا ساختار داخلی گیاه معمولاً کمتر از ظاهر آن تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد. شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌های متعلق به جنس *Eryngium* عمدتاً به دلیل پراکنش گسترده و تنوع گونه‌ای که تغییرات مورفولوژیکی و ژنتیکی بسیاری را با ویژگی‌های یکپارچه نشان می‌دهد، مشکل است (Raman et al., 2021).

(Calvino et al., 2008). در نسخه کنونی فارماکوپه هومیوپاتی ایران، نام‌های *E. caeruleum*، *E. caucasicum* و *E. pskemense* به صورت مترادف به کار رفته است (مظفریان، ۱۳۸۶). در پژوهشی (Raman et al., 2021) آناتومی *Eryngium yuccifolium* مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد برگ‌های این گونه بیشتر به برگ تک لپه‌ای‌ها شباهت دارد و دارای رگبرگ‌های موازی و پرزهای حاشیه‌ای با فاصله است. گیاه *Eryngium campestre* دارای برگ‌های با کوتیکول ضخیم و پارانشیم اسفنجی نازک است. همچنین آرایش مشخص بافت مکانیکی کلانشیم (به ویژه در برگ‌ها)، چین و چروک‌های مشخص در کوتیکول برگ، آوندها با تزئینات حلقه‌ای خاص را گزارش کردند. در ریشه و ساقه، لوله‌های ترش‌چی و ذرات اگزالات کلسیم به مقدار زیاد مشاهده شد. علاوه بر این، در ریشه چینش بافتی مشخصی برای ساخت ریشه ثانویه، اشعه‌های آوند چوبی، لوله‌های شیرابه‌ای، پریدرم در حاشیه، آرایش مشخص دسته‌های آوندی و تعداد زیادی ذرات اگزالات کلسیم را می‌توان مشاهده کرد (Nebija et al., 2006).

تنها تعداد ۲۳ گونه از ۲۵۰ گونه از جنس *Eryngium* از نظر فیتوشیمی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. تا به امروز حداقل ۱۲۷ ترکیب، مانند ترکیبات فنلی و ترپنوئیدها از این گونه‌ها استخراج شده‌اند که شامل تری‌ترین ساپونین‌ها، مونوترپن‌ها، سزکویی‌ترین‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، استروئیدها و استالدهیدها هستند. تری‌ترین گلیکوزاید جز ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده جنس *Eryngium* است (Clemens et al., 1986). ترکیبات شیمیایی بخش‌های هوایی گیاه *Eryngium caucasicum* جمع‌آوری شده از دو منطقه مختلف کوهپایه‌ای و ساحلی در شرق گیلان در دو فاز رویشی و زایشی به وسیله دستگاه گازکروماتوگرافی و گازکروماتوگرافی جیوه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نوع و غلظت اجزای اسانس‌ها بر اساس نوع اندام، مرحله رشد و محل رویش این گیاه به طور قابل توجهی متغیر است. اگر چه اسانس گیاهان جمع‌آوری شده از منطقه ساحلی بیشتر بود، ولی در هر دو

گیاه‌شناسی برای این گونه دشوار است و اغلب این گونه با گونه‌های دیگر به دلیل شباهت‌های مورفولوژیکی اشتباه گرفته می‌شود. از طرفی شناخت ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ترکیبات اسانس این گونه، کمک شایانی در پیشبرد استفاده‌های صنعتی و ترویج کشت‌وکار این گیاه بومی ارزشمند می‌کند. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور ارائه تجزیه و تحلیل دقیق از آناتومی و میکرومورفولوژی چوچاق (*E. caucasicum*) برای شناسایی ویژگی‌های کلیدی گیاه و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و شناسایی و اندازه‌گیری کمی اسیدهای فنلی و همچنین شناسایی و استخراج روغن اسانسی این گیاه بومی انجام شد. ضمناً این مطالعه، اولین گزارش میکروسکوپی برای این گونه است و می‌تواند به طبقه‌بندی، شناسایی گونه‌های جنس *Eryngium* و همچنین کنترل کیفیت گونه *E. caucasicum* کمک کند.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو بخش بررسی مورفولوژیکی - آناتومیکی و بررسی بیوشیمیایی انجام شد:

بررسی مورفولوژیکی و آناتومیکی: در بررسی تکوینی *E. caucasicum*، ابتدا نمونه گیاه برداشت‌شده، توسط متخصص سیستماتیک گیاهی با نمونه هرباریومی آن در گروه گیاه‌شناسی دانشگاه گنبد مورد بررسی و تأیید قرار گرفت و نمونه‌ای در آنجا بایگانی شد (کد: ۸۰۳۹۲۴). نمونه‌های تازه برگ، ساقه، دمگل، کاسبرگ و ریشه *E. caucasicum* از مراتع شهرستان مینودشت (X=55.19794, Y=37.25195) واقع در استان گلستان جمع‌آوری شدند. بررسی خصوصیات مورفولوژیکی از جمعیت این گونه در رویشگاه‌های طبیعی انجام شد. برخی خصوصیات گیاه با چشم غیرمسلح و در برخی موارد با استریومیکروسکوپ مدل Olympus بررسی شد و برخی صفات کمی نیز با خط‌کش و حلقه اندازه‌گیری شد.

برای تهیه نمونه‌های میکروسکوپی، نمونه‌های تازه جمع‌آوری‌شده در استیک اسید (۳۷ درصد) و گلیسرول (۵۰:۵۰) به مدت یک هفته تثبیت شدند. سپس نمونه‌ها در آب

نمونه از بین ۵۸ ترکیب استخراج‌شده، سزکویی‌ترین‌ها ترکیب اصلی استخراج‌شده بودند (Hashemabadi and Kaviani, 2010). دو نمونه گیاهی از گیاه *E. caucasicum* از دو منطقه مختلف کوهستانی و ساحلی استان مازندران جمع‌آوری و مشخص شد که میزان فنول و فلاونوئید در منطقه خشک و کوهستانی بالاتر از منطقه ساحلی بود (جمشیدی و همکاران، ۱۳۸۹). عملکرد بهینه عصاره متانولی گیاه چوچاق در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با میزان (IC50:177/3 mg/ml) نشان داد که چوچاق احتمالاً دارای پتانسیل ضد درد و دفع سموم از کبد و کلیه است (مطلبی ریکنده و همکاران، ۱۳۹۲). عباسپور (۱۳۹۴) ترکیب عمده اسانس ساقه گیاه چوچاق را Allo-aromadendrene گزارش کرد که میزان این ترکیب در گیاهان برداشت‌شده از دو منطقه ساحلی و غیرساحلی به ترتیب ۵۶/۴ و ۳۶ درصد بود. بیشترین ترکیب در اسانس برگ تازه گیاهان ساحلی (E, E)-farnesol (۲۴/۳ درصد) و برگ‌های مناطق غیرساحلی، Allo-aromadendrene (۲۵/۲) درصد بود. این ترکیب در اسانس برگ خشک ساحلی ۲۰ درصد و در اسانس برگ خشک غیرساحلی ۳۰ درصد به دست آمد. ارزیابی فیتوشیمیایی عصاره متانولی از بخش هوایی *E. campester* با استخراج ۱۱ فلاونوئید گلیکوزاید شناخته‌شده همراه بود. این ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و همچنین ضد آلزایمری هستند (Hawas et al., 2013). از سوی دیگر، به دلیل مقاومت پاتوژن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از محصولات ضدباکتری طبیعی برای نگهداری مواد غذایی مانند عصاره گیاهان وجود دارد (Kholkhal et al., 2012). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که گیاه چوچاق در فاز رویشی دارای فلاونوئید بالایی است و همچنین پتانسیل بالایی در دفع رادیکال‌های آزاد دارد (محمدی‌پور و همکاران، ۱۳۹۸; Abbaspour et al., 2015).

با توجه به مطالعات اندک موجود در راستای بررسی آناتومیکی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی جنس *Eryngium* و عدم وجود مطالعه‌ای در مورد بررسی آناتومیکی یا مورفولوژیکی گونه *E. caucasicum*، صدور گواهی‌نامه

کروماتوگراف و دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی بکار برده شد.

رابطه ۱:

درصد اسانس = میزان اسانس حاصل / وزن گیاه جهت استخراج اسانس $\times 100$

فلاونوئید کل: به ۵ میلی لیتر از عصاره متانولی مقدار ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیم ۱۰ درصد در متانول افزوده و سپس ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ مولار به همراه ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. پس از مدت ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری شد (Chang et al., 2002). منحنی استاندارد بر اساس غلظت های مختلف کوئرستین محاسبه و میزان فلاونوئید معادل کوئرستین در هر نمونه برگ تعیین شد.

فنل کل: میزان فنل کل به روش Folin-Ciocalteu تعیین شد (Kim and Hae Choi, 2002). یک میلی گرم در میلی لیتر عصاره با ۵۰ میکرولیتر از Folin-Ciocalteu مخلوط و به آن ۱/۸۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و ورتکس شد. بعد از ۳ دقیقه ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۲۰ درصد CO_2Na_3 به آن اضافه و با آب مقطر دیونیزه شده به حجم ۴ میلی لیتر رسید و به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. میزان جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده و تحت عنوان گالیک اسید بیان شد.

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی: ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ خشک از طریق خاصیت خنثی کننده رادیکال آزاد DPPH تعیین شد. برای این منظور ۰/۵ گرم پودر نمونه برگ خشک چوچاق وزن و سپس ۲۵ میلی لیتر متانول ۰/۳ نرمال اسیدی شده با HCl خالص برای استخراج ترکیبات فنلی به آن اضافه شد. مخلوط به مدت یک ساعت در شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه گذاشته و سپس با کاغذ صافی صاف شد. ۱۰ میکرولیتر عصاره متانولی به ۹۸۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریکی تا رسیدن محلول به حالت یکنواخت نگهداری شد. کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از

شسته و برش های بسیار نازکی با تیغ تیز تهیه شد. برش ها در آب مقطر قرار گرفت و برای رنگ آمیزی آماده شد. نمونه های برش داده شده بسته به بافت به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در سفید کننده غوطه ور شدند تا بی رنگ شوند. سپس نمونه ها به مدت یک دقیقه در استیک اسید ۵ درصد غوطه ور شدند تا اثر سفید کننده خنثی شود. در ادامه برش ها در دو مرحله رنگ آمیزی شدند. ابتدا بافت های سلولزی توسط کارمینین (calcium aluminium lacquer of carminic acid) رنگ آمیزی شدند. در این مرحله برش ها به مدت چند دقیقه (۳۰-۱۵) در کارمینین قرار داده شدند، به طوریکه بافت سلولزی آنها به رنگ ارغوانی مایل به قرمز تغییر نمود. پس از شستشوی برش ها با آب مقطر، بافت های چوبی با متیلن گرین رنگ آمیزی شدند؛ به این صورت که پس از برداشتن برش ها از کارمنزاجی و شستشو در آب مقطر، چند ثانیه در رنگ متیلن گرین قرار داده شدند و به سرعت خارج و سپس دوباره با آب مقطر شسته شدند. نمونه های آماده شده روی لام قرار داده شدند و چند قطره ژلاتین روی نمونه ریخته شد (بخشی خانیکی و مقسمی، ۱۳۸۹؛ جمالو، ۱۳۹۴) و با میکروسکوپ مدل Olympus CX 33 مجهز به دوربین نیکون مدل DS126621 عکسبرداری صورت گرفت.

بررسی بیوشیمیایی، عصاره گیری: اندام های هوایی گیاه چوچاق قبل از زمان گل دهی در اواخر تیرماه جمع آوری شده و در سایه خشک شدند و تا زمان عصاره گیری در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. ۵ گرم از پودر برگ خشک با ۱۰۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۴ ساعت شیک شد. سپس با کاغذ صافی فیلتر شده و این عمل با تفاله باقی مانده یکبار دیگر تکرار شد (Kholkhal et al., 2012).

استخراج اسانس: میزان ۱۰۰ گرم از اندام هوایی خشک شده چوچاق آسیاب شده و اسانس آن به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر جمع آوری و پس از آب گیری توسط سولفات سدیم بدون آب، درصد اسانس از طریق رابطه ۱ محاسبه شد. اسانس استخراج شده جهت تزریق به دستگاه گاز

چند فرم روی یک بوته دیده شود. برگ‌های پایینی دارای دم‌برگ و برگ‌های روی ساقه بدون دم‌برگ با غلاف‌های مسطح خاردار هستند (شکل ۱b). برگ‌های بالایی متناوب و کوتاه‌تر، درحالی‌که برگ‌های پایینی بلندتر، پیچ‌خورده و متراکم در نزدیکی قاعده ساقه، معطر، علفی، بیضی یا قلبی شکل و مقعر با دم‌برگ‌های بلند هستند. اشکال مختلف برگ روی گیاه احتمالاً مربوط به سن برگ است. برگ‌ها در ابتدای رشد به شکل قلب هستند که با افزایش سن معمولاً مثلثی شکل در اندازه‌های ۲-۲/۸-۳-۳/۵ سانتی‌متر، با رگ‌برگ پنجه‌ای هستند (شکل ۱b). این برگ‌ها در مرحله رویشی خار کمتری دارند و خوراکی هستند، ولی با ظهور ساقه گل‌دهنده و شروع مرحله زایشی، برگ‌ها خاردار می‌شوند و مدت طولانی روی گیاه باقی می‌مانند. به تدریج با گرم‌شدن هوا و نزدیک به اواخر بهار مرحله زایشی آغاز و ساقه‌های گل منفرد، استوانه‌ای و شیاردار از وسط برگ‌های روزت پدیدار می‌شوند. ساقه گل‌دهنده به ارتفاع ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر رشد و گل‌آذین‌های متعددی به صورت خوشه‌ای تشکیل می‌دهند. گل‌ها در رأس متراکم، اغلب دو جنسی، بیضوی یا کروی شکل هستند و از ۵ تا ۷ خار نیزه‌ای خطی تشکیل شده است. گلبرگ‌ها نوک تیز و نیزه‌ای و به رنگ آبی آسمانی است. در قسمت فوقانی، ساقه گل‌دهنده گل‌آذین منشعب روی ساقه تشکیل می‌شوند. رنگ ساقه‌ها ابتدا سبز متمایل به زرد و سپس بنفش مایل به آبی است و وقتی دانه‌ها می‌رسند، قهوه‌ای می‌شوند (شکل ۱) (Ghajarieh Sepanlou et al., 2019). میوه‌های چوچاق معمولاً دارای دو مریکارپ هستند و جزء دانه‌های شیزوکارپ است. بذرها مستطیلی شکل، سرنیزه‌ای، نوک تیز، با لبه بدون کرک هستند.

آناتومی، برگ: برگ‌های *E. caucasicum* از نظر ساختاری شبیه به سایر دولپه‌ای‌ها است (شکل b و ۲a). سلول‌های اپیدرمی هر دو سطح از نظر شکل و اندازه مشابه هستند (Uep، Lep). تقسیمات آنتی‌کلینال مستقیم دیواره سلولی و روزنه‌های پاراسییک (سلول‌های محافظ روزنه موازی همدیگر) در هر دو طرف معمولاً در گونه‌های جنس *Eryngium* مشاهده می‌شود.

دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. سپس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH از رابطه ۲ محاسبه شد (مطلبی ریکنده و همکاران، ۱۳۹۲).
رابطه ۲:

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = (Ac-As) / AC \times 100$$

در این رابطه Ac و As به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه است.

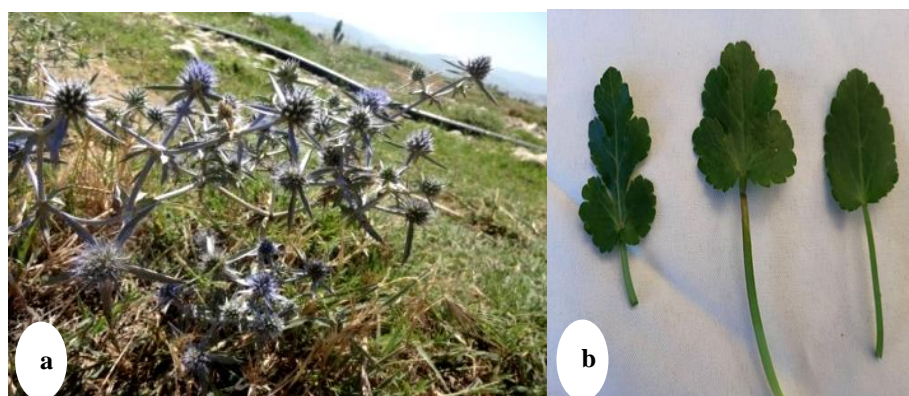
تفکیک و شناسایی مواد متشکله اسانس: برای تفکیک و

شناسایی مواد موجود در اسانس این گیاهان، از دستگاه گاز کروماتوگراف (مدل TRACE GC، شرکت ThermoQuest- Finnigan و گاز حامل N₂) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمی (مدل TRACE MS، شرکت ThermoQuest- Finnigan، گاز حامل He و طیف‌سنجی جرمی Quadrupole) در پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی استفاده شد. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، محاسبه اندیس کوتاس، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس‌ها و مقایسه آنها با طیف‌های مرجع انجام شد. جهت محاسبه اندیس کوتاس از هیدروکربن‌های اشباع خطی به عنوان استاندارد استفاده شد. همچنین درصد نسبی اجزای متشکله اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی پیک‌های کروماتوگرام مربوط به اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها محاسبه شد (Adams, 1995).

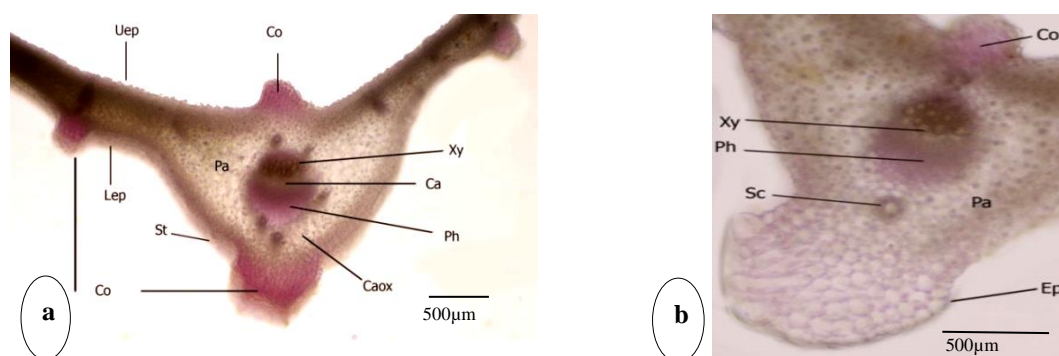
کلید آزمایش‌های بیوشیمیایی در سه تکرار انجام شد و میانگین تکرارها برای هر صفت گزارش شد.

نتایج و بحث

مورفولوژی: گونه *Eryngium caucasicum* (شکل a و ۱a) گیاهی چند ساله به ارتفاع حدود ۳۰-۱۰۰ سانتی‌متر است. ریشه‌ها عمودی نیمه خشبی که ممکن است راست باشند و یا در مواردی چندین ریشه از یک پایه منشأ گرفته باشند، با سطح مقطع استوانه‌ای، صاف یا شیاردار و برخی با لایه‌های فیبری پوشیده شده‌اند. داخل ریشه سفید رنگ و خارج آن قهوه‌ای است. برگ چوچاق بسته به دوره رویش گیاه ممکن است در



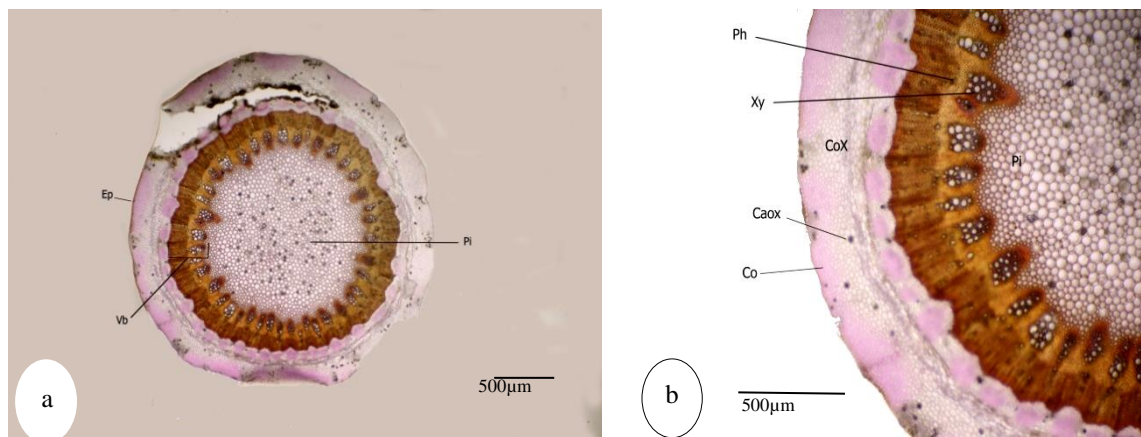
شکل ۱- عادت رشدی و اشکال مختلف برگ *Eryngium caucasicum* در طول دوره رشد: (a) فرم رشد و زیستگاه؛ (c) اشکال مختلف برگ.



شکل ۲- میکرومورفولوژی برگ (a,b): اپیدرم فوقانی برگ (Uep)، اپیدرم تحتانی برگ (Lep)، روزنه (St)، کامبیوم (Ca)، پارانشیم (Pa)، آوند چوب (xy)، آوند آبکش (ph)، اغزالات کلسیم (Caox)، کانال‌های ترش‌چی (Sc)، سلول‌های اپیدرم (Ep)، کانانشیم (Co).

می‌دهد)، کانال‌های ترش‌چی آشکار و دسته‌های آوندی که توسط یک غلاف احاطه شده‌اند، از برگ‌های *E. crassifolium* قابل تمایز است (Padin and Salvini, 2018). همکاران (۲۰۲۱) در تصاویر میکروسکوپی، لیاف گیاهی به هم چسبیده را در *E. yuccifolium* مشاهده کردند که به شکل پرزهای داندانه‌ای بود. همچنین داندانه‌های حاشیه‌ای منفرد و پهن، رگبرگ موازی در برگ با رگبرگ‌های عرضی مورب کوچکتر و روزنه‌های پارستیک با سلول‌های همراه روزنه دوزنقه‌ای نیز مشخص شد که با رگبرگ پنجه‌ای برگ‌های بیضی شکل *E. caucasicum* تفاوت دارد. برگچه‌های روی ساقه و کاسبرگ در *E. caucasicum* نیز ساختاری برگ مانند دارند، با این تفاوت که بافت پارانشیمی و دسته آوندی در این برگچه‌ها تحلیل رفته و اغزالات کلسیم بیشتری مشاهده می‌شود.

در برخی نقاط برگ، روزنه‌های آنیزوستیک (سه سلول همراه نامساوی اطراف سلول‌های محافظ روزنه) که به طور کامل در لامینا فرو رفته‌اند و هیپودرم که یک لایه پیوسته در زیر اپیدرم تشکیل می‌دهد را می‌توان در *Eryngium caucasicum* مشاهده کرد (Zarinkamar and Jalili, 2004; Wardrop, 1968). بافت نردبانی در سطح بالایی برگ در مکانی قرار دارد که حداکثر نور را دریافت می‌کند، ذرات اغزالات کلسیم معمولاً در مزوفیل، به ویژه در واکوئل سلول‌های بافت اسفنجی وجود دارند، اما گاهی اوقات در واکوئل سلول‌های نردبانی نیز یافت می‌شوند. این ذرات در گونه‌های دیگر *Eryngium* نیز مشاهده شده است (Nebija et al., 2006; Zarinkamar and Jalili, 2004). در پژوهشی بیان شد که برگ‌های *E. macracanthum* به علت وجود کلرانسیم نردبانی به عنوان بافت اولیه مزوفیل (که حداقل ۸۰ درصد از این بافت برش داده شده را تشکیل

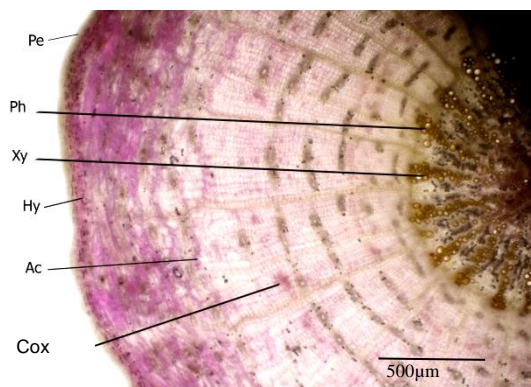


شکل ۳- آناتومی ساقه *Eryngium caucasicum* (a,b) مقطع عرضی ساقه بالغ که رشد ثانویه را نشان می‌دهد. هیپودرم کلانشیمی چند لایه، تشکیل بافت آوند ثانویه. (Co) collenchyma، آوند آبکش (ph)، آوند چوب (xy)، مغز (Pi)، پوست (Cox)، دستجات آوندی (Vb)، اگزالات کلسیم (CaOX)، سلول‌های اپیدرم (Ep).

پروکامبیومی که به سلول‌های کامبیوم تکامل یافته شباهت دارند، مشاهده می‌شود. قسمت میانی ساقه توسط پارانشیم مغزی اشغال شده است. دانه و ذرات نشاسته در کورتکس مغز، مغز و پارانشیم اشعه مغزی به وفور یافت می‌شوند. مغز بخش عمده ساقه را تشکیل می‌دهد که از سلول‌های با دیواره نازک یا کمی ضخیم تشکیل شده است که اتصالات سستی با سلول‌های چند ضلعی کلانشیمی دارند. مجاری ترشچی گاهی اوقات در مغز وجود دارد، ولی حفره مرکزی بزرگ موجود در دمگل در ساقه بالغ وجود ندارد.

ریشه: ریشه‌ها استوانه‌ای شکل، نیمه گوشتی، با قطر حدود ۳ میلی‌متر و معطر هستند. ممکن است چندین انشعاب از یک ساقه چوبی به وجود آیند. مقطع برش عرضی در ریشه دایره‌ای شکل است (شکل ۴). بافت پریدرم اطراف ریشه وجود دارد. در ریشه جوان اپیدرم داریم. بعد از اینکه گیاه وارد رشد پسین شد، در نتیجه فعالیت مریستم ثانویه فلورن به سمت بیرون سلول‌های چوب پنبه‌ای ساخته می‌شود و به سمت درون، سلول‌های پسین پوست ساخته می‌شود. ۲ تا ۳ لایه بیرونی پوست از کلانشیم زاویه‌دار با دیواره‌های بسیار ضخیم تشکیل شده است. به دنبال آن ناحیه‌ای از آثرانشیم با حفره‌های بزرگ وجود دارد. در قسمت داخلی‌تر پوست، چندین لایه کلانشیم حفره‌ای با دیواره‌های ضخیم متوسط و یکنواخت وجود دارد

ساقه: مقطع عرضی ساقه گل‌دهنده بالغ (شکل ۳a و b)، دایره‌ای شکل است با یک اپیدرم تک لایه از خارج که توسط یک لایه کوتیکول پوشیده شده است. اپیدرم (Ep) از بیرون به داخل به شکل یک لوب سلولی فشرده و منظم با سطح پوشش داده شده و رنگدانه‌دار است. در زیر اپیدرم، یک یا دو لایه از سلول‌های فشرده و منظم هیپودرم و سپس پارانشیم پوستی در چندین لایه سلولی دیده می‌شود. هیپودرم متشکل از ۳ تا ۵ لایه سلول‌های کلانشیمی است. در بافت پارانشیمی پوست، مجاری ترشچی و ذرات اگزالات کلسیم داخل واکوئل سلول‌ها مشاهده می‌شود. حفره‌های ترشچی زیادی در پارانشیم پوست وجود دارد. کورتکس از چندین لایه سلول‌های پارانشیمی تشکیل شده که شامل گروه‌های بزرگی از پارانشیم‌های هوادار یا آثرانشیم است. سیستم آوندی با یک حلقه ضخیم از بافت‌های آوندی مشاهده شد که آوند آبکش به سمت بیرون و آوند چوبی رو به مرکز قرار دارد. دستجات جانبی به صورت اشعه‌های مغزی باریک ۱ تا ۳ سلولی مرتب شده‌اند. کامبیوم آوندی کاملاً مشخص است و از ۴ تا ۶ لایه سلول‌هایی که به صورت شعاعی مرتب شده‌اند، تشکیل شده است که باعث ایجاد آبکش ثانویه به سمت بیرون و آوند چوبی ثانویه به سمت داخل در آرایش شعاعی می‌شود. در ساختار استوانه‌ای مرکزی، دستجاتی از آوند آبکش و در وسط آن‌ها سلول‌های



شکل ۴- آناتومی عرضی ریشه *Eryngium caucasicum* با میکروسکوپ نوری، آبکش (ph)، آوند چوبی (Xy)، پریدرم (Pe)، کورتکس (Cox)، حفره هوا (AC)، هیپودرم (hy)، پارانشیم (Pa).

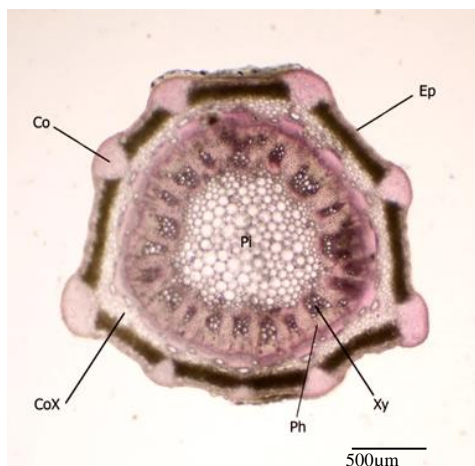
فضاهای هوایی زیر روزنه قطع می‌شود. چندین دسته آوند در یک حلقه سازماندهی شده‌اند و بین کورتکس و مغز قرار دارند. دستجات از سمت بالا به یک دسته کلانشیم کلاهدک مانند کوچک وصل می‌شوند و در حلقه‌ای از سلول‌های کلانشیمی با دیواره ضخیم قرار می‌گیرند. آبکش به سمت بیرون تشکیل می‌شود و از بافت آوند چوبی کوچکتر است. آوندها دارای لان در دیواره ثانویه خارجی هستند. مغز از سلول‌های کلانشیم حفره‌ای بزرگ، گرد و دیواره نازک تشکیل شده‌است که در فضاهای بین سلولی به صورت جزئی ضخیم شدند و دارای یک حفره وسیع در مرکز است.

دمبرگ: برش عرضی دمبرگ جوان زاویه‌دار است و شباهت‌های زیادی بین ساختار ساقه اولیه و دمبرگ مشاهده می‌شود. اپیدرم دمبرگ در امتداد تا ساقه گسترش می‌یابد و بیرونی‌ترین لایه در برش است (شکل ۶). دستجات آوندی دمبرگ‌ها توسط غلاف‌های آوندی احاطه شده‌اند، مجموع این غلاف و دستجات توسط سلول‌های پارانشیمی آوندی احاطه شده‌اند. دستجات آوندی در یک نیم دایره مرتب قرار دارند. در زیر اپیدرم سلول‌های کلانشیم و کریستال‌های اگزالات کلسیم در سلول‌های نزدیک یافت می‌شوند.

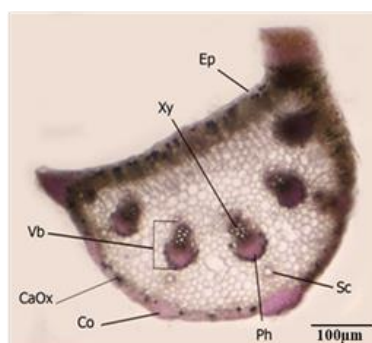
میزان فنل، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان: میزان کل ترکیبات فنلی به روش فولین سیوکالتیو و برمبنای منحنی استاندارد اسید گالیک ($Y=0.0669x+0.0116$) و $r^2=0.9987$) و مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی به روش رنگ‌سنجی آلومینیم کلرید و

که با فضاهای بین سلولی بزرگ چیده شده و حاوی دانه‌های نشاسته فراوان است. بیشترین حجم کورتکس را سلول‌های پارانشیمی با شکل و اندازه‌های مختلف تشکیل داده است. در این قسمت کانال‌های ترش‌چی که مشخصه این خانواده است بسیار خوب دیده می‌شود. در واکنش سلول‌های پارانشیمی نیز کریستال‌های اگزالات کلسیم مشاهده می‌شود. اشعه‌های مغزی در عمق تا وسط پوست گسترش یافته‌اند. عناصر آوند چوبی به راحتی قابل مشاهده هستند. در قسمت مرکزی ریشه نیز سلول‌های پارانشیمی وجود دارند. آندودرم تک لایه‌ای و دارای نوار کاسپاری مشخص است. دایره محیطیه (پریسیکل) تک لایه، پارانشیمی است و فعالیت مریستمی دارد. بعد از آن ۳ تا ۵ لایه از سلول‌های کلانشیمی وجود دارد. آبکش اولیه در کنار دایره محیطیه ایجاد می‌شوند و توسط سلول‌های کلانشیمی که روی آبکش را پوشانده‌اند، از دایره محیطیه جدا می‌شوند. بافت هادی آوند چوبی شامل وسل و پارانشیم است. آوندها منفرد یا در گروه‌های سه تایی یا بیشتر با قطر ۱۵ تا ۶۰ میکرومتر هستند. عرض اشعه‌های مغز شامل ۲ تا ۳ لایه سلول است.

دمگل: دمگل *E. caucasicum* در مقطع عرضی دایره‌ای شکل با برجستگی‌های کم عمق است (شکل ۵). اپیدرم تک لایه دمگل شامل سلول‌های تخت با دیواره‌های بیرونی ضخیم است که از بیرون با یک لایه کوتیکول ضخیم پوشیده شده است. هیپودرم در دمگل تک لایه که اغلب با ۱ تا ۲ لایه کلانشیم حلقوی جایگزین می‌شود. هیپودرم اغلب توسط



شکل ۵- مقطع عرضی دمگل *Eryngium caucasicum*: اپیدرم (Ep)، آوند آبکش (ph)، کلانشیم (Co)، مغز (Pi)، پوست (CoX)، دستجات آوندی (Vb)، آوند چوبی (xy).



شکل ۶- مقطع عرضی دم برگ *Eryngium caucasicum*: آوند آبکش (ph)، کلانشیم (Co)، مغز (Pi)، دستجات آوندی (Vb)، آوند چوبی (xy)، کانال ترش‌چی (Sc)، اشعه آوندی (xy)، اگزالات کلسیم (CaOx).

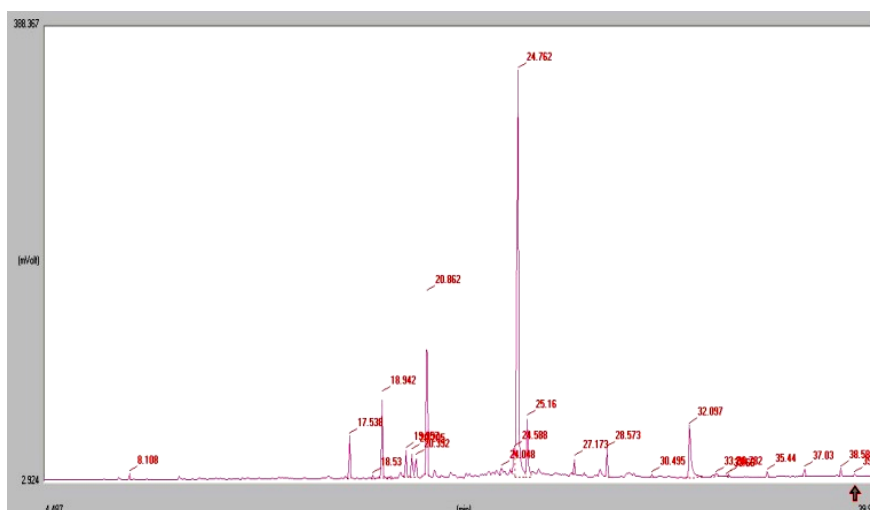
جدول ۱- صفات فیتوشیمیایی چوچاق

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد)	فنل (میلی گرم گالیک اسید در گرم برگ خشک)	فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین در گرم برگ خشک)	اسانس (درصد)
۶۲/۹۷	۴۸/۷۹	۵۲/۹	۳۷

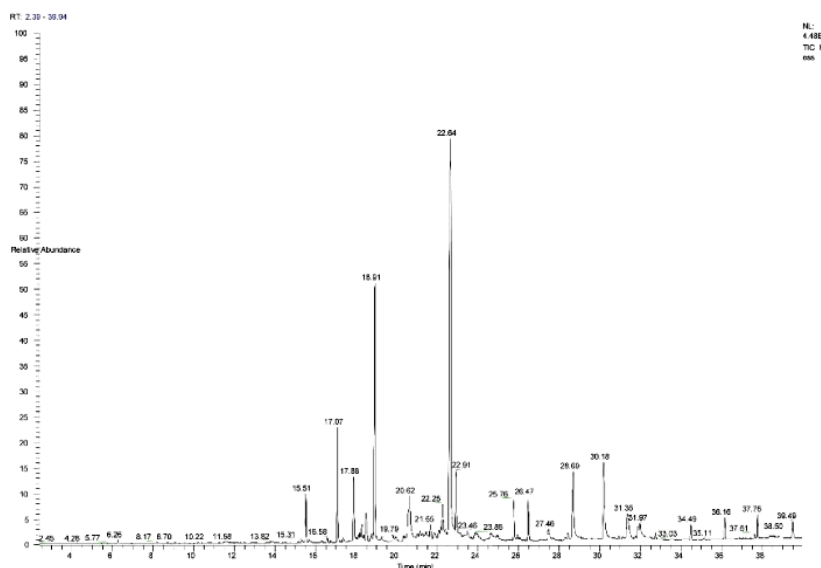
فعالیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین میزان ۳۷ درصد اسانس بود (جدول ۱).

فنل و ترکیبات فنلی مانند فلاونوئید به‌طور گسترده‌ای در منابع گیاهی یافت می‌شود و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند (Ebrahimzadeh et al., 2009). میزان ترکیبات

بر مبنای منحنی استاندارد کوئرستین $(r^2=0/9991, Y=14/564x-0/0007)$ محاسبه شد. اندام هوایی *Eryngium caucasicum* برداشت‌شده از منطقه مینودشت استان گلستان دارای ۴۸/۷۹ میلی گرم فنل در گرم برگ خشک، ۵۲/۹ میلی گرم فلاونوئید در گرم برگ خشک و ۶۲/۹۶ درصد



شکل ۷- کروماتوگرام GC حاصل از تزریق اسانس بخش هوایی چوچاق



شکل ۸- کروماتوگرام GCMS حاصل از تزریق اسانس بخش هوایی چوچاق

جنس *Eryngium* تابع نوع و میزان ترکیبات پلی فنلی، تغییرات فصلی، مکان جغرافیایی، فاز رویشی گیاه و بخش مورد استفاده است (Wang *et al.*, 2012). امروزه تأثیر و اهمیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان دارویی در جلوگیری یا کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از عملکرد رادیکال‌های آزاد و عوارض جانبی داروهای شیمیایی در بدن اثبات شده و قابل توجه است. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که قادر به ایجاد تأخیر، کند کردن و حتی توقف فرایندهای اکسیداسیون هستند (آروین و فیروزه، ۱۴۰۱).

فنلی و فلاونوئید کل برگ‌های *E. caucasicum* برداشت‌شده از ساری به ترتیب ۳۷/۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم پودر عصاره و ۶۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم پودر عصاره گزارش شد (Ebrahimzadeh *et al.*, 2009). دانشفر و همکاران (۱۳۹۹) میزان فنل (۷۶ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم برگ خشک)، فلاونوئید (۴۱/۰۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم برگ خشک) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵/۶۴ درصد) برگ‌های خشک چوچاق را ارزیابی کردند. طبق پژوهش‌های صورت گرفته محتوای ترکیبات فنل و فلاونوئید گونه‌های مختلف

جدول ۲- ترکیبات اسانس اندام‌های هوایی گیاه چوچاق

شماره	ترکیبات	شاخص بازداری	درصد ترکیبات اسانس	زمان بازداری
۱	Limonene	۱۰۳۶	۰/۴۳	۶/۲۶
۲	β -Elemene	۱۳۹۱	۲/۷۹	۱۵/۱۵
۳	cis- α -Bergamotene	۱۴۳۱	۰/۲۴	۱۶/۵۸
۴	(Z)- β -Farnesene	۱۴۵۲	۶/۳۶	۱۷/۰۷
۵	Germacrene D	۱۴۸۴	۱/۷۳	۱۷/۸۸
۶	cis- β -Guaiene	۱۵۰۰	۲/۲۷	۱۸/۲۸
۷	β -Bisabolene	۱۵۰۸	۱/۸۲	۱۸/۴۸
۸	β -Sesquiphellandrene	۱۵۲۶	۱۲/۴۶	۱۸/۹۱
۹	Ledeneoxide II	۱۶۴۴	۰/۶۰	۲۱/۶۵
۱۰	Neointermedeol	۱۶۷۰	۲/۶۰	۲۲/۲۵
۱۱	Piperitone	۱۶۸۷	۴۸/۷۸	۲۲/۶۴
۱۲	cis-Dihydromayurone	۱۶۹۹	۵/۶۱	۲۲/۹۱
۱۳	Neophytadiene	۱۸۳۵	۱/۱۱	۲۵/۷۶
۱۴	isobutyl phthalate	۱۸۶۹	۲/۱۴	۲۶/۴۷
۱۵	palmitic acid	۱۹۸۰	۰/۲۳	۲۸/۶۹
۱۶	(Z)-Falcarinol	۲۰۵۹	۷/۸۵	۳۰/۱۸
۱۷	Phetol	۲۱۲۳	۰/۶۷	۳۱/۳۵
۱۸	Linoleic acid	۲۱۵۰	۰/۰۷	۳۱/۸۶
۱۹	Oleic acid	۲۱۵۶	۰/۱۸	۳۱/۹۶
۲۰	n-Triacosane	۲۲۹۸	۰/۳۸	۳۴/۴۹
۲۱	n-Tetracosane	۲۳۹۸	۰/۶۴	۳۶/۱۶
۲۲	n-Pentacosane	۱۰۳۶	۰/۶۷	۳۷/۷۶

شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس: فعالیت‌های

بیولوژیکی گونه‌های گیاهی به ترکیب‌های زیستی که به‌طور طبیعی در پیکره آنها وجود دارد، وابسته است، از این‌رو برای ارزیابی قابلیت بیولوژیکی و خواص دارویی هر گونه گیاهی ضروری است که ابتدا ترکیب‌های بیوشیمیایی آنها آشکار شود. در اثر تزریق اسانس حاصل از اندام‌های هوایی این گیاه به دستگاه GC و GCMS اجزا متشکل اسانس شناسایی شد. شکل شماره ۷ و ۸ به ترتیب کروماتوگرام حاصل از دستگاه GC و GCMS را نشان می‌دهد. در جدول شماره ۲ ترکیبات

شناسایی شده به‌همراه درصد و اندیس کواتس آنها گزارش شده است.

۹۹/۶۳ درصد از ترکیبات اسانس چوچاق مورد شناسایی قرار گرفت که شامل ۲۲ ترکیب بود. در بین آنها Piperitone (۴۸/۷۸ درصد)، β -Sesquiphellandrene (۱۲/۶۴ درصد)، (Z)-Falcarinol (۷/۸۵ درصد) و (Z)- β -Farnesene (۶/۳۶ درصد) ترکیبات عمده موجود در اسانس چوچاق را تشکیل می‌دهند. در اسانس چوچاق ۴۹/۲۱ درصد ترکیبات مورد شناسایی را مونوترپنوئیدها، ۲۵/۳۴ درصد را سزکوئی

عواملی که باعث سمیت کبدی می‌شوند کمک می‌کنند (Zarei et al., 2015).

نتیجه‌گیری

چندین ویژگی مورفو-آناتومیکی کلیدی که می‌توانند به طبقه‌بندی جنس و شناسایی و کنترل کیفیت *E. caucasicum* کمک کنند، در این مقاله ارائه شد. ویژگی‌های آناتومیکی قابل توجه عبارتند از: رگبرگ‌های پنجه‌ای برگ که در زمان بلوغ به چند قسمت خاردار تقسیم می‌شوند. مزوفیل در اینجا ساختار ناهمگن دو طرفه دارد. دو طرف پارانیشیم نردبانی و وسط پارانیشیم اسفنجی، وجود کریستال‌های آگزالات کلسیم، همچنین چین‌های مشخص کوتیکول از نشانگرهای شناختی برای شناسایی این گیاه در برش برگ از مقطع عرضی هستند؛ دمگل‌های استوانه‌ای با برجستگی‌های طولی حاوی لکه‌های کلانشیمی در شیارها، همچنین وجود مغز کلانشیمی و حفره مرکزی در دمگل‌ها، هیپودرم کلانشیمی چند لایه، رشد ثانویه چوب پنبه و بافت آوندی ثانویه، مغز کلانشیمی و بدون حفره مرکزی در ساقه بالغ، کانال‌های ترشحی مشخص در ریشه و ساقه، آرایش مشخص دسته‌های هادی و تعداد زیاد کریستال‌های آگزالات کلسیم، تزئینات ماریچی آوندهای چوبی در ریشه اولیه، هیپودرم تک لایه، پوست حاوی سلول‌های کلانشیمی، وجود آنراشیم در ناحیه پوست و وجود یک استوانه آوندی مرکزی در ریشه از دیگر ویژگی‌های کلیدی گونه بررسی شده است.

توانایی ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی به‌عنوان دهنده هیدروژن و آنتی‌اکسیدان قوی در جلوگیری از اکسایش بیومولکول‌های زیستی از جمله چربی‌ها و پروتئین‌ها سال‌هاست که شناخته شده و به‌صورت گسترده مورد استفاده قرار گرفته است (Zarei et al., 2015). این پژوهش نیز بررسی‌های فیتوشیمیایی عصاره متانولی، وجود ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی در گیاه *E. caucasicum* را اثبات کرد. عصاره متانولی چوچاق با بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی آزاد از فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

ترپنوئیدها و ۱/۷۷ درصد را دی‌ترپنوئیدها تشکیل دادند. تانن‌ها، ترپنوئیدها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (Zarei et al., 2015). همچنین چوچاق به دلیل داشتن مقادیر بالایی از سسکوئی‌ترین‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی، نقش مؤثر و به‌سزایی در درمان بیماری‌ها از جمله سرطان دارد (Rezaieseresht et al., 2020). با مقایسه اجزای متشکله اسانس این گونه با نتایج محققین دیگر، مشاهده می‌شود که تفاوت‌های عمده‌ای از لحاظ نوع و مقدار اجزا تشکیل‌دهنده وجود دارد. در بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس *E. caucasicum* برداشت‌شده از شهر رامسر، عمده‌ترین ترکیب اسانس 5-methyl-2-pyrimidin (۶۱/۶۹ درصد)، β -sesquiphellandrene (۱۴/۱۹ درصد) و 2,4-bis (1,1-dimethyl)-phenol (۱۳/۶۵ درصد) گزارش شد (Hashemabadi and Kaviani, 2010). ترکیبات اسانس گیاهان برداشت‌شده از مناطق مختلف متفاوت است. صادقی (۱۳۹۱) ترکیبات عمده اسانس چوچاق را لیمونن (۲۳/۶۱)، بتا سزکوئی فلاندرن (۱۳/۴۱)، سیس-۱۱-ترترادسن-۱-ال (۸/۶۵) و بتا-فارنسن (۳/۰۹) گزارش کرد. ترکیبات اسانس گیاهان برداشت‌شده از مناطق مختلف متفاوت است. کاشفی و همکاران (۱۳۹۴) ترکیبات عمده اسانس برگ چوچاق را 1- Limonene (۲۷/۲ درصد)، 5-Methy 1-2- Primidone (۱۲/۳۳ درصد)، 4-(1,5-Dimethyhex4-enyl) cyclohex-2-enone (۱۰/۳۱ درصد) و β - Sesqui phellandrene (۳/۲۹ درصد) گزارش کردند. هاشم‌آبادی و کاویانی (Hashemabadi and Kaviani, 2010) سه فاکتور منطقه جغرافیایی، زمان استخراج و گونه را از عوامل مهم تفاوت در ترکیبات اسانس می‌دانند. چوچاق به دلیل داشتن مقادیر بالایی از سسکوئی‌ترین‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی نقش مؤثر و به‌سزایی در درمان بیماری‌ها از جمله سرطان دارد (Rezaieseresht et al., 2020). از سوی دیگر، تانن‌ها، ترپنوئیدها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند و به کبد در محافظت در برابر رادیکال‌های آزاد و

طبیعی مواد غذایی استفاده کرد، زیرا انتظار می‌رود عصاره این گیاه قادر به افزایش عمر نگهداری مواد غذایی از طریق بازدارندگی رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن و فاسدکننده مواد غذایی و نیز حفاظت‌کننده مواد غذایی از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو باشد. شناخت ترکیبات موجود در این گیاه بومی کشورمان، می‌تواند ما را در جهت استفاده‌های کاربردی از ذخایر گیاهی موجود یاری نماید و همچنین می‌توان از نتایج حاصله در استاندارد کردن فراورده‌های حاوی اسانس این گیاهان بهره جست.

برخوردار بود، حضور اسیدهای فنلی به ویژه گالیک اسید و سسکوئتریپن‌ها باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه این عصاره می‌شوند. با توجه به عدم پذیرش افزودنی‌های شیمیایی و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از سوی مصرف‌کنندگان به دلیل اثرات نامطلوب این ترکیبات بر سلامت انسان، مطالعات بیشتر در زمینه کاربرد عصاره چوچاق در فرمولاسیون مواد غذایی به عنوان یک منبع جدید و بالقوه از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی پیشنهاد می‌شود. از سویی، با توجه به دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالای این گیاه می‌توان از آن به عنوان نگهدارنده

منابع

- آروین، پویا، و فیروزه، رعنا (۱۴۰۱). بررسی محتوای فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های اسانس گیاه *Chenopodium botrys* L. از منطقه راز و جرگلدن. *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۳۸(۴): ۵۳۱-۵۱۹. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2022.357651.3130>
- بخشی‌خانیکی، غلامرضا، و مقسمی، الهام (۱۳۸۹). بررسی آناتومیکی و مورفولوژیکی گیاه داروی مریم گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon* Boiss.). *فصلنامه داروهای گیاهی*، ۱(۴): ۱۵-۲۴. <https://sid.ir/paper/193803/fa>
- بویه، بهرام، کاشفی، بهاره، رامته، ولی‌اله و علیپور، زرین (۱۳۹۱). بررسی پتانسیل‌های کشت پایدار در گیاهان دارویی زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trave.). اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار (کشاورزی، منابع طبیعی و محیط-زیست)، تهران. <https://civilica.com/doc/197704>
- دانشفر، الهام، عزیزی، مجید، و آرویی، حسین (۱۳۹۹). پاسخ کمی و کیفی گیاه بومی چوچاق (*Eryngium caucasicum* Trautv.) به کاربرد تیمارهای کودی تلفیقی شیمیایی، آلی و زیستی. *نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار*، ۳۰(۲): ۱۱۲-۱۲۸. DOR: 20.1001.1.24764310.1399.30.2.7.0
- جمالو، فاطمه (۱۳۹۴). بررسی میکرومورفولوژی دانه گرده و آناتومی برگ گونه *Centaurea bruguierana* (DC.) Hand Asteraceae از ایران. *فصلنامه علمی-پژوهشی بیولوژی کاربردی*، ۵(۱۹): ۷-۲۳. https://sjoapb.qom.iau.ir/article_520704
- جمشیدی، مرجان، احمدی آشتیانی، حمیدرضا، رضازاده، شمسعلی، فتحی‌آزاد، فاطمه، مازندرانی، معصومه، و خاکی، آرش (۱۳۸۹). بررسی و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند گونه گیاهی بومی مازندران. *فصلنامه گیاهان دارویی*، ۹(۲): ۱۷۷-۱۸۳. DOR:20.1001.1.2717204.2010.9.34.19.7
- عباسپور، زهره (۱۳۹۴). استخراج و شناسایی ترکیبات روغن اسانس گیاه چوچاق *Eryngium caucasicum* Trautv. پایان‌نامه کارشناسی، گروه شیمی، دانشگاه پیام‌نور مرکز تهران شرق.
- کاشفی، بهاره، بویه، بهرام، و علیپور، زرین (۱۳۹۴). بررسی تأثیر کمپوست و ورمی‌کمپوست بر ویژگی مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trave.). *فرآیند و کاربرد گیاهی*، ۴(۱۳): ۱۴۳-۱۵۱. DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.13.5
- مظفریان، ولی‌اله (۱۳۹۰). رده‌بندی گیاهان (دو لپه‌ای‌ها). جلد ۲، نشر دانش امروز وابسته به انتشارات امیرکبیر.

مظفریان، ولی‌اله (۱۳۸۶). فلور ایران، تیره چتریان (Umbelliferae). جلد ۹۹. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. تهران.

مطلبی ریکنده، ثمینه، مازندرانی، معصومه، و ابراهیم‌زاده، محمدعلی (۱۳۹۲). اوت اکولوژی، اتنوفارماکولوژی، عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه دارویی زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trauve.) و معرفی طیف فلورستیک گیاهان دارویی رویشگاه لاریم

ماندران. فصلنامه اکوفیزیولوژیکی گیاهان دارویی، ۴: ۴۴-۵۷. DOR: 20.1001.1.23223235.1392.1.4.5.2

محمدی‌پور، سحر، حاتم‌زاده، عبدالله، بخشی، داوود، و پاسداران، اردلان (۱۳۹۸). بررسی فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی استرول‌ها و اسیدهای چرب دو گونه دارویی (*Caucalis platycarpos* L.) و (*Eryngium caucasicum* Trautv.) در استان گیلان.

فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۲۵(۱): ۴۰-۵۴. DOR: 20.1001.1.23223235.1398.7.1.4.7

Adams, R. P. (1995). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corp, Carol Stream, IL 70-415.

Abbaspour, Z., Jaimand, K., & Mozaffari, Sh. (2015). Comparison of essential oils compositions of Eryngo (*Eryngium caucasicum*) in different parts of plant in two growth conditions. *Journal of Medicinal Plants and By-Product*, 4(1), 83-98. <https://doi.org/10.22092/JMPB.2015.108895>.

Calvino, C. I., Martinez, S. G., & Downie, S. R. (2008). Morphology and biogeography of Apiaceae subfamily Saniculoideae as inferred by phylogenetic analysis of molecular data. *American Journal of Botany*, 95(2), 196-214. <https://doi.org/10.3732/ajb.95.2.196>.

Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.

Clemens, A. J., Meier, E., & Sticher, O. (1986). A cyclohexenone and a cyclohexadienone glycoside from *Eryngium camprstre*. *Photochemistry*, 25 (3), 741-743. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(86\)88036-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(86)88036-0).

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2009). Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium caucasicum* Trautv. at flowering stage. *Pharmacognosy Research*, 1, 435-439. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.957.963>.

Erdem, S. A., Nabavi, S. F., Erdogan Orhan, I., Daglia, M., Izadi, M., & Nabavi, S. M. (2015). Blessings in disguise: A review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(53), 1-22. <https://doi.org/10.1186/s40199-015-0136-3>.

Ghajarieh Sepanlou, M., Mirabzadeh Ardakani, M., Hajimahmoodi, H., Sadrai, S., Amin, G. R., Sadeghi, N., & Sadati Lamardi, S. N. (2019). The proximate, mineral and amino acid composition of spring, autumn leaves and roots of *Eryngium caeruleum* M.Bieb. *Research Journal of Pharmacognosy*, 6 (3), 1-7. <https://doi.org/10.22127/rjp.2019.89444>.

Hashemabadi, D., & Kaviani, B. (2010). Seasonal and geographical variations in the essential oils of *Eryngium caucasicum* Trautv. growing in Iran. *American-Erasian Journal of Agriculture and Environment Science*, 8(2), 212-215. [https://www.idosi.org/aejaes/jaes8\(2\)/15](https://www.idosi.org/aejaes/jaes8(2)/15).

Hawas, U. W., Abou EL-Kassem, L. T., Awad, H. M., & Taie, H. A. A. (2013). Anti-alzheimer, antioxidant activities and flavonol glycosides of *Eryngium campestre* L. *Current Chemical Biology*, 7, 188-195. <https://doi.org/10.2174/2212796811307020010>.

Kholkhal, W., Ilias, F., Bekhechi, Ch., & Bekkara, B. A. (2012). *Eryngium maritimum*: A rich medicinal plant of polyphenols and flavonoids compounds with antioxidant, antibacterial and antifungal activities. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 4(4), 437-443. <https://dSPACE.univ-temouchent.edu.dz/handle/123456789/743>.

Kim, J., & Hae Choi, Y. (2002). Use of Stevioside and Cultivation of *Stevia rebaudiana* in Korea. *Stevia Book*.

Metcalfe, C. R., & Chalk, L. (1979). Anatomy of Dicotyledons. 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford.

Metcalfe, C. R. (1963). Comparative anatomy as a modern botanical discipline. In: *Advances in Botanical Research* (ed. Preston, R. D.). Pp. 101-147. Academic Press, London.

Nebija, F., Stefkov, G., Karapandzova, M., Petrovska, B. B., & Kulevanova, S. (2006). Morphological and anatomical characteristics of the root and herb from *Eryngium campestre* L. (Apiaceae). *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 52 (1,2), 57-64. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2006.52.008>.

Njenga, J. (1995). Production of *Eryngium*. N.C. *Flower Growers' Bulletin*, 40 (4), 9-11. <https://doi.org/10.5376/ijh.2012.02.0004>.

Padin, A. L., & Calvino, C. I. (2018). A new species endemic to the Atacama region of Chile: *Eryngium crassifolium* (Apiaceae, Saniculoideae). *Systematic Botany*, 43, 628-632. <https://doi.org/10.1600/036364418X697346>.

- Raman, V., Manfron, J., & Ahmed Khan, I. (2021). Morpho-anatomical characterization of *Eryngium yuccifolium* ('Rattlesnake-master'). *Microscopy Research and Techniques*, 1-11. <https://doi.org/10.1002/jemt.23897>.
- Rezaieseresht, H., Shobeiri, S. S., & Kaskani, A. (2020). *Chenopodium botrys* essential oil as a source of sesquiterpenes to induce apoptosis and G1 cell cycle arrest in cervical cancer cells. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 19(2), 341-351. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100671>.
- Wardrop, A. B. (1968). The structure of the cell wall in lignified collenchyma *Eryngium* sp. (umbelliferae). *Australian Journal of Botany*, 17, 229-240. <https://doi.org/10.1071/BT9690229>.
- Wang, P. S. U., Yuan, Z., Deng, W. G., & Li, S. (2012). Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharmaceutical Crops*, 3, 99-120. <https://doi.org/10.2174/2210290601203010099>.
- Zarinkamar, F., & Jalili, A. (2004). Foliar anatomical studies in the Umbelliferae from Arasbaran, Iran. *Iranian Journal of Botany*, 10, 103-117. DOR: 20.1001.1.1029788.1383.10.2.3.2.
- Zarei, A., Changizi Ashtiyani, S., Hamidzadeh, S., Rezaei, A., Ramezani, M., & Aalizadeh, A. (2015). The study of the effects hydro-alcoholic extract of *Eryngium billardieri* on lipid profiles levels and liver and renal functions tests in hypercholesterolemic rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(2), 200-206. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2015.9.1.91137>.

Investigating the morphological, anatomical and biochemical characteristics of the medicinal plant *Eryngium caucasicum* Trautv.

Negar Taleie¹, Yousef Hamidoghli^{2*}, Jamal-Ali Olfati², Mehdi and Zarei Mohamadabad³

¹ Department of Horticultural Sciences, University Campus2, University of Guilan, Guilan, Iran

² Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran

³ Department of Crop Production, Faculty of Agricultural Sciences and National Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
(Received: 30/01/2023, Accepted: 04/04/2023)

Abstract

Eryngium caucasicum from the Apiaceae family, is native to the northern regions of Iran and has significant medicinal and nutritional properties. This paper has provided detailed morpho-anatomical characteristics of the leaves, peduncles, leaf tail, stem, and roots of *Eryngium caucasicum* by bright-field light microscopy. Also, the amount of phenol, flavonoid, and antioxidant activity with a spectrophotometer and the analysis of essential compounds of the aerial part with GC and GCMS have been presented. Morpho-anatomical features include the dicot-like leaves with palmate venation, isolateral mesophyll with palisade tissue on the upper and lower regions of the leaf, and much reduced spongy parenchyma; characteristic arrangement of the mechanical collenchyma tissue, especially in leaves; and characteristic wrinkles in the leaf cuticle. The stem and peduncle with longitudinal ribs contain collenchyma; there is a presence of aerenchyma in the peduncle and root; calcium oxalate druses and secretory channels in all the studied plant parts; and an absence of sclerenchyma in all investigated parts of the plant. The aerial parts of *E. caucasicum* had 37% essential oil, 53.9 mg of flavonoids per gram of dry matter, 48.79 mg per gram of dry matter, and 62.97 percent antioxidant activity. The main compounds in the essential oil of the aerial part include Piperitone (48.78%), β -Sesquiphellandrene (12.64%), and (Z)-Falcarinol (7.85%), and (Z) β -Farnesene (6.36 percent).

Keywords: Antioxidant, Endemic species, *Eryngium caucasicum*, Anatomy, Morphology

Corresponding author, Email: hamidoghli@yahoo.com