تأثیر شرایط اقلیمی بر بازده و کیفیت اسانس *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) Rech.f. در رویشگاه‌های مختلف استان همدان

زینب دهقان[۱،*]، فاطمه سفیدکن[۲]، سید مهدی امامی[۳] و رمضان کلوندی[۴]

[۱] تویسرکان، آموزش و پرورش، دبیرستان شاهد بنت الهدی

[۲] تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

[۳] ملایر، سازمان پارکها و فضای سبز

[۴] همدان، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۹

چکیده

یکی از گیاهان معطر و دارویی خانواده لابیاته در ایران *Ziziphora clinopodioides* Lam (کاکوتی کوهی) است. اسانس این گونه حاوی پولگون است و از آن به‌عنوان آرام‌بخش، مقوی معده، درمان سرماخوردگی، افسردگی، اسهال، سرفه، میگرن، تب و به‌عنوان ضدعفونی کننده استفاده می‌شود. این تحقیق با هدف شناسایی رویشگاه‌های گونه دارویی *Ziziphora clinopodioides* Lam در استان همدان و بررسی تأثیر شرایط رویشگاهی روی کمیت و کیفیت ماده مؤثره گونه فوق در این استان بعمل آمد. نمونه‌برداری از ۱۱ منطقه رویشی این گیاه در استان همدان انجام گردید. از هر رویشگاه اندام‌های هوایی گیاه مورد نظر در مرحله گلدهی کامل جمع‌آوری شد. برای مقایسه بازده اسانس نمونه‌های مختلف، از آزمون دانکن استفاده شد. ترکیبات تشکیل‌دهنده همه اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفتند. مقایسات نشان داد که میانگین اسانس‌ها در سه مرتبه اسانس‌گیری در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ = α به طور معنی‌داری با هم تفاوت دارند. با مقایسه میانگین اسانس‌ها مشخص شد که بیشترین بازده اسانس با میانگین ۱/۰۸٪ مربوط به استان همدان، شهرستان ملایر، منطقه حفاظت شده لشگردر و کمترین بازده اسانس با میانگین ۰/۳۱٪ مربوط به استان همدان، شهرستان رزن، و منطقه گرمک می‌باشد. آنالیز GC و GC/MS منجر به شناسایی ۲۶ ترکیب در اسانس‌ها گردید. شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها نشان داد که میزان ترکیب‌های عمده اسانس (پولگون و ۸،۱-سینئول) و سایر ترکیب‌ها در نمونه‌های مختلف متفاوت است که نشان‌دهنده تأثیر شرایط رویشگاهی بر کیفیت اسانس است.

واژه‌های کلیدی: *Ziziphora clinopodioides*، اسانس، رویشگاه، همدان، پولگون

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۳۵۰۴۱۶۴ ، پست الکترونیکی: yasfand_61@yahoo.com

مقدمه

کاکوتی کوهی یا آویشن برگ باریک، نام عمومی جنس *Ziziphora* از خانواده Lamiaceae است که شامل ۴ گونه علفی یکساله و چند ساله به نام‌های *Z. tenuior* L. (کاکوتی)، *Z. clinopodioides* (کاکوتی کوهی، مشک طرامشک، آویشن برگ باریک)، *Z. capitata* L. (کاکوتی سرسان شرقی)، *Z. capitata subsp. capitata* (کاکوتی سرسان) و *Z . persica* Bunge (کاکوتی ایرانی) می‌باشد که علاوه بر ایران در تالش، ترکمنستان، افغانستان، ارمنستان، آناتولی، پاکستان، آسیای مرکزی، سوریه، ماورای

قفقاز و غرب سیبری نیز می‌رویند (فلورا ایرانیکا. Rechinger).

گونه *Z. clinopodioides* به‌عنوان آرام‌بخش، مقوی معده و ضدعفونی کننده در رفع اختلالات قلبی، سرماخوردگی، افسردگی، اسهال، سرفه، میگرن و تب مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین به دلیل خواص متعدد دارویی، اسانس این گیاه از نظر ترکیبات تشکیل‌دهنده و اثرات دارویی توسط محققان مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (۴،۲، ۱۷،۱۶، ۱۸).

صالحی و همکاران فعالیت آنتی باکتریایی و ترکیب اسانس *Z. clinopodioides subsp. bungeana* (Juz.) Rech.f. را بررسی کردند (۱۷). در بررسی دیگری نیز آنها ترکیب اسانس و فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانتی اسانس و عصاره‌های گوناگون *Z. clinopodioides subsp. rigida* (Boiss.) Rech.f. را از ایران بررسی کردند (۱۶).

باباخانلو و همکاران ترکیب‌های تشکیل‌دهنده کاکوتی کوهی (*Z. clinopodioides* Lam.) را بررسی کردند (۲).

مهربان سنگ آتش و همکاران در پژوهشی خواص ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی (*Z. clinopodioides*) بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی به روش رقت لوله‌ای را مورد آزمایش قرار دادند (۴).

ضرابی و همکاران تجزیه و شناسایی اجسام موجود در اسانس گیاه *Z. clinopodioides subsp. rigida* (Boiss.) Rech.f. را انجام دادند (۹). وردیان‌ریزی ترکیب اسانس *Z. clinopodioides* Lam. را از ایران بررسی کرد. اجزاء اصلی اسانس به‌دست آمده از بخش‌های هوایی گیاه پولگون (۳۶/۴۵٪)، پیپریتنون (۹/۱۲٪)، منتا-۲-ان-۱-اول (۵/۳٪)، کارواکرول (۵/۱٪)، نئومنتول (۴/۷۸٪) و منتون (۴/۴۶٪) بودند (۲۰) .

رضایی و همکاران در تحقیقی، اثر زمان برداشت بر میزان و نوع ترکیب‌ها و کمیت اسانس *Z. clinopodioides* را مورد بررسی قرار دادند (۱).

تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان معطر اثر می‌کند. بررسی تأثیر عوامل بوم‌شناختی مختلف بر کمیت و کیفیت ماده مؤثره گیاه دارویی *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas در استان‌های همدان، مرکزی، کرمانشاه و کردستان مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور، اندام‌های هوایی گیاه از ۱۲ رویشگاه برداشت شده و پس از خشک شدن در مجاورت هوا، اسانس آنها استخراج و مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۰). نجفی در تحقیقی اثر شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاه دارویی *Tanacetum polycephalum Sch.*Bip. را بررسی کرد (۱۲). هوشیدری در تحقیقی اثر عوامل اکولوژیک بر کمیت و کیفیت اسانس *Salvia bracteata* Banks & Sol. را مورد بررسی قرار داد (۱۳).

با توجه به اینکه عوامل اقلیمی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان معطر تأثیر دارند، در این تحقیق برای اولین بار تأثیر شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت اسانس *Z. clinopodioides* مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

جمع‌آوری اندام‌های گیاهی و اطلاعات رویشگاهی: در مناطق مورد بررسی قبل از شروع جمع‌آوری، مشخصات رویشگاه از قبیل ارتفاع، جهت شیب و طول و عرض جغرافیایی با استفاده از GPS ثبت شد و درصد پوشش گیاهی و درصد شیب منطقه نیز مشخص شد. با استفاده از روش حلزونی با محور قرار دادن گونه مورد نظر اقدام به جمع‌آوری نمونه گردید. منابع گیاهی مورد استفاده در این طرح شامل اندام‌های هوایی (برگ و گل و شاخه) گیاه *Z. clinopodioides* در مرحله گلدهی کامل بود که از ۱۱

منطقه جمع‌آوری شدند. اندام‌های هوایی گونه مورد بحث در داخل کیسه‌های پارچه‌ای از جنس متقال به هرباریوم منتقل شدند و در آزمایشگاه روی روزنامه پهن گردیدند تا خشک شوند، همزمان عملیات آماده‌سازی آنها شامل جدا کردن خار و خاشاک و علف‌های هرز و پاک کردن گیاه روی آن انجام شد. پس از خشک کردن، گیاه آسیاب شد و مجدداً به پارچه‌های متقال برگردانده شد و مشخصات هر نمونه در داخل و خارج آن نوشته شد. نام نمونه‌های گیاهی همراه این گونه گیاهی نیز ثبت گردید.

تجزیه نمونه‌های خاک : یک نمونه خاک از تمامی مناطق تا عمق ۳۰ سانتی‌متری برداشت شد تا مورد تجزیه قرار گیرد. نمونه‌های خاک برداشت شده از هر رویشگاه گونه *Z. clinopodioides* برای تجزیه به آزمایشگاه خاک‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان منتقل شدند و از لحاظ برخی از خصوصیات کمی و کیفی شامل pH، هدایت الکتریکی (EC)، درصد مواد خنثی‌شونده (T.N.V)، درصد کربن آلی، فسفر و پتاسیم قابل جذب و بافت خاک مورد بررسی و تجزیه قرار گرفتند (جدول ۲).

استخراج اسانس و جداسازی ترکیبات اسانس: اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با استفاده از ۵۰ گرم از اندام هوایی خشک شده گیاه به مدت ۱۲۰ دقیقه در سه تکرار انجام شد. این زمان (۱۲۰ دقیقه) حداکثر زمان لازم برای اسانس‌گیری بود، زیرا با ادامه زمان اسانس‌گیری پس از حدود ۱۰۰ دقیقه بر حجم و وزن اسانس اضافه نشد. با محاسبه درصد رطوبت، بازده اسانس بر حسب وزن خشک w/w بدست آمد و با اضافه کردن کمی سولفات سدیم به اسانس، آب اضافی آن گرفته شد، سپس اسانس برای تزریق به دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی آماده شد، در این فاصله اسانس‌ها در ظرف‌های دربسته در یخچال نگهداری شدند. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس‌ها از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی مدل Shimadzu – 9A (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی مدل Varian – 3400 (GC/MS) استفاده گردید. برای محاسبه اندیس‌های بازداری ترکیبات، آلکان‌های نرمال C9 – C22 به دستگاه GC تزریق شد. شناسایی ترکیب‌ها با مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیب‌های استاندارد، با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه و به کمک شاخص‌های بازداری محاسبه شده و مقایسه آنها با شاخص‌های بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده، انجام شد. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده‌پرداز R3A – Chromatepac به روش نرمال کردن سطح (normalization method Area) و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به طیف‌ها انجام شده است.

تجزیه و تحلیل آماری: در این پژوهش داده‌های حاصل از تعیین بازده اسانسها در تکرارهای مختلف از هر نمونه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 مورد مقایسه آماری قرار گرفتند.

نتایج

شرایط رویشگاهی گونه گیاهی *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) Rech.f. : در این مطالعه شرایط رویشگاهی گونه گیاهی دارویی مورد مطالعه (*Ziziphora clinopodioides*) و گیاهان همراه آن در شرایط زیستگاهی مختلف تعیین گردید. از آنجایی که محور اصلی این مطالعه گونه دارویی *Z. clinopodioides* بوده است در جدول ۱ به طور اجمالی مشخصات رویشگاهی این گونه در ۱۱ رویشگاه مورد مطالعه نشان داده شده است تا به طور واضح‌تری زیستگاه‌های مختلف این گونه با هم مقایسه شود.

نمونه‌های همراه *Ziziphora clinopodioides* در رویشگاه‌های مورد مطالعه: در مجموع این ۱۱ منطقه، به

طور میانگین ۲۱ نمونه گیاهی جمع‌آوری شد که نمونه‌های زیر در بیشتر مناطق دیده شدند.

Eryngium bungei Boiss.

Dianthus szowitsianus Boiss.

*Centaurea virgata subsp. squarrosa (*Boiss.*)* Gugler

Euphorbia osyridea Boiss.

*Scariola orientalis (*Boiss.*)* Soják

Bromus tectorum var. tectorum

Euphorbia cheiradenia Boiss. & Hohen.

Dianthus crinitus Sm.

Verbascum pyramidatum M.Bieb.

*Noaea mucronata (*Forssk.*)* Asch. & Schweinf.

Eryngium bungei Boiss.

جدول۱- مشخصات رویشگاهی مناطق مورد بررسی

N: شمالی، E: شرقی، W: غربی، NW: شمال غربی، NE: شمال شرقی، SE: جنوب شرقی.

کد مناطق	ارتفاع مناطق (متر)	درجه حرارت سالانه (سانتی گراد)	بارندگی سالانه (میلیمتر)	طول و عرض جغرافیایی	جهت شیب	درصد شیب	درصد پوشش
Z_1	۲۱۰۰	۹/۵۰	۳۷۹	34°46'52.48"N, 48°28'29.18"E	N	۴۵	۸۰
Z_2	۲۱۵۰	۱۱/۳۰	۳۲۰	34°26'22.23"N, 48°37'48.89"E	E	۵	۲۰
Z_3	۲۱۸۰	۱۱/۰۰	۳۳۰	34°26'41.14"N, 48°32'58.54"E	W	۲۰	۷۰
Z_4	۲۳۳۰	۹/۲۰	۴۰۰	34°49'12.39"N, 48°10'04.76"E	W	۶۰	۸۵
Z_5	۲۲۳۰	۹/۹۰	۳۶۰	34°47'51.41"N, 48°07'59.14"E	E	۳۵	۷۵
Z_6	۲۲۲۵	۹/۰۰	۴۰۳	34°42'12.00"N, 48°21'52.26"E	NW	۶۵	۶۰
Z_7	۱۸۹۰	۹/۸۰	۳۷۵	34°15'26.68"N, 48°57'52.55"E	NW	۶۵	۶۰
Z_8	۱۷۱۰	۱۰/۵۰	۳۴۷	34°08'46.84"N, 48°14'57.76"E	NE	۵۵	۸۰
Z_9	۲۲۰۰	۹/۰۰	۳۹۹	34°45'12.05"N, 48°29'38.17"E	NE	۶۵	۶۰
Z_{10}	۲۳۳۵	۸/۰۰	۴۳۰	34°42'21.53"N, 48°34'22.31"E	NE	۶۰	۵۵
Z_{11}	۲۰۸۰-۲۱۳۰	۸/۵۰	۴۱۹	35°32'24.75"N, 49°05'56.72"E	SE	۲۰	۶۵

جدول ۲- مقایسه شرایط خاک گونه دارویی *Ziziphora clinopodioides* در رویشگاه‌های مورد مطالعه

CL : لومی - رسی Si-L : سیلتی - لومی L : لومی Si-CL : سیلتی- لومی - رسی .

کد مناطق	EC (ms/cm)	pH	شرایط خاک: درصد مواد خنثی شونده	درصد کربن آلی	فسفر قابل جذب (p.p.m)	پتاسیم قابل جذب (p.p.m)	بافت
Z_1	۰/۶۳	۸/۱۰	۷/۸۹	۰/۱۹	۱/۶	۱۰۰	Si-L
Z_2	۰/۴۵	۸/۲۰	۵/۴۰	۰/۱۰	۳/۸	۶۰	Si-L
Z_3	۰/۳۹	۷/۳۸	۰/۴۲	۰/۵۲	۲/۲	۶۰	L
Z_4	۰/۴۸	۷/۳۰	۱/۲۵	۰/۷۳	۱۹/۶	۷۰	Si-L
Z_5	۰/۹۸	۷/۹۰	۵/۸۱	۰/۷۰	۱۰/۶	۲۱۰	Si-L
Z_6	۰/۴۰	۷/۵۰	۰/۴۲	۰/۷۱	۲۴/۰	۳۴۰	Si-L
Z_7	۰/۶	۸/۰۵	۲۳/۲۴	۱/۶۰	۱۴/۴	۳۷۰	L
Z_8	۰/۴۵	۸/۰۰	۲۴/۹۰	۰/۷۰	۳/۴	۲۲۰	CL
Z_9	۰/۶۳	۸/۱۰	۴/۵۷	۰/۸۹	۱۰/۸	۳۶۰	L
Z_{10}	۰/۳۱	۸/۱۰	۲۸/۶۴	۰/۴۲	۱۴/۴	۸۰	L
Z_{11}	۱/۰۵	۸/۱۲	۲/۴۹	۰/۳۱	۵/۴	۱۸۰	Si-L

جدول ۳- تجزیه واریانس بازده اسانس در رویشگاه‌های مختلف *Ziziphora clinopodioides*

منابع تغییر	درجه آزادی	بازده اسانس	F value	Pr > F
تیمار	۱۱	۰/۲۰۸	۲۹/۳۸	<۰۰۰۱/
خطا	۲۴	۰/۰۰۷		
کل	۳۵			
کوواریانس(c.v)		۱۳/۳۱		

جدول ۴- مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن (۵٪ =α) جهت تأثیر رویشگاه‌ها بر کمیت اسانس مناطق

تیمار(کد مناطق)	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4	Z_5	Z_6	Z_7	Z_8	Z_9	Z_{10}	Z_{11}
بازده اسانس	۰/۳۷	۰/۶۸	E۰/۴۳	۰/۵۶	B۰/۸۳	۰/۶۹	۱/۰۸	A۱/۰۰	۰/۳۸	E۰/۴۰	۰/۳۱
	e	c		c		cb	a		e		e

(حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد).

تجزیه و تحلیل آماری

الف) تجزیه کمی: به‌منظور بررسی تأثیر رویشگاه بر کمیت اسانس *Z. clinopodioides*، میانگین تیمارها (۳ تکرار) با استفاده از آزمون دانکن (با سطح احتمال۵٪ و ۱٪ =α) مورد مقایسه قرار گرفتند. جدول تجزیه واریانس به همراه نتایج آزمون دانکن در جدولهای ۳ و ۴ آمده است. جدول ۳ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بازده اسانس گونه *Z. clinopodioides* در مناطق مختلف رویشی می‌باشد.

در جدول ۴ ترکیبات شناسایی شده در همه نمونه‌ها به صورت مقایسه‌ای آورده شده است.

مقایسه میانگین‌ها، تأثیر رویشگاه‌های مختلف بر کمیت اسانس را نشان می‌دهد که در بین مناطق مورد مطالعه، بیشترین مقدار اسانس از لحاظ کمی مربوط به رویشگاه **Z_7** بود که اطراف منطقه بکر و دست‌نخورده بود. بازده اسانس نمونه برداشت شده از این رویشگاه با نمونه رویشگاه **Z_8** اختلاف معنی‌داری نداشت. پس از این دو رویشگاه، بالاترین بازده اسانس در نمونه‌های برداشت شده از رویشگاه **Z_5** دیده شد. کمترین مقدار اسانس از لحاظ کمی نیز مربوط به رویشگاه **Z_{11}** بود که اطراف منطقه بکر و دست‌نخورده بود. البته از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین این رویشگاه و رویشگاه‌های **Z_1** ، **Z_9** و **Z_{10}** وجود نداشت.

جدول ۵- تجزیه کیفی ترکیبات اسانس *Ziziphora clinopodioides* در ۱۱ منطقه مورد بررسی

نام ترکیب	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4	Z_5	Z_6	Z_7	Z_8	Z_9	Z_{10}	Z_{11}
α-Pinene	۲/۸	۲/۵	۰/۳	۲/۸	۰/۸	۰/۷	-	۰/۷	۱/۵	۲/۹	۰/۷
Sabinene	۵/۲	۱/۸	۰/۸	۴/۹	۱/۵	۱/۲	**۱۲/۰**	۱/۱	۳/۳	۲/۵	۱/۵
β-Pinene	۵/۲	۳/۵	۰/۷	۴/۵	۱/۴	۱/۴	**۷/۸**	۱/۱	۲/۵	۵/۰	۱/۲
Myrcene	۱/۸	۰/۱	-	۱/۷	۰/۱	-	۳/۸	-	۰/۶	۱/۵	۱/۴
Limonene	۲/۷	۱/۳	-	۲/۶	۰/۵	۰/۴	۵/۲	۰/۳	۰/۲	۴/۶	۲/۵
1,8-Cineole	**۲۱/۷**	**۹/۷**	**۶/۱**	**۲۳/۶**	**۸/۱**	**۷/۷**	**۲۹/۲**	**۷/۱**	**۱۲/۶**	**۲۹/۹**	**۷/۸**
P-Menth-3-en-8-ol	۲/۰	**۱۰/۸**	**۲۸/۴**	۲/۲	۱/۸	۱/۸	۰/۹	**۱۴/۰**	۱/۶	۷/۰	-
Isomenthone	۲/۲	۲/۱	۱/۳	-	۱/۳	۵/۱	۰/۱	۰/۴	-	۵/۳	۰/۹
Neomenthol	**۸/۹**	**۸/۵**	**۵/۲**	۸/۰	**۶/۶**	**۷/۰**	-	۰/۹	۱/۳	۳/۴	**۱۴/۸**
Terpinen-4-ol	۱/۶	۱/۳	۱/۵	-	۱/۳	-	۱/۱	۰/۳	**۱۸/۹**	۱/۸	۴/۶
α-Terpineol	۲/۷	۲/۰	۰/۷	۲/۶	۲/۹	۱/۱	۱/۶	۰/۵	۲/۹	۱/۵	۳/۷
Pulegone	**۲۲/۹**	**۴۵/۰**	**۴۳/۵**	**۲۴/۵**	**۵۶/۹**	**۵۹/۳**	**۵/۲**	**۶۰/۴**	**۳۲/۴**	**۲۲/۳**	**۲۸/۵**
Piperitone	۱/۷	۲/۳	۱/۴	۱/۶	۱/۵	۲/۵	۰/۳	۰/۸	۱/۱	۱/۱	۶/۸
Bornyl acetate	۱/۶	۰/۲	-	۱/۰	۰/۵	-	۰/۷	۰/۲	۰/۶	۰/۳	۲/۳
Piperitenone	۴/۴	۴/۸	۵/۶	۴/۷	**۱۰/۳**	**۱۰/۴**	۰/۶	۸/۰	۱/۱	۱/۱	۶/۸
E-Caryophyllene	۲/۱	-	-	۲/۳	-	-	۰/۵	-	۰/۴	۰/۸	۰/۷
Germacrene D	۲/۳	۰/۴	-	۰/۴	-	-	۰/۱	-	۰/۳	۰/۹	۰/۲
Spathulenole	۳/۵	۰/۴	۰/۳	۱/۴	۰/۱	-	۲/۵	۰/۳	۴/۶	۰/۲	۱/۲
γ-Terpinene	۰/۹	۰/۸	۱/۸	۱/۰	۰/۶	-	**۱۴/۷**	۰/۵	۱/۳	۰/۹	۵/۲
Menthyl acetate	۰/۱	۰/۶	۰/۳	۱/۰	۱/۶	-	۰/۳	۰/۱	۰/۹	۰/۹	۰/۳
α-Thujene	۰/۱	-	-	۰/۱	-	-	۳/۲	-	۰/۳	۰/۶	-
Neoisomenthol	-	-	۰/۹	-	-	-	۴/۳	۰/۴	۱/۵	-	-
β-Bourbonene	۰/۵	۰/۵	۰/۳	-	۰/۲	۰/۳	۰/۵	۰/۳	۱/۷	۱/۱	۱/۳
Camphene	۰/۴	-	-	۰/۵	-	-	۰/۳	-	۰/۳	۰/۴	-
(E)-β-Ocimene	۰/۳	-	-	۰/۴	-	-	۰/۷	-	۰/۴	۰/۶	۰/۸
Bicyclogermacrene	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۲	۰/۲	۰/۵

بازده اسانس در رویشگاه‌های مختلف بین ۰/۳۱٪ تا ۱/۰۸٪ متغیر بود. باباخانلو و همکاران بازده اسانس این گونه را به روش تقطیر با آب و بخار نسبت به وزن گیاه خشک ۱/۲ درصد بدست آوردند(۲). ضرابی و همکاران بازده اسانس گیاه *Z. clinopodioides* زیر گونه (Boiss) *rigida* را ۰/۹ درصد گزارش کردند (۹). نتایج تحقیقات قبلی نیز نشان‌دهنده تفاوت در بازده اسانس این گونه در رویشگاه‌های مختلف است.

ب) تجزیه کیفی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌ها: در کل این ۱۱ منطقه مجموعاً ۲۶ ترکیب در اسانس *Ziziphora clinopodioides* شناسایی شد که ۶ ترکیب در تمامی مناطق به طور مشترک وجود داشتند که عبارتند از: بتا-پینن، سابینن، ۸،۱-سینئول، پولگون، پیپریتنون و آلفا-ترپینئول (جدول ۵).

دامنه تغییرات پولگون، بین ۵/۲ درصد تا ۶۰/۴ درصد متغیر می‌باشد که نشان‌دهنده تفاوت شدید کیفیت اسانس در مناطق رویشگاهی مختلف می‌باشد. در بین مناطق مورد بررسی، منطقه با کد $\mathbf{Z_7}$ کمترین مقدار و منطقه با کد $\mathbf{Z_8}$ بیشترین مقدار پولگون را دارا می‌باشند. با توجه به اینکه بسیاری از خواص ضدمیکروبی این اسانس از وجود پولگون ناشی می‌شود (۴ ،۶، ۹)، بنابراین می‌توان گفت اسانس نمونه‌های رویشگاه $\mathbf{Z_8}$ دارای کیفیت بالاتری از اسانس بوده است. مقایسات آماری نیز نشان داد که بازده اسانس در این رویشگاه در بالاترین سطح قرار گرفته است. پس از این رویشگاه به‌ترتیب نمونه‌های برداشت شده از رویشگاه $\mathbf{Z_6}$ و $\mathbf{Z_5}$ با دارا بودن ۵۹/۳٪ و ۵۶/۹٪ بالاترین میزان پولگون را در اسانس دارا بوده‌اند. کمترین میزان پولگون نیز در نمونه جمع‌آوری شده از منطقه $\mathbf{Z_7}$ دیده می‌شود. در نمودار زیر تغییرات میزان پولگون در نمونه‌های مختلف دیده می‌شود.

با توجه به اینکه بازده کمی اسانس در دو نمونه $\mathbf{Z_7}$ و $\mathbf{Z_8}$ با هم اختلاف معنی‌داری نداشت ولی بررسی کیفی اسانس نشان می‌دهد که نمونه $\mathbf{Z_8}$ دارای بالاترین کیفیت اسانس، از نظر میزان پولگون و دارا بودن خواص ضدمیکروبی است، در حالی که نمونه $\mathbf{Z_7}$ پایین‌ترین کیفیت را از این نظر دارد. این نتایج نشان می‌دهد که بدون استخراج و آنالیز اسانس با توجه به میزان اسانس به تنهایی نمی‌توان در مورد یک گونه یا رویشگاه نظر داد.

دامنه تغییرات ۸،۱- سینئول به‌عنوان دومین ترکیب عمده و مهم این اسانس، بین۶/۱ درصد تا ۲۹/۹ درصد متغیر می‌باشد و در بین مناطق مورد بررسی، منطقه با کد $\mathbf{Z_3}$کمترین مقدار و منطقه با کد $\mathbf{Z_{10}}$ بیشترین مقدار ۸،۱- سینئول را دارا می‌باشند. پس از آن نمونه $\mathbf{Z_7}$ قرار دارد. در زیر نمودار تغییرات میزان این ترکیب در نمونه‌های مختلف دیده می‌شود.

صالحی و همکاران اجزای اصلی اسانس *Z. clinopodioides* زیر گونه (Juz) *bungeana* را پولگون (۶۵/۲٪)، ایزومنتون (۱۱/۹٪)، ۸،۱-سینئول (۷/۸٪) و پیپریتنون (۶/۵٪) گزارش کردند (۱۹). صالحی و همکاران ترکیب‌های عمده اسانس *Z. clinopodioides* زیر گونه (BOISS) *rigida* را نیز پولگون (۴۵/۸٪)، پیپریتنون (۱۴/۷٪)، پارا-منتا-۳-ان-۸ اول (۱۲/۵٪) و تیمول (۸٪) گزارش کردند (۱۷). همانگونه که ملاحظه می‌شود ترکیب اسانس دو زیرگونه مشابه هم هستند. میزان پولگون در اسانس نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق از ۵٪ تا ۶۰٪ متغیر بود که نشان‌دهنده تأثیر شرایط رویشگاهی بر میزان اجزای اسانس است.

باباخانلو و همکاران ترکیب‌های اصلی اسانس کاکوتی کوهی (*Z. clinopodioides* Lam.) از منطقه پلور (استان تهران) را پولگون (۲۴/۷٪) و نئومنتول (۱۳٪) گزارش کردند (۲) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

در تحقیقات قبلی نشان داده شده که اسانس این گونه با ترکیب عمده پولگون دارای اثرات ضد میکروبی قوی است.Suzan Ozturk و Sezai Ercisli فعالیت

آنتی‌باکتریایی و ترکیب شیمیایی *Ziziphora clinopodioides* را بررسی کردند. اسانس و عصاره متانول به‌دست آمده از بخش‌های هوایی گیاه مذکور که از بخش شرقی ترکیه جمع‌آوری شده بود برای ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌باکتریایی در مقابل ۵۲ باکتری گرم‌مثبت و گرم‌منفی ارزیابی شد. ترکیبات اصلی اسانس‌ها پولگون (۳۱/۸۶٪)، ۸،۱–سینئول (۱۲/۲۱ ٪)، لیمونن (۱۰/۴۸ ٪)، منتول (۹/۱۳ ٪)، بتا–پینن (۶/۸۸ ٪)، منتون (۶/۷۳ ٪) و پیپریتون (۴/۱۸٪) بود (۱۸) .

چیت‌ساز و همکاران اثرات آنتی‌باکتریایی اسانس و عصاره متانولی *Z. clinopodioides* را بررسی کردند. رشد ارگانیسم‌های گرم مثبت (*Staphylococcus aureus* و *Streotococcus pyogenes*) به وسیله عصاره متانولیک در غلظتی در حدود ۲۵ mg/ml بازداشته شد ولی هیچ یک از گونه‌های گرم‌منفی را ممانعت نکرد. البته اسانس رشد همه ارگانیسم‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی آزمایش شده را با بالاترین اثر روی *Salmonella typhimurium* (با غلظت مهارکنندگی و میکروب‌کشی ۲۲۵ micg/ml) متوقف کرد (۱۵).

مهربان سنگ‌آتش و همکاران در پژوهشی نشان دادند که عصاره کاکوتی کوهی می‌تواند از رشد باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی جلوگیری نماید. بنابراین آنها به این نتیجه رسیدند که می‌توان استفاده از عصاره کاکوتی کوهی را به‌عنوان یک ترکیب نگهدارنده و طعم‌دهنده طبیعی در فرآورده‌های غذایی پیشنهاد نمود (۴). تحقیقات دیگری نیز فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتری اسانس این گیاه را ثابت کرده‌اند (۶ و ۱۱).

تحقیقات گذشته نیز ارتباط عوامل اکولوژیک را با تنوع در خصوصیات مختلف گیاهان نشان داده است (۳ و ۵).

تجزیه و تحلیل پارامترهای خاک‌شناسی: نتایج آزمایشگاهی نمونه‌ها از نظر بافت خاک (ST)، بیانگر وجود خاک‌هایی با بافت متوسط (گروه‌های لوم‌شنی، لومی و لوم‌رسی) می‌باشد که از نظر زراعی تمامی نمونه‌ها به استثناء نمونه خاک منطقه با کد $\mathbf{Z_4}$ دارای محدودیت میزان رس هستند و از این نظر در کلاس نامطلوب قرار می‌گیرند. نمونه‌های تجزیه شده از نظر هدایت الکتریکی (EC)، فاقد هر گونه محدودیت شوری هستند و کشت محصولات زراعی نیز محدودیتی ندارد. از نظر اسیدیته (PH)، نمونه‌های خاک تجزیه شده عمدتاً در کلاس قلیایی ضعیف و تا حدی کلاس خنثی جای می‌گیرند. به این ترتیب آن دسته از نمونه‌ها که در کلاس قلیایی ضعیف جای می‌گیرند، از نظر زراعی نامطلوب به حساب می‌آیند (۱۰، ۱۲، ۱۳).

اندازه‌گیری میزان مواد خنثی‌شونده (T.N.V)، عمدتاً نشان‌دهنده مقادیر کم مواد آهکی بوده و در تعدادی از نمونه‌ها مقادیر متوسط تا نسبتاً زیاد مشاهده می‌شود. بنابراین به استثنای نمونه خاک‌های مناطق $\mathbf{Z_7}$، $\mathbf{Z_8}$ و $\mathbf{Z_{10}}$، میزان مواد آهکی مطلوب می‌باشد.

از دیدگاه کشاورزی، مقادیر کربن و مواد آلی (OC و OM) بسیار مهم است (۸) که نمونه‌های تجزیه شده از این بابت عمدتاً فقیر بوده و تنها نمونه خاک منطقه $\mathbf{Z_7}$ مطلوبیت دارد.

عناصر درشت و مغذی ازت، فسفر و پتاسیم نیز دارای اهمیت ویژه‌ای هستند، میزان ازت کل (T.N) از دیدگاه زراعی اهمیت ویژه‌ای دارد که تجزیه این فاکتور نشان می‌دهد عمدتاً نمونه‌ها دارای محدودیت ازت هستند، به استثنای خاک منطقه با کد $\mathbf{Z_7}$ که از این نظر مطلوبیت دارد.

مقادیر فسفر قابل جذب (P.av) در نمونه‌های تجزیه شده عمدتاً در کلاس‌های نامطلوب قرار می‌گیرد، به استثنای نمونه خاک‌های مناطق $\mathbf{Z_4}$ و $\mathbf{Z_6}$ که از این بابت مطلوبیت دارند، از نظر پتاسیم قابل جذب (K.av) نیز مقادیر عمدتاً کم بوده و تنها نمونه‌های مناطق $\mathbf{Z_6}$، $\mathbf{Z_7}$ و $\mathbf{Z_9}$ از این نظر مطلوبیت دارند.

بحث

با توجه به جدول ۱ نکات مهم زیر قابل تعمق می‌باشد.

گونه مورد مطالعه در ارتفاعی بین ۱۷۱۰ تا ۲۳۳۵ متر گسترش دارد و بیشترین پراکنش را در دامنه ارتفاعی بالای ۲۰۰۰ متر دارا می‌باشد. البته فقط در شیب‌های جنوب و جنوب‌غربی دیده نمی‌شود. به‌طوری‌که بیشترین پراکنش این گونه در شیب شمال‌شرقی می‌باشد. در خاک‌های با بافت SiL، L و CL هم پراکنش دارد و بیشترین استقرار را در بافت SiL دارا می‌باشد. این گونه در EC بین ۰/۳۱ تا ۱/۰۵ و PH بین ۷/۳ تا ۸/۲ در مناطق مورد مطالعه رویش دارد و بیشترین پراکنش آن در خاک‌های قلیایی می‌باشد.

بررسی این نتایج نشان می‌دهد که اختلاف در خصوصیات رویشگاهی از قبیل ارتفاع، شیب و جهت شیب، درصد پوشش و سایر شرایط اقلیمی بر بازده اسانس تأثیر بسزایی دارد.

نتایج حاصل از این تحقیق در خصوص تأثیر عوامل اقلیمی بر بازده اسانس، با نتایج کلوندی و همکاران در مورد گیاه *Thymus eriocalyx* (۱۰)، نجفی و همکاران در مورد گیاه *Tanacetum polycephalum* (۱۲)، عسگری و همکاران در مورد گیاه *Thymus pubescens* (۲) و هوشیدری (۱۳) در مورد گیاه *Salvia bracteata* مطابقت دارد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت با توجه به موارد مصرف ترکیبات شناسایی شده در این اسانس‌ها می‌توان بنا به مورد کاربرد، اسانس یکی از این مناطق را، به‌عنوان برترین اسانس معرفی نمود. مثلاً چنانچه سابینن و بتا-پینن مدنظر باشد، نمونه Z_7 به سایر نمونه‌ها برتری دارد. برای ۸،۱- سینئول نمونه Z_7 و Z_{10}، برای پارا-منت- ۳-ان-۸- اول، نمونه Z_3، برای نئومنتول نمونه Z_{11} و برای سایر ترکیبات نمونه‌های دیگری برتری دارند. اما با توجه به کاربرد اصلی این اسانس به‌عنوان ضدعفونی کننده و فعالیت ضدمیکروبی که به ترکیب پولگون ارتباط دارد می‌توان گفت نمونه Z_8 و پس از آن نمونه‌های Z_6 و Z_5 برترین نمونه‌ها هستند.

با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه می‌توان گفت نمونه‌هایی که در تحقیق حاضر حاوی مقدار پولگون بالاتری هستند خواص دارویی فوق را به مقدار بالاتر دارا هستند.

همچنین نتایج نشان داد که نمونه Z_7 ویژگی‌های منحصر بفردی دارد. با توجه به مجموع پارامترهای خاک شناسی به نظر می‌رسد نمونه Z_7 که از نظر خاک مطلوبیت بهتری داشته اسانس با کیفیت پایین‌تر (از نظر میزان پولگون) تولید کرده است. بار دیگر بر این نتیجه‌گیری صحه گذاشته می‌شود که ایجاد اسانس و برخی ترکیبات مخصوص در آن پاسخی است به برخی استرس‌های محیطی که در این مورد عدم مطلوبیت خاک عامل استرس بوده است (۷، ۸، ۱۰، ۱۳، ۱۴).

منابع

۱. احسانی، ر، جایمند، ک، رضایی، م ب، شریفی، ا ، مجد، ا، ۱۳۸۰، بررسی اثر زمان برداشت بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه *Ziziphora clinopodioides* .همایش ملی گیاهان دارویی ایران، ۲۶-۲۴ بهمن: صفحه ۷۲.

۲. احمدی، ل، باباخانلو، پ، برازنده، م، سفیدکن، ف ، عسگری، ف، میرزا، م، ۱۳۷۲، بررسی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) نشریه تحقیقات گیاهان دارویی، شماره ۲؛ صفحات ۱۰۳ الی ۱۱۴ .

۳. اکبری نیا، م، طالشی ،ح، ۱۳۹۰ ، تنوع زیستی گونه های چوبی و علفی در رابطه با عوامل محیطی در جنگل های پایین بند شهر نوشهر ، مجله زیست شناسی ایران ، دوره ۲۴، شماره ۵ ، صفحه ۷۷-۷۶۶.

۴. بیرقی طوسی، ش، کاراژیان، ر ، مهربان سنگ‌آتش، م، ۱۳۸۶، مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره*Ziziphora clinopodioides* بر باکتری‌های مولد فساد و بیماریزای مواد غذایی. مجله گیاهان دارویی، جلد ششم، صفحات ۴۶ الی ۵۱،

۵. پور مجیدیان، م ، جلیلوند ، ح، حاجی میرزا آقایی، س، کوچ، ی ،۱۳۹۰ ، مجله زیست شناسی ایران ، دوره ۲۴، شماره ۳، صفحه ۴۱۱-۴۰۰.

۶. جعفری، م، ۱۳۸۱ ، بررسی اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره کاکوتی کوهی روی هلیکو باکتر پیلوری، رساله دکتری، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

۷. جهانسوز ، م.ر، دوازده امامی، س، سفیدکن ، ف، مظاهری، د، ۱۳۸۸. بررسی تأثیر شوری آب آبیاری بر عملکردهای کمی و کیفی گیاه دارویی زنیان (*Carum copticum* L. C.B. Clarke). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۵ صفحات ۵۱۲-۵۰۴.

۸. شریفی عاشورآبادی، ا ، لباسچی، م.ح، ۱۳۸۰. تغییرات هیپریسین در رویشگاههای مختلف گل راعی . تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۱۱، صفحات ۱۰۰-۸۷.

۹. ضرابی، م، ۱۳۷۹، بررسی گیاهشناسی، خرده‌نگاری، تجزیه و شناسایی اجسام موجود در اسانس گیاه آویشن باریک *Ziziphora clinopodioides* subsp . *rigida* ، پایان نامه دکتری، رشته داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

۱۰. کلوندی، ر،۱۳۸۲، بررسی تأثیر عوامل بوم‌شناختی مختلف بر کمیت و کیفیت ماده مؤثره گیاه دارویی *Thymus ericalx* (*Ronniger*) در استان‌های همدان، مرکزی، کرمانشاه و کردستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، رشته علوم گیاهی ، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

۱۱. مجد، ا، ملاباشی، ز، مهرابیان، ص، ۱۳۷۵، بررسی اثر ضد میکروبی سه گونه از گیاهان تیره نعناع (کاکوتی، مریم گلی و نعناع)، بر ۱۵ سویه باکتری بیماریزای روده ای و عامل مسمومیت غذایی. نشریه علوم، جلد هشتم، شماره ۱، صفحات ۱ الی ۱۳.

۱۲. نجفی، ق، ۱۳۸۳، بررسی اکوفیزیولوژیکی گیاه دارویی *Tanacetum polycephalum* و اثر شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت ماده مؤثره. پایان نامه کارشناسی ارشد، رشته علوم گیاهی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

۱۳. هوشیدری، ف،۱۳۸۴ ، بررسی تأثیر عوامل اکولوژیک بر روی کمیت و کیفیت اسانس *Salvia bracteata* Banks &Soland در استان کردستان. پایان نامه کارشناسی ارشد، رشته علوم گیاهی دانشگاه پیام نور مرکز تهران.

14.Barroso, J.G., Cristina Figueiredo, A., Pedro, L.G. and Scheffer, J.J.C., 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 23: 213-226.

15. Barrton MD, Bazargan M, Chitsaz M, Kamali Nrjad M, Naseri M, 1386. Essential oil Composition and antibacterial effects of *Ziziphora clinopodioides LAM*.

16. Chachoyan AA,Oganesyan GB. 1996.Antitumor activity of some spices of the family Lmiceae. Rastitelnye Resursy .32،59-64.

17. Eftekhar, F, Salehi, P., Sonboli, A., Nejad Ebrahimi, S, Yousef Zadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of oils and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp *rigida* (Boiss). Rech. f. from Iran. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28: 1892-1896.

18. Gozde E. Yavaşoğlu N,Ülkü K. Öztürk B. 2006. Antimicrobial Activity of Endemic *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* (Boiss) P. H. Davis Essential Oil . Acta Pharmaceutica Sciencia, 48: 55-62.

19. Salehi P, Mirjalili MH,Hadian J, Nejad Ebrahimi S, Yousef Zadi M. 2006.Antibacterial Activity and composition of the Essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp bungeana(JUZ). Rech.f. from Iran Z. naturforsch. 61. 677-680.

20.Verdianrizi, MR, 2008, Composition of the essential oil and biological activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam from Iran,sustainable agriculture,2.69-71.

The effects of ecological factors on essential oil yield and composition of *Ziziphora clinopodioides* lam.Subsp.rigida(Boiss) Rech.f.

Dehghan Z.[1], Sefidkon F.[2], Emami S.M.[3] and Kalvandi R.[4]

[1] **Bent Al Hoda High School, Education Institute, Tuyserkan, I.R. of Iran**

[2] **Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, I.R. of Iran**

[3] **The Parks and Green Space Institute, Malayer, I.R. of Iran**

[4] **Research Center of Agriculture and Natural Resources of Hamedan Province, Hamedan, I.R. of Iran**

Abstract

Ziziphora clinopodioides is one of the aromatic and medicinal plants belong to Labiatea family. The essential oil of this plant contains pulegone with many medicinal properties. The aim of this study was identification of natural habitats of *Z. clinopodioides* In Hamedan province and effects of ecological factors on it's essential oil content and composition. So the aerial parts of *Z. clinopodioides* were collected from 11 localities at flowering stage and dried in shade and room temperature. Some ecological factors like geographical characters, height, slope percent and other plant species were determined. The soil of each collection site from 30 Cm depth was also analyzed. The plant materials were subjected to hydro-distillation for extraction their essential oils in three replications. The oil yields were calculated based on dry weight. The chemical constituents of essential oils were identified by using GC and GC/MS. The results showed that oil yields have significant difference at % and 5% levels. The highest oil yield was observed for Z7 and the lowest for Z11. Twenty six components were identified in the oils that the percentage of main compounds, pulegone and 1,8-cineole, was different in samples from different localities that showed the effect of ecological factors.

Key words: *Ziziphora clinopodioides* Lam., essential oil, Hamedan, pulegone and 1,8-cineole.