The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.1, Ser.67, Spring2021, p. 38-55
Article type: Research paper

فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۱، پیاپی ۶۷، بهار ۱۴۰۰، ص۳۸-۵۵
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲۹
وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.34309.1398

تأثیر عوامل اکولوژیکی و ادافیکی بر مواد مؤثره‌ی گیاه بارهنگ کبیر (*Plantago major* L.)

ناصر جعفری [*1]، مهدیه فغانی پنبه زاری [2]، اباصلت حسین زاده کلاگر [3]، محمدعلی ابراهیم زاده [4]

چکیده

گیاه بارهنگ کبیر (Plantago major L.) یکی از گیاهان دارویی مهم بوده که در سراسر دنیا در طب سنتی به کار می رود. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر عوامل اکولوژیکی و ادافیکی بر مواد مؤثره ی این گیاه صورت گرفت. برای این منظور گیاه بارهنگ کبیر از مناطق مختلف استان مازندران به نام های شوراب، پایین کلا، و پنبه زارکتی جمع آوری گردید. میزان فنول و فلاونوئید عصاره متانولی اسیدی نمونه های گیاهی، به ترتیب با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید و کوئرستین محاسبه شدند. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها به سه روش بدام اندازی DPPH، نیتریک اکساید و قدرت احیاکنندگی بررسی شد. نتایج ما نشان داد همه بارهنگ های مناطق مختلف، دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی هستند و میزان فعالیت بیولوژیکی عصاره به میزان فنول و فلاونوئید آن بستگی دارد. از سوی دیگر عملکرد آنتی اکسیدانی گونه ی بارهنگ کبیر تحت تأثیر شرایط آب و هوایی و همچنین خصوصیات رویشگاه و عوامل ادافیکی تغییر می کند. براساس این یافته ها پیشنهاد می شود، شناسایی پتانسیل عصاره ی بارهنگ کبیر و انتخاب رویشگاه و مرحله ی فنولوژی بهینه بسیار ضروری است و امکان فراهم کردن استخراج مواد مؤثره در استفاده های کاربردی از فرآورده ها و توان افزایش عملکرد دارویی گیاهان را سبب می شود.

واژه‌های کلیدی: بارهنگ کبیر، عوامل ادافیکی، عوامل اکولوژیکی، فعالیت آنتی اکسیدانی، قدرت احیاکنندگی، مواد مؤثره

۱- دانشیار گروه زیست شناسی علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
*(نویسنده مسئول: n.jafari@umz.ac.ir)
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سیتماتیک-بومشناسی، دانشگاه مازندران
۳- استاد گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
۴- استاد گروه شیمی دارویی دانشگاه علوم پزشکی ساری، ایران

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی و فرآورده های حاصل از آن ها نقش گیاهان را در چرخه ی اقتصاد پراهمیت کرده است. به طوری که مصرف رو به افزایش آن ها تنها به کشورهای در حال توسعه محدود نشد بلکه اخیراً در کشورهای توسعه یافته نیز جایگاه ویژه ای به خود اختصاص داده‌است. در کشور ما به لحاظ تنوع جغرافیایی و اقلیمی، گونه های گیاهی متنوع در آن انتشار دارد. در این میان فلور غنی ایران بیش از ۷۵۰۰ گونه ی گیاهی را در بر می گیرد که تعداد بسیار زیادی از آن ها را گیاهان دارویی تشکیل می‌دهد و به عنوان مواد اولیه جهت تولید داروهای بیخطر برای انسان استفاده می شوند. اخیراً تحقیق و پژوهش بر روی گیاهان دارویی از نظر خواص آنتی اکسیدانی آن ها که می تواند به عنوان عوامل مؤثر در بهبود سلامتی انسان مطرح باشد، مورد توجه محققان قرار گرفته است (Shaghaghi *et al.*, 2019). آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که می توانند از تولید پراکسیدان ها و رادیکال ها جلوگیری کرده و رادیکال های آزاد را خنثی و در نتیجه از ایجاد بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان (Collins, 2005) و حتی نازایی در مردان (Jahantigh & Colagar, 2017; Aftabi *et al.*, 2017) جلوگیری کنند. در واقع در حضور این ترکیبات، اکسید شدن یک ماده به تأخیر می‌افتد یا ازآن جلوگیری می شود. آنتی اکسیدان ها تشکیل گونه های فعال اکسیژن را از روش های مختلفی مانند اتصال به فلزات یا روش آنزیمی مهار می کنند (Sinkakarimi *et al.*, 2018).

متابولیت های ثانوی گیاهی ترکیباتی هستند که توسط سلول های گیاهی تولید می شوند، اما غالباً به مصرف خود گیاه نمی رسند. متابولیت های ثانوی گیاهان دارای کاربردهای مهمی در صنایع مختلف است. اسانس ها، مواد معطر، مواد مؤثره دارویی، حشره کش ها، علف کش ها، قارچ ها، هورمون های گیاهی و مواد آللوپاتیک از این جمله هستند. فرآورده های حاصل از متابولیسم ثانوی گیاهی جزء گرانبهاترین ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند، و با استفاده از کشت بافت می توان متابولیت های ثانوی را در شرایط آزمایشگاهی تولید نمود. برخلاف متابولیت های اولیه، غیاب متابولیت های ثانوی به مرگ فوری یاخته منجر نمی شود، اما ممکن است در دراز مدت سبب اختلال در بقای موجود زنده، باروری یا ویژگی ظاهری آن گردد و یا ممکن است هیچ تغییر مشهودی را سبب نشود. این ترکیبات غالباً نقش مهمی را در سیستم های دفاعی گیاهان در مقابل گیاه خواری و دیگر سیستم های دفاعی بین گونه ها بازی می کنند. این ترکیبات معمولاً فرآورده های فرعی متابولیسم هستند (Esmaeilzadeh Bahabadi & Sharifi, 2013).

تولید متابولیت های ثانوی در گیاهان تحت استرس های محیطی افزایش می یابد. به همین دلیل گیاهان روییده در ارتفاعات کوهستانی به نسبت گیاهان مناطق پست، به دلیل شرایط خشکی، نور آفتاب و اشعه فرابنفش تحت استرس های شدید قرار گرفته و مواد مؤثره در آن ها افزایش می یابد. ارتفاع از سطح دریا از جمله فاکتورهای مهم و تأثیرگذار بر رشد و نمو و عملکرد گیاهان است. تغییرات دما در اثر تغییر ارتفاع، از مهم ترین عوامل مؤثر در تغییرات مربوط به ارتفاع محل زندگی گیاه است، به طوری که با افزایش یا کاهش ارتفاع، عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش

دریافتی تغییر می کند (Kaghazloo *et al.*, 2017). عوامل زیادی از جمله خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بر میزان متابولیت های ثانوی گیاهی مانند فنول کل، فلاونوئید کل و خواص آنتی اکسیدانی گیاهان دخالت دارند (Caco & Prior, 1998). سنتز ترکیبات ثانوی در گیاهان یکی از مهم ترین مکانیزم های دفاعی در برابر پاتوژن ها بوده و کمیت و کیفیت آن بسته به زیستگاه، اندام و شرایط رویشگاهی متفاوت است (Iranbakhsh *et al.*, 2008). به طور کلی عوامل محیطی شامل خصوصیات اقلیمی، توپوگرافی و خاکی است که باید تأثیر هر کدام از آن ها را بر رشد و نمو، عملکرد و میزان مواد مؤثره ی گیاهان دارویی مورد توجه قرار دارد (Somjen *et al.*, 2004).

جنس بارهنگ در حدود ۴۸۳ گونه دارد که اکثر گیاهان آن یک ساله و گونه های دائمی آن محدود است. این گیاه تقریباً در تمام نقاط ایران از جمله در شمال، غرب، مرکز، شرق، جنوب و جنوب شرقی ایران می‌روید و در شمال آمریکا، اروپا، ترکیه، آسیای مرکزی، سیبری، افغانستان، پاکستان، عراق، فلات فلسطین و شمال آفریقا رشد می کند. در ترکیبات شیمیایی گیاه بارهنگ گلیکوزیدی به نام اوکوبین و موادی همچون پلانتاژین و ساپونین وجود دارد (Fallahian, 2006). در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره های متانولی استخراج شده از گیاه بارهنگ کبیر که از ۳ منطقه با ارتفاع متفاوت جمع آوری گردید، مورد بررسی قرار گرفت تا به بهترین شرایط برای بالاترین میزان آنتی اکسیدان پی برده شود.

مواد و روش‌ها

گیاه بارهنگ در استان مازندران، از سه منطقه با ارتفاع متفاوت به ترتیب از روستای شوراب با ارتفاع ۲۲۰۰ متر از شهرستان سوادکوه و روستای پایین کلا با ارتفاع ۲۶۳ متر و روستای پنبه زارکتی با ارتفاع ۲۰- متر از شهرستان ساری در بهار ۱۳۹۶ جمع آوری گردید. و بعد از شستشو توسط آب، در محیط سایه در هوای آزاد خشک شدند. نمونه های خشک شده پس از پودر شدن در یخچال نگهداری شدند و برای آزمایش های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند (Stark *et al.*, 2008). به منظور عصاره گیری از روش خیساندن استفاده شد. که در این روش ۱۵ گرم از اندام خشک گیاه با ۵۰ میلی لیتر متانول مخلوط شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری شد. سپس فاز آلی (متانول) جدا و مجدداً حلال جدید اضافه شد. این عمل برای سه بار تکرار گردید. در مرحله آخر، مجموعه ی حلال آلی جمع آوری و سپس توسط دستگاه تبخیر کننده ی چرخان حذف گردید (Rabiei *et al.*, 2012).

اندازه‌گیری محتوای تام فنولی

محتوای تام فنولی با استفاده از واکنشگر فولین سیوکالتیو اندازه گیری شد. ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی گرم/میلی لیتر) با ۰/۵ میلی لیتر محلول واکنشگر فولین سیوکالتیو و ۰/۰۵ میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد کربنات سدیم مخلوط گردید و سپس جذب آن در ۷۶۰ نانومتر پس از هم زدن به مدت یک ساعت در مقابل شاهد قرائت شد. محلول پایه اسید گالیک با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد، و محتوای تام فنولی بر اساس میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد (Ghasemi *et al.*, 2009). آزمایشات ۳ بار تکرار شده و میانگین جذب در معادله خط بدست آمد و گزارش شد.

اندازه‌گیری محتوای تام فلاونوئید

میزان محتوای فلاونوئید هر عصاره از طریق روش های رنگ سنجی ارزیابی شد (Chang *et al.*, 2002). برای این منظور ابتدا غلظت یک میلی گرم بر میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. مقدار ۰/۵ میلی لیتر از نمونه در ۱/۵ میلی لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد، سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول پتاسیم استات یک مولار و در نهایت ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر هم به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج ماوراء بنفش- مرئی (UV-Vis، مدل LAMBDA365 از شرکت Perkin Elmer آمریکا) اندازه گیری شد (Chang *et al.*, 2002). محتوای فلاونوئید با استفاده از معادله منحنی استاندارد کوئرستین در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و بر اساس میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره، پس از سه بار تکرار آزمایش، محاسبه و میانگین آن ها گزارش شد (Ghasemi *et al.*, 2009).

ارزیابی میزان توانایی بدام اندازی رادیکال DPPH

مقدار چهار میلی لیتر از هر عصاره، با غلظت های یک تا ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، را با یک میلی لیتر محلول متانولی از رادیکال چربی دوست ۲، ۲- دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) با غلظت۱۰ میکرو مولار (بطوریکه غلظت پایانی ۰/۲ میلی مولار DPPH باشد) مخلوط و پس از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی گرماگذاری شد و سپس جذب آن با استفاده از دستگاه طیف سنج ماوراء بنفش- مرئی (مدل فوق) در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل نمونه شاهد (حاوی ۵ میلی لیتر متانل) قرائت گردید. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی براساس توانایی عصاره در بدام اندازی رادیکال DPPH در مقایسه با توانایی بدام انداختن کنترل مثبت (ویتامین ث یا همان اسکوبیک اسید در غلظت های مشابه با نمونه) است. این میزان مطابق رابطه زیر پس از سه بار تکرار آزمایش، محاسبه و میانگین آن‌ها گزارش گردید.

$$I\% = [(Ab - As) \div AB] \times 100$$

در این رابطه جذب شاهد و جذب نمونه استاندارد به ترتیب با Ab و As نشان داده شده است (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010).

ارزیابی میزان بدام اندازی نیتریک اکساید

این روش بر این مبنا استوار بوده که سدیم نیترو پروساید در محلول های آبی در pH فیزیولوژیک به آهستگی نیتریک اکساید تولید نموده که با اکسیژن محیط وارد عمل شده و یون نیتریت تولید می نماید. یون نیتریت تولید شده در حضور واکنشگر گریس مورد سنجش قرار می گیرد. بدام اندازی نیتریک اکساید در رقابت با اکسیژن موجب کاهش تولید یون نیتریت خواهد شد. به این منظور سدیم نیترو پروساید (۱۰ میلی مولار) در بافر سالین فسفات با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از عصاره که جداگانه در آب حل شده بودند، مجاور شد. مجموعه به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق گرماگذاری شد. همان مخلوط واکنش بدون عصاره (اما مقادیر هم حجم آب مقطر) به عنوان شاهد بکار گرفته شد. بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، ۰/۵ میلی لیتر واکنشگر گریس (شامل: سولفانیل آمید ۱ درصد، نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید ۰/۱ درصد در اسید فسفریک ۲ درصد) اضافه شد. جذب مخلوط در ۵۴۶ نانومتر در مقابل بلانک (آب) قرائت شد. مطابق با این روش، میزان مهار رادیکال نیتریک اکساید با غلظت های مختلف عصاره در مقایسه با استاندارد کوئرستین (با غظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میکروگرم کوئرستین در میلی لیتر)، در ۳ تکرار آزمایش برای هر مورد محاسبه شدند (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010).

تعیین قدرت احیاکنندگی

میزان قدرت احیاکنندگی عصاره ها از روش Yen و Chen (۱۹۹۵) ارزیابی شد. غلظت مختلف از هر عصاره تهیه شد و با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفاته ۰/۲ مولار pH=۶ و ۲/۵ میلی لیتر محلول یک درصد پتاسیم فری سیانید $[K_3Fe(CN_6)]$ مخلوط شد. سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد، سپس ۲/۵ میلی لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید به نمونه ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در g× ۸۵۰ سانتریفوژ (مدل Universal 320R از شرکت Hettich، آلمان) شدند. پس از اتمام این مرحله ۲/۵ میلی لیتر از قسمت بالای محلول با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۰/۵ میلی لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید ($FeCl_3$) به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. در این آزمایش آب مقطر به عنوان شاهد، و از آسکوربیک اسید در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد. آزمایش برای هر نمونه و استاندارد سه بار تکرار شد.

آنالیز خاک

نمونه برداری خاک در استان مازندران و از سه منطقه با ارتفاع متفاوت به ترتیب از روستای شوراب با ارتفاع ۲۲۰۰ متر از شهرستان سوادکوه، روستای پایین کلا با ارتفاع ۲۶۳ متر و روستای پنبه زارکتی با ارتفاع ۲۰- متر از شهرستان ساری در بهار ۹۶ صورت گرفت. از هر یک از این مناطق، سه نقطه به صورت تصادفی انتخاب شد و با بیلچه به عمق ۳۰-۲۰ سانتی متر و به وزن تقریبی ۱ کیلوگرم برداشته و سپس این نمونه ها کاملاً با هم مخلوط شدند ، و یک نمونه یک کیلوگرمی از آن به عنوان نمونه ی خاک آن منطقه به آزمایشگاه ارسال شد. خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک شامل بافت خاک (روش هیدرومتری)، کربن آلی و مواد آلی خاک (روش والکلی بلک)، پتاسیم قابل جذب (دستگاه Flame photometer)، فسفر قابل جذب به روش Olsen و همکاران (۱۹۵۴)، نیتروژن خاک (روش کجلدال)، آهک خاک (خنثی نمودن با اسید کلریدریک)، عناصر کم مصرف به روش Lindsay و Norvell (۱۹۷۸) و هدایت الکتریکی (گل اشباع) در این مطالعه به روش Black (۱۹۷۹) اندازه گیری شدند.

بافت خاک به روش هیدرومتری و با استفاده از مثلث بافت خاک اندازه گیری شد. در این روش ۵۰ گرم خاک نرم در داخل بشر ریخته و تا نصف آن آب مقطر و سپس ۱۰ میلی لیتر هگزا متافسفات سدیم (۱۰درصد) افزوده و به وسیله ی همزن برقی ۱۵ دقیقه عمل هم زدن انجام شد. سپس مخلوط خاک و آب را داخل استوانه مدرج یک لیتری ریخته و حجم کل با آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. قرائت اول پس از ۴۰ ثانیه هم زدن اولیه انجام شد. عدد قرائت شده میزان رس و سیلت را نشان داد. در این هنگام شن درشت تر وریز تر ته نشین می شوند (Bouyoucos, 1962). کربن و مواد آلی به روش Walkely و Black (۱۹۳۴) اندازه گیری شدند. برای این منظور ابتدا مقداری از خاک در هاون چینی کوبیده شد. سپس حدود یک گرم از نمونه خاک را در ارلن مایر ۲۵۰ سی سی ریخته و به آرامی ۱۰ سی سی دی کرومات پتاسیم به آن اضافه شد. سپس ۱۰ سی سی اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه شد و نمونه با فرو آمونیوم سولفات تیتر شد. به محض اینکه به رنگ سبز لجنی درآمد، تیتر قطع گردید و حجم مصرفی فرو آمونیوم سولفات محاسبه شد (Walkely & Black, 1934).

برای انجام پتاسیم قابل جذب، ابتدا از محلول ppm ۱۰۰ پتاسیم کلرید، محلول های استانداردی با غلظت های ۵۰، ۴۰، ۳۰، ۲۰، ۱۰ تهیه شد. بعد با استفاده از دستگاه Flame photometer عدد مربوط به هر غلظت قرائت شدو سپس عدد مربوط به عصاره خاک نمونه با استفاده از این دستگاه به دست آمد و منحنی مربوط به آن رسم و نتایج تفسیر شدند (Trivedy & Goel, 1986).

فسفر قابل جذب به روش Olsen (۱۹۵۴) اندازه گیری شد. برای این منظور ابتدا ۵ گرم از نمونه ی خاک توزین و در بطری پلی اتیلن ۲۵۰ میلی لیتر قرار گرفت. دو نمونه بلانک به عنوان شاهد به نمونه ها اضافه شد. سپس ۱۰۰ میلی لیتر از محلول عصاره گیری بی کربنات سدیم به آن اضافه شد و بعد از نیم ساعت شیکر بلافاصله با کاغذ صافی شماره ۴۲ صاف شدند.

بعد از صاف شدن نمونه ها، ۵ میلی لیتر از عصاره، بلانک و استانداردها را در ارلن مایر ۱۲۵ میلی لیتر بطور جداگانه ریخته و ۵ میلی لیتر از مخلوط صاف شده به آن ها اضافه گردید. سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه روی شیکر با دور ۱۰۰ در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از گذشت یک ساعت، رنگ آبی کامل شد و با دستگاه اسپکتروفوتومتر روی طول موج ۸۸۰ نانومتر یا ۷۲۰ نانومتر قرائت شد (Olsen, 1954).

اندازه گیری نیتروژن کل در خاک به روش عمومی کجلدال انجام شد (Bremner & Mulvaney, 1965). برای این منظور یک گرم خاک هاون و نرم شده که از الک ۵۰۰ میکرونی عبور داده شد را در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری پیرکس ریخته، سپس ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۳ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ (۱۸ مولار) به آن اضافه شد. پس از انجام فرآیند هضم که با افرایش تدریجی دمای مخلوط تا ۳۰۰ درجه سانتیگراد، در مدت ۵/ ۲ تا ۲۴ ساعت که رنگ مخلوط به سبز مایل به آبی یا سفید شد، که نشان دهنده اتمام واکنش هضم است. مخلوط هضم شده، در دمای اتاق سرد شد و به آن ۳۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس مقدار ۲۵ میلی لیتر از اسید بوریک (۲درصد در آب) و اندیکاتور، در ارلن مایر ۱۲۵ ریخته شد و در دستگاه مبرد قرار گرفت. بعد از شستشوی بالن، مقدار ۲۰ میلی لیتر سود ۱۰ نرمال به نمونه اضافه شد. بلافاصله شیر قیف بسته شد و با برقراری حرارت در سیستم، حجم اسید بوریک زیر مبرد به ۷۵ میلی لیتر رسید. سپس ارلن از سیستم جدا و بعد از شستشوی انتهای مبرد، با اسید سولفوریک ۱درصد نرمال تیتر شد تا رنگ از سبز به صورتی تبدیل شد. در این روش، نیتروژن موجود در خاک ابتدا به صورت سولفات آمونیوم و سپس به صورت آمونیوم آزاد و توسط اسید بوریک به بورات آمونیوم تبدیل شد (Bremner & Mulvaney, 1965).

برای تعیین مقدار عناصر کم مصرف (آهن، روی، مس، منگنز) قابل دسترس در خاک با روش Lindsay و Norvell (۱۹۸۷) صورت گرفت. برای این منظور مقدار ۵ گرم خاک مورد نظر در داخل یک ارلن ریخته شد و ۱۰ سی سی محلول عصاره گیر DTPA (دی اتیلن تری آمین پنتا استیک اسید) با غلظت ۰/۰۰۵ مولار به آن اضافه شد. سوسپانسیون حاصل به مدت نیم ساعت شیکر گردید و توسط کاغذ صافی عصاره زلالی از آن به دست آمد. پس از تنظیم دستگاه شعله اسپکترومتری اتمیک وکالیبراسیون استانداردها، میزان جذب را قرائت و غلظت عناصر تعیین شد (Lindsay & Norvell, 1987).

اندازه‌گیری آهک خاک به روش خنثی نمودن با اسیدکلریدریک صورت گرفت. بر روی وزن معینی از خاک مقدار معینی اسیدکلریدریک ریخته شد، بخشی از اسید با آهک خنثی شد. باقی مانده اسید از طریق تیتراسیون با سود بدست آمد و از آنجا اسید مصرفی برای خنثی کردن آهک محاسبه شد (Trivedy & Goel, 1986). اندازه گیری هدایت الکتریکی خاک با روش گل اشباع صورت گرفت. برای اندازه گیری هدایت الکتریکی خاک ابتدا ۲۰ گرم از نمونه خاک در یک بشر ۱۰۰ میلی لیتری وزن شد و سپس مقدار ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه به طور متناوب همزده و به مدت

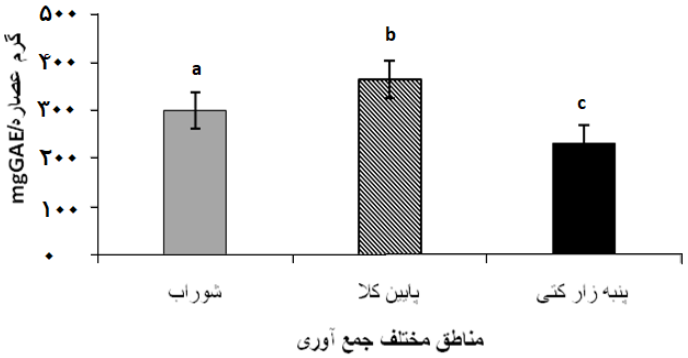
یک ساعت در حالت استراحت قرار گرفت. سپس با استفاده از یک دستگاه کنداکتومتر مقدار هدایت الکتریکی (EC) سوسپانسیون قرائت شد (Bouyoucos, 1962).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه آماری داده های به دست آمده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۶ استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها، با آزمون حداقل تفاوت معنی داری (LSD) انجام و P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی دار بودن اختلاف ها در نظر گرفته شد. نمودارها با استفاده از برنامه Excel 2016 ترسیم شدند.

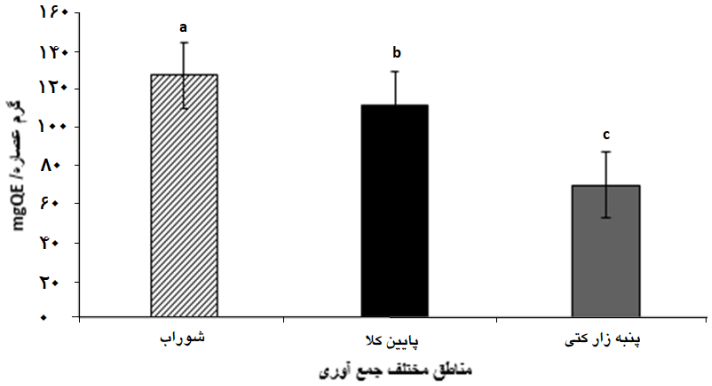
نتایج

محتوای تام فنولی با روش فولین سیوکالتیو به صورت اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره بر اساس معادله خط منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد. همانطوریکه در شکل ۱ نشان داده شد، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی کل مربوط به عصاره ی بارهنگ در منطقه ی پایین کلا با مقدار(۳۶۵/۰۷) و کمترین مقدار مربوط به پنبه زارکتی با مقدار (۲۳۱/۴۴) است. هم چنین بر طبق آنالیز واریانس داده ها، رابطه ی معنی داری میان میزان فنول در هر سه منطقه ی شوراب، پایین کلا و پنبه زارکتی در سطح ۰/۰۵ مشاهده شد.



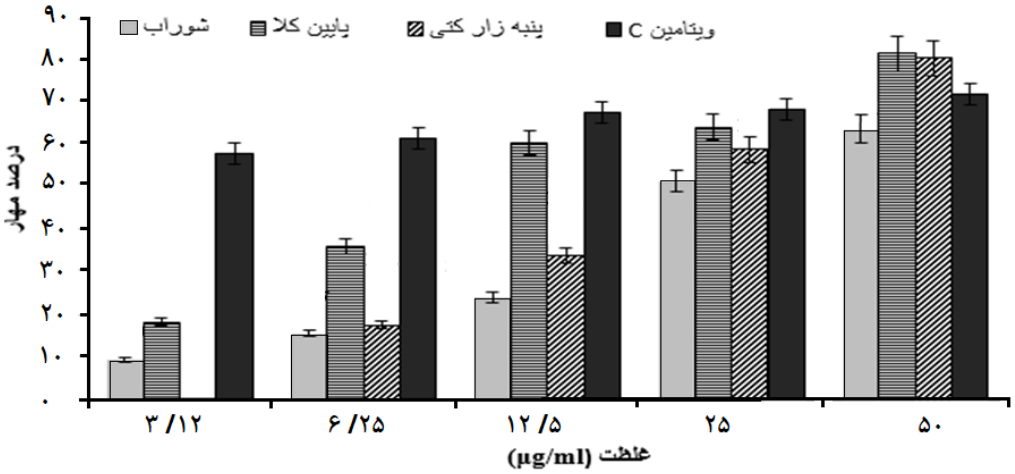
شکل ۱: مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره‌های گیاه بارهنگ مناطق مختلف: مقادیر بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک عصاره است.

محتوای فلاونوئیدی تام بر مبنای معادله ی خط منحنی استاندارد به صورت اکی والان میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره محاسبه شد. نتایج نشان دادند که بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به گیاه بارهنگ در منطقه ی شوراب است (شکل ۲). هم چنین بر طبق آنالیز واریانس داده ها، رابطه ی معنی داری میان میزان فلاونوئید در هر سه منطقه ی شوراب، پایین کلا و پنبه زارکتی در سطح ۰/۰۵ مشاهده شد.



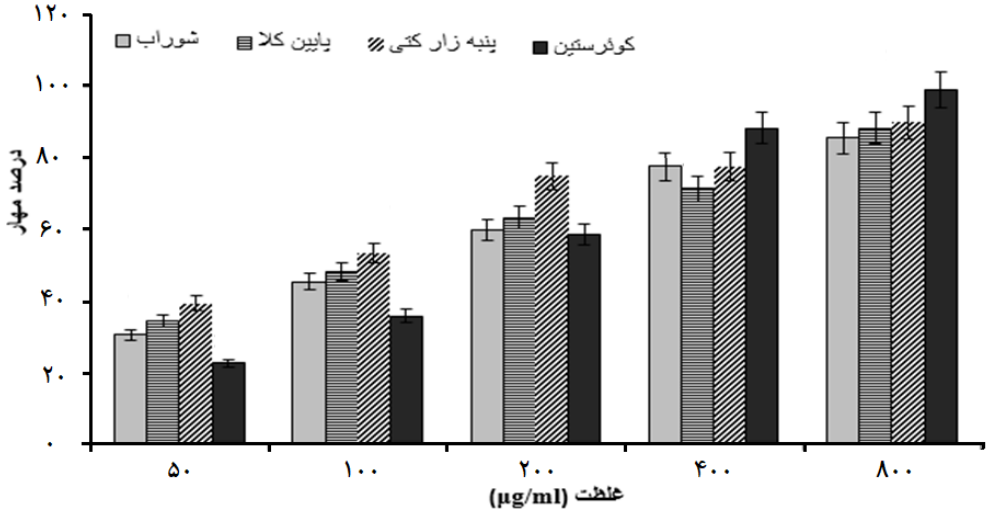
شکل ۲: مقدار ترکیبات فلاونوئیدی عصاره گیاه بارهنگ مناطق مختلف: مقادیر بر حسب میلی گرم کوئرستین درگرم وزن خشک عصاره می باشد.

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه بارهنگ مناطق مختلف، ارزیابی میزان توانایی عصاره در بدام اندازی رادیکال DPPH انجام شد. با توجه به اینکه رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیا توسط فرآیندهای گرفتن هیدروژن یا الکترون رنگ آن از ارغوانی به زرد تبدیل می شود. ترکیباتی که قابلیت انجام این عمل را دارند به عنوان یک آنتی اکسیدان مطرح می شوند. نتایج نشان داد رابطه ی معناداری بین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه بارهنگ منطقه ی شوراب و پایین کلا و منطقه ی شوراب و پنبه زارکتی در سطح ۰/۰۵ وجود دارد. اما میان منطقه ی پایین کلا و پنبه زارکتی اختلاف معناداری وجود ندارد. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با استاندارد ویتامین ث، هیچ گونه اختلاف معناداری میان آن ها مشاهده نشد (شکل ۳).



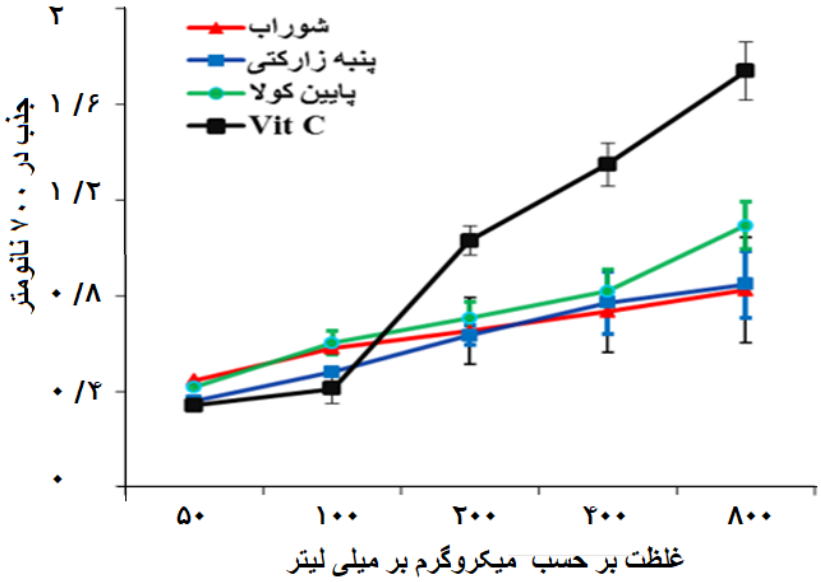
شکل ۳: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاه بارهنگ مناطق مختلف و استاندارد با روش DPPH

مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه بارهنگ در روش بدام اندازی رادیکال آزاد نیتریک اکساید که کوئرستین به عنوان استاندارد به کار گرفته شد، نشان داد رابطه ی معناداری بین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه بارهنگ منطقه ی شوراب و پایین کلا در سطح ۰/۰۵ و منطقه ی شوراب و پنبه زارکتی در این سطح وجود دارد (شکل ۴) اما میان منطقه ی پایین کلا و پنبه زارکتی اختلاف معناداری وجود ندارد. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با استاندارد کوئرستین، اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ میان آن ها مشاهده شد.



شکل ۴: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاه بارهنگ مناطق مختلف و استاندارد با روش بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید

نتایج مطالعه قدرت احیاکنندگی عصاره گیاه بارهنگ نشان داد که عصاره ی متانولی بارهنگ منطقه ی پایین کلا، قدرت احیاکنندگی بهتری نسبت به دو منطقه ی دیگر دارد (شکل ۵). بطوری که این قدرت احیاکنندگی با افزایش غلظت عصاره زیاد می شود. اما قدرت احیاکنندگی این عصاره ها در مقایسه با ویتامین ث با اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵، میزان احیاکنندگی کمتری را نشان می دهند (شکل ۵).



شکل ۵: نمودار مقایسه ای میزان خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ی گیاه بارهنگ و استاندارد ویتامین ث در احیا آهن III

بررسی بین میانگین دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (EC) و پتاسیم قابل جذب (av.P)، همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۵ و با نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM)، کربن آلی (OC) و شن (Sand)، همبستگی منفی در سطح ۰/۰۵ وجود دارد (جدول ۳). همچنین با فاکتورهایی از جمله pH، لای (Silt) و روی (Zn) به ترتیب همبستگی مثبت و معنی دار در سطح (۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۵) دارد. همچنین این مطالعه نشان داد بین میانگین حداقل دمای سالیانه با محتوای فلاونوئیدی همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۵ و با آزمون نیتریک اکساید و DPPH همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. ولی با محتوای فنولی کل و قدرت احیاکنندگی همبستگی معنی داری مشاهده نشده است. همچنین بین میانگین حداقل دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM)، کربن آلی (OC)، شن (Sand) و منگنز (Mn) دارای همبستگی منفی و معنی دار در سطح ۰/۰۱ و با فسفر قابل جذب (av.P) و هدایت الکتریکی خاک (EC) در سطح ۰/۰۵ همبستگی دارد. میانگین حداقل دمای سالیانه نیز با pH، لای (Silt)، رس (Clay) و روی (Zn) همبستگی مثبت و معنی داری را در سطح ۰/۰۱ نشان داد.

از طرفی بین میانگین حداکثر دمای سالیانه با محتوای فلاونوئیدی همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۵ و با آزمون نیتریک اکساید و DPPH همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. ولی با محتوای فنولی کل و قدرت احیاکنندگی همبستگی معنی داری مشاهده نشده است. همچنین بین میانگین حداقل دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM)، کربن آلی (OC)، شن (Sand)، فسفر قابل جذب (av.P) و منگنز (Mn) همبستگی منفی و معنی دار در سطح ۰/۰۵ وجود دارد و با لای (Silt)، رس (Clay) و روی (Zn) دارای همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۵ و با pH

در سطح ۰/۰۱ است. ولی با پارامترهای کلسیم کربنات (C.C.E)، مس (Cu) و آهن (Fe) همبستگی معنی داری مشاهده نشد (جدول ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که گیاه بارهنگ کبیر منطقه ی پایین کلا بیشترین میزان فنول را نسبت به دو منطقه ی دیگر دارد. در راستای نتایج حاصل از این تحقیق گزارش شده است که بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی رابطه ی خاص و معنی داری وجود ندارد (Hinneburg *et al.*, 2006). هم چنین برخلاف ارتباط معنی داری که قبلاً بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی گزارش شده بود (Josuttis *et al.*, 2012) ارتباطی بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی در این تحقیق یافت نشد.

در مورد ترکیبات فلاونوئیدی نیز بارهنگ منطقه ی شوراب بیشترین مقدار فلاونوئید را نسبت به دو منطقه ی دیگر نشان داد، افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی، به کاهش برخی بیماری ها در انسان منجر می شود (Hertog *et al.*, 1993). Jaakola و Hohtola (۲۰۱۰) در مورد عوامل مؤثر بر تولید فلاونوئیدها در این گونه بیان کردند که هر عاملی که در رشد و نمو گیاه مؤثر است، می تواند در تولید متابولیت ها نیز مؤثر باشد (Jaakola & Hohtola, 2010). همتی و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی گیاه سرخ ولیک نشان دادند که مکان بر میزان فلاونوئید گیاه اثر معنی داری دارد (Hemmati *et al.*, 2008). همچنین Oomaha و Mazza (۱۹۹۶) نشان دادند که با افزایش ارتفاع، بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی در اندام های گیاهی افزوده می شود که با نتایج حاضر همخوانی دارد (Oomaha & Mazza, 1996). طبق نتایج حاصل از این مطالعه، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون DPPH و در بالاترین غلظت (۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) مربوط به منطقه ی پایین کلا است. نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره های گیاه بارهنگ کبیر در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت، فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد.

Rakic و همکاران (۲۰۰۷) دو گونه ی بلوط *کوئرکوس کریس* و *کوئرکوس روبور* را از نظر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت های مختلف مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که با افزایش غلظت عصاره ی متانولی، درصد مهار رادیکال آزاد به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت. نتایج تحقیق Young Kil و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH عصاره های گیاهی به غلظت بستگی دارد و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می یابد، که این گزارش ها با نتایج این مطالعه همخوانی دارد.

جدول۱: همبستگی بین ترکیبات فنولی و فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی با فاکتورهای محیطی و خاک در عصاره گیاه بارهنگ

	flavo	fenol	DPPH	Reducing	Nitric	EC	PH	C.C.E	N	O.M	O.C	SAND	SILT
flavonoid	1	.719*	-.670*	.192	-.844**	.230	-.734*	-.281	.496	.499	.499	.421	-.393
fenol	.719*	1	.033	.802**	-.340	-.510	-.057	-.868**	-.245	-.243	-.243	-.327	.351
DPPH	-.670*	.033	1	.573	.860**	-.874**	.995**	-.523	-.975**	-.976**	-.976**	-.952**	.942**
Reducing	.192	.802**	.573	1	.133	-.881**	.503	-.968**	-.730*	-.728*	-.728*	-.784*	.785*
Nitric oxide	-.844**	-.340	.860**	.133	1	-.564	.881**	-.130	-.751*	-.754*	-.754*	-.697*	.697*
EC	.230	-.510	-.874**	-.881**	-.564	1	-.829**	.869**	.959**	.958**	.958**	.979**	-.978**
PH	-.734*	-.057	.995**	.503	.881**	-.829**	1	-.444	-.954**	-.954**	-.954**	-.924**	.908**
C.C.E	-.281	-.868**	-.523	-.968**	-.130	.869**	-.444	1	.693*	.691*	.691*	.752*	-.765*
N	.496	-.245	-.975**	-.730*	-.751*	.959**	-.954**	.693*	1	1.000**	1.000**	.995**	-.987**
O.M	.499	-.243	-.976**	-.728*	-.754*	.958**	-.954**	.691*	1.000**	1	1.000**	.995**	-.988**
O.C	.499	-.243	-.976**	-.728*	-.754*	.958**	-.954**	.691*	1.000**	1.000**	1	.995**	-.988**
SAND	.421	-.327	-.952**	-.784*	-.697*	.979**	-.924**	.752*	.995**	.995**	.995**	1	-.988**
SILT	-.393	.351	.942**	.785*	.697*	-.978**	.908**	-.765*	-.987**	-.988**	-.988**	-.988**	1
CLAY	-.438	.309	.959**	.767*	.723*	-.972**	.930**	-.737*	-.995**	-.995**	-.995**	-.996**	.993**
Fe	-.022	-.710*	-.726*	-.956**	-.366	.967**	-.662	.965**	.857**	.855**	.855**	.896**	-.904**
Mn	.945**	.455	-.873**	-.127	-.920**	.533	-.915**	.046	.751*	.753*	.753*	.692*	-.666*
Zn	-.319	.429	.916**	.839**	.637	-.995**	.877**	-.819**	-.980**	-.980**	-.980**	-.992**	.992**
Cu	-.169	-.806**	-.617	-.972**	-.235	.920**	-.545	.993**	.772*	.770*	.770*	.822**	-.833**
av.p	.982**	.585	-.786*	.016	-.886**	.398	-.842**	-.107	.642	.644	.644	.574	-.545
av.k	-.825**	-.986**	.134	-.699*	.478	.360	.223	.774*	.081	.078	.078	.165	-.191
Altitude	.786*	.136	-.984**	-.436	-.900**	.782*	-.997**	.372	.927**	.928**	.928**	.891**	-.873**
precipitation	-.315	.331	.93**	.84*	.537	-.55**	.89*	-.78*	-.98**	-.98**	-.98**	-.851**	.99**
Temp	-.668*	-.068	.86**	.404	.98**	-.99*	.90**	-.370	-.73**	-.73**	-.73**	-.811**	.65*
MinTemp	-.675*	-.036	.929**	.467	.889**	-.769*	.924**	-.421	-.882**	-.885**	-.885**	-.864**	.831**
MaxTemp	-.675*	-.134	.823**	.305	.878**	-.628	.825**	-.283	-.757*	-.760*	-.760*	-.735*	.693*

ادامه جدول۱

	CLAY	Fe	Mn	Zn	Cu	av.p	av.k	Altitude	precipitation	Temp	MinTemp	MaxTemp
Flavonoid	-.438	-.022	.945**	-.319	-.169	.982**	-.825**	.786*	-.315	-.952*	-.675*	-.675*
fenol	.309	-.710*	.455	.429	-.806**	.585	-.986**	.136	.331	-.068	-.036	-.134
DPPH	.959**	-.726*	-.873**	.916**	-.617	-.786*	.134	-.984**	.93**	.884**	.929**	.823**
Reducing	.767*	-.956**	-.127	.839**	-.972**	.016	-.699*	-.436	.84*	.404	.467	.305
Nitric oxide	.723*	-.366	-.920**	.637	-.235	-.886**	.478	-.900**	.537	.886**	.889**	.878**
EC	-.972**	.967**	.533	-.995**	.920**	.398	.360	.782*	-.55**	-.713*	-.769*	-.628
PH	.930**	-.662	-.915**	.877**	-.545	-.842**	.223	-.997**	.89*	.880**	.924**	.825**
C.C.E	-.737*	.965**	.046	-.819**	.993**	-.107	.774*	.372	-.78*	-.370	-.421	-.283
N	-.995**	.857**	.751*	-.980**	.772*	.642	.081	.927**	-.98**	-.830**	-.882**	-.757*
O.M	-.995**	.855**	.753*	-.980**	.770*	.644	.078	.928**	-.98**	-.833**	-.885**	-.760*
O.C	-.995**	.855**	.753*	-.980**	.770*	.644	.078	.928**	-.98**	-.833**	-.885**	-.760*
SAND	-.996**	.896**	.692*	-.992**	.822**	.574	.165	.891**	-.851**	-.811**	-.864**	-.735*
SILT	.993**	-.904**	-.666*	.992**	-.833**	-.545	-.191	-.873**	.99**	.774*	.831**	.693*
CLAY	1	-.887**	-.705*	.991**	-.810**	-.586	-.146	-.898**	.838**	.819**	.872**	.742*
Fe	-.887**	1	.303	-.940**	.989**	.155	.583	.601	-.790*	-.566	-.622	-.478
Mn	-.705*	.303	1	-.609	.160	.987**	-.597	.944**	-.550	-.816**	-.841**	-.794*
Zn	.991**	-.940**	-.609	1	-.880**	-.480	-.272	-.837**	.852**	.764*	.819**	.682*
Cu	-.810**	.989**	.160	-.880**	1	.009	.696*	.477	-.731*	-.461	-.514	-.373
av.p	-.586	.155	.987**	-.480	.009	1	-.710*	.882**	-.433	-.748*	-.766*	-.739*
av.k	-.146	.583	-.597	-.272	.696*	-.710*	1	-.299	-.192	.214	.189	.269
Altitude	-.898**	.601	.944**	-.837**	.477	.882**	-.299	1	-.736*	-.879**	-.919**	-.829**
precipitation	.838**	-.790*	-.550	.852**	-.731*	-.433	-.192	-.736*	1	.620	.669*	.543
Temp	.819**	-.566	-.816**	.764*	-.461	-.748*	.214	-.879**	.620	1	.993**	.989**
MinTemp	.872**	-.622	-.841**	.819**	-.514	-.766*	.189	-.919**	.669*	.993**	1	.966**
MaxTemp	.742*	-.478	-.794*	.682*	-.373	-.739*	.269	-.829**	.543	.989**	.966**	1

* معنی‌دار در سطح۵٪ ** معنی‌دار در سطح ۱٪ بدون ستاره عدم وجود اختلاف معنی‌دار

این پژوهش نشان داد که گیاه بارهنگ منطقه ی پنبه زارکتی، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در آزمون نیتریک اکساید و در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به دو منطقه ی دیگر داراست. هم چنین نتایج نشان داد که توانایی عصاره های گیاه بارهنگ کبیر در سه منطقه ی مورد بررسی، در مهار رادیکال های آزاد نیتریک اکساید وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد. فضلی و همکاران (۲۰۱۳) با ارزیابی میزان فنول و فلاونوئید

تام و فعالیت آنتی اکسیدانی پوست درختان راش و بلوط دریافتند که با افزایش غلظت، درصد مهار رادیکال آزاد نیتریک اکساید افزایش می یابد (Fazli *et al*., 2013)، که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

از سوی دیگر براساس این یافته، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون احیاکنندگی آهن III در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، مربوط به گیاه بارهنگ منطقه ی پایین کلا می باشد، که در روش قدرت احیاکنندگی، جذب نوری نمونه ها رابطه ی مستقیمی با قدرت احیاکنندگی دارد. یعنی جذب نوری بیشتر، بیانگر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است. نظری و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی خواص آنتی اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست درختان *اکالیپتوس کاملدولنسیس* (*Eucalyptus camaldulensis*) و کاج جنگلی دریافتند که با افزایش غلظت، جذب نوری عصاره ها افزایش یافته است (Nazari *et al*., 2013)که با نتایج این بررسی همخوانی دارد. داده های جدول ۱ نشان می دهد که بین فاکتورهای خاک و میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی فنولی در عصاره ی گیاه بارهنگ کبیر در هر سه منطقه ی شوراب، پایین کلا و پنبه زارکتی هم بستگی معنی داری وجود دارد. این همبستگی به این مفهوم است که سنتز ترکیبات فنولی می تواند تحت تأثیر عوامل مشترکی باشد. کربنات کلسیم، آهن، مس و پتاسیم قابل جذب موجود در خاک با ترکیبات فنولی در عصاره ی گیاه بارهنگ همبستگی منفی نشان دادند. اما با سایر پارامترهای خاک این همبستگی معنادار نبود. بین ترکیبات فلاونوئیدی با pH خاک و پتاسیم قابل جذب، همبستگی منفی و بین منگنز و فسفر قابل جذب با ترکیبات فلاونوئیدی همبستگی مثبت و معنی داری وجود دارد.

عواملی همچون شوری می تواند بر روی متابولیت های ثانوی تأثیر گذار باشد. EC بالا سبب محدود کردن رشد گیاه شده و در نهایت می تواند روی خاصیت آنتی اکسیدانی آن تأثیر گذاشته و میزان آن را پایین آورد. تحقیق Keltawi و Croteau (۱۹۸۷) نیز نشان داد که محیط های شور علاوه بر تأثیر منفی بر رشد گیاهان موجب کاهش تولید متابولیت های آن می شود. Dow و همکاران (۱۹۸۱) بیان کردند، که شوری عملکرد اسانس را در گیاهان خانواده نعناع کاهش می دهد. Ozturk و همکاران (۲۰۰۴) نیز به نتایج مشابهی در مورد بادرنجبویه رسیدند. این گزارش ها با نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر همخوانی دارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که گونه ی بارهنگ کبیر، دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی قابل قبولی است. عملکرد آنتی اکسیدانی گونه ی بارهنگ کبیر تحت تأثیر شرایط آب و هوایی و همچنین خصوصیات رویشگاه و عوامل ادافیکی تغییر می کند که این مطالعه این موضوع را ثابت کرد. شناسایی پتانسیل عصاره ی بارهنگ کبیر و انتخاب رویشگاه و مرحله ی فنولوژی بهینه، بسیار ضروری است و امکان فراهم کردن استخراج مواد مؤثره در استفاده های کاربردی از فرآورده ها و توان افزایش عملکرد دارویی گیاهان را سبب می شود.

منابع

Aftabi, Y, Colagar A.H., Mehrnejad, F., Seyedrezazadeh, E. and Moudi E. (2017) Aryl hydrocarbon receptor gene transitions (c.-742C>T; c.1661G>A) and idiopathic male infertility: a case-control study with in silico and meta-analysis. Environmental Science and Pollution Research. 24(25):20599-20615.

Black, C.A. (1979) Methods of soil analysis. American Society of Agronomy. 2: 1572-1771.

Bouyoucos, G.J. (1962) Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agronomy Journal. 54: 464-465.

Bremner, J.M., Mulvaney, C.S. (1965). Nitrogen-total. In: Methods of soil analysis: part 2, Chemical and Microbiological Properties. Page, A. L. (Ed). 1982. Second Edition. American Society of Agronomy Inc. Madison, Wisconsin USA. Agronomy Series. 9(2):596-622.

Caco, G. and Prior, R.L. (1998) Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical Chemistry. 44: 1309-1315.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal Food Drug Analysis. 10: 178-182.

Collins, A.R. (2005) Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. European Journal Cancer. 41(13): 1923-1930.

Dow, A.I., Cline, T.A. and Homing, E.V. (1981) Salt tolerance studies on irrigated mint. Bulletin of Agricultural Research Center, Washington State University, Pullman. 906pp.

Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Eslami, B. (2010) Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. Central European Journal of Biology. 5(3): 338-345.

Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Pourmorad, F. (2010) Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 9(32): 5212-5217.

Esmaeilzadeh Bahabadi, S. and Sharifi, M. (2013) Increasing the Production of Plant Secondary Metabolites Using Biotic Elicitors. Journal of Cell and Tissue. 4(2): 119-128.

Fallahian, F. (2006) Medicinal plant of Iran. 1 st-ed. Tehran, Vahed Oloom Tahghighatb Pub. 24-25.

Fazli, R., Nazarnezhad, N., Ebrahimzadeh, M.A. and Zabihzadeh, M. (2013) Evaluation of the antioxidant capacities and total phenolic contents of beech and oak Barks. Armaghane Danesh: 18(2): 137-145.

Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M.A. (2009) Antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of 13 Citrus species peels and tissues. Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences. 22(3): 277-281.

Hemmati, K.H., Sharifani, M., Kalati, H. and Badiee, P. (2008) Flavonoid content of hawthorn (*Crataeguus monogyna*) in Iran. International Horticultural Congress. 765: 287-290.

Hertog, M.L.G., Feskens, E.J.M., Hollman, P.H.C., Katan, M.B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidants flavonoids and the risk of coronary heart disease (the zutphen elderly study). Lancet. 342: 1007-1011.

Hinneburg, I., Damien Dorman, H.J. and Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of extract from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry. 97(1): 122-129.

Iranbakhsh, A.R., Hamdi, S.M. and Assadi, M. (2008) Flora, life forms and chorotypes of plants of Garmsar region in Semnan province, Iran. Pajouhesh and Sazandegi. 79: 179-199.

Jaakola, L. and Hohtola, A. (2010) Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Plant Cell and Environmental. 33(8): 1239-1247.

Jahantigh, D, and Colagar A.H. (2017) XRCC5 VNTR, XRCC6 -61C>G and XRCC7 6721G>T genes polymorphisms associated with male infertility risk: Evidences from a case-control and in silico studies. International Journal of Endocrinology. 2017: ID 4795076, 1-16.

Josuttis, M., Carlen, C., Crespo, P., Nestby, R., Toldam- Andersen, T.B., Dietrich, H. and kruger, E. (2012) Acomparison of bioactive compound of straw berry fruit from Europe affected by genotype and latitude. Berry Research. 2(2): 73-93.

Kaghazloo, Z., Hemati, K. and Khorasaninejad, S. (2017) The effect of height on some secondary metabolites of different organs of Sambucus (*Sambucus ebulus* L.) in three cities of Golestan province. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 12(47):31-43.

Keltawi, N.E. and Croteau, R. (1987) Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. Phytochemistry. 26: 1333-1334.

Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. (1978) Development of a DTPA soil test for zinc, iron, managanez and Copper. Journal of Soil Science. 42: 421-428.

Nazari, S., Nazarnezhad, N. and Ebrahimzadeh, M.A. (2013) Evaluation of antioxidant properties and total phenolic and flavonoids content of *Eucalyptus camaldulensis* and *Pinus sylvestris* bark. Iranian journal of Wood and Paper Science Research. 28(3): 522-533.

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, C.A. (1954). Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. Journal of Chemical Information and Modeling. 53(9): 1689-1699.

Oomaha, B.D. and Mazza, G. (1996) Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44(7): 1746-1750.

Ozturk, A., Ipek, A., Unlukara, A. and Gurbuz, B. (2004) Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm depression of growth and essential oil formation in (*Melissa officinalis* L.). Pakistan Journal of Botany. 36: 787-792.

Rabiei, K.H., Bekhradnia, S., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F. and Ebrahimzadeh, M.A. (2012) Antioxidant activity of polyphenol and ultrasonic extracts from fruits of *Crataegus pentagyna* subsp. *Elburensis*. Natural Product Research. 26(24): 2353-2357.

Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevc, V., Povrenovic, D. and Siler- Marinkovic, S. (2007) Influence of thermal treatment on phenolic compouds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry. 104(2): 830-834.

Shaghaghi, A. Nejad Ebrahimi, S. and Sonboli, A. (2019) Study of total phenolic, total flavonoid content and antioxidant potential in various organs of genus *Papaver* and *Glaucium* collected from Iran. Journal of Plant Production Research. 26(2): 195-214.

Sinkakarimi, M.H., Solgi, E. and Colagar, A.H. (2020). Subcellular partitioning of cadmium and lead in *Eisenia fetida* and their effects to sperm count, morphology and apoptosis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 187:109827. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109827.

Somjen, D., KnoII, E. and Vaya, J. (2004) Estrogen- like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues in vitro and in vivo. Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology. 91: 147-155.

Stark, S., Julkunen tiitto, R., Holappa, E., Mikkola, K. and Nikula, A. (2008) Concentration of foliar quercetin in natural populations of white birch (*Betula pubescens*) increase with latitude. Chemical Ecology. 34: 1382-1391.

Trivedy, R.K. and Goel, P.K. (1986) Chemical and biological methods for water pollution studies. Environmental Publications. 98-112.

Walkley, A, and Black, I.A. (1934). Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. Soil Science. 37: 29-38.

Young Kil, H., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung, III-M., Kwon, S.S., Jeong, J.D., Lee, D. and Yeon Yu, C. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. Food Chemistry. 115(4): 1234-1239.

The Effect of Ecological and Edaphic Factors on Active Ingredients of *Plantago major* L.

N. Jafari[1*], M. Faghani Panbezari[2], A. Hosseinzadeh Collagar[3], M. A. Ebrahimzadeh[4]

Received:2018.12.4
Accepted:2020.9.19

Abstract

Plantago major L. is one of the most important medicinal plants used in traditional medicine worldwide. This study was conducted to investigate the effect of ecological and edaphic factors on the active ingredients of this plant. For this purpose, the *Plantago major* was collected from different regions of Mazandaran province, namely Shorab, Pain Kola, and Panbeh Zar Koti. Phenol and flavonoid levels from acidic methanol extract of plant samples were calculated using standard curve of Gallic acid and Quercetin, respectively. Antioxidant activity of the samples were investigated by three methods of DPPH, Nitric oxide and Reducing power. Our results showed that all of the *Plantago major* not only have a total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity but also, they have a biological activity of the extract depends on its phenol and flavonoid content. On the other hand, the antioxidant function of *Plantago major* species is affected by weather conditions as well as habitat characteristics and edaphic factors. On the basis of these findings, it is suggested that the identification of the potential of the *Plantago major* extract and selection of optimal phenological habitat and phases is essential and enables the extraction of effective ingredients in the applied of the products and the ability to enhance the medicinal yield of the plants.

Keywords: *Plantago major*, Edaphic factors, Ecological factors, Antioxidant activity, Reducing power, Active materials

1- Associate Professor of Plant Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran
*(Corresponding author: n.jafari@umz.ac.ir)
2- MSc in Ecology and Systematics of Mazandaran University
3- Professor of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran
4- Professor of Pharmaceutical Chemistry, Sari University of Medical Sciences