نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد سیزدهم، شماره اول، بهار ۹۹
۹۹-۱۱۰
http://ejcp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/ejcp.2020.17511.2292

بررسی فیتوشیمیایی عصارهٔ متانولی سرشاخهٔ گلدار و میوهٔ زالزالک ایروانی (*Crataegus pseudoheterophylla* A. Pojark) در جنگل‌های سراب گیان

مهتاب صالحی[1]* و رمضان کلوندی[2]

[1]استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه نهاوند، نهاوند، ایران
[1]استادیار پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۱۷

چکیده

سابقه و هدف: جنس *Crataegus* در ایران، پراکندگی وسیعی دارد. این جنس متعلق به تیره Rosaceae، گیاهی باغی و دارای خواص دارویی است. زالزالک از تنوع وسیع گونه‌ای و دارویی برخوردار بوده و در طب سنتی و در درمان بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان‌ها، دیابت، کاهش اضطراب و اختلالات خواب، کاربرد گسترده‌ای دارد. میوه‌ها، برگ‌ها و گل‌های زالزالک، دارای ترکیبات ثانویه شیمیاییِ زیادی مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها، الیگومریک پروسیانیدین‌ها، تری‌ترپن اسیدها، اسیدهای ارگانیک، استرول‌ها و مقدار کمی از آمین‌های فعال‌کننده تحرکات قلبی هستند. وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در زالزالک، دلیلِ اثراتِ درمانیِ سودمندِ آن است. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در میوه‌ها و غذاها، اثرات منفیِ رادیکال‌های آزاد در بدن انسان را خنثی می‌کنند. با توجه به این موضوع که تاکنون مطالعه‌ای در مورد گونه‌های موجود زالزالک در منطقه گیان انجام نشده است، هدف از این تحقیق، شناسایی تنوع گونه‌ای و ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه بوده است و می‌تواند دریچه جدیدی را برای مطالعات بیشتر در مورد این گیاه بگشاید.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۷ در جنگل‌های طبیعی سراب گیان در شهرستان نهاوند واقع در استان همدان که یکی از رویشگاه‌های گیاه زالزالک است، انجام شد. نمونه‌ها از سه نقطه از جنگل گیان در ارتفاعات مختلف جمع‌آوری گردیدند. در این مطالعه، صفاتی مانند محتوای فنل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصارهٔ متانولی سرشاخه گلدار و میوه زالزالک اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بررسی‌ها نشان داد که گونه زالزالک موجود در سراب گیان، *Crataegus pseudoheterophylla* A. Pojark است. براساس نتایج تحقیق حاضر، بیشترین میزان فنل (۱۲/۹۷ ± ۲۲۵/۹۵ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و فلاونوئید (۷/۵۵±۴۶۴/۵۲ میلی‌گرم روتین بر گرم عصاره) در عصاره متانولی سرشاخه گلدار در منطقه سه که دارای بالاترین ارتفاع از سطح دریا بود، مشاهده شد. همچنین، بیشترین محتوای فنل کل (۴/۹۸ ± ۷۶/۹۱ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)، بیشترین میزان فلاونوئید کل (۵/۳۶ ± ۱۶۱/۰۵ میلی‌گرم روتین بر گرم عصاره) و بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه (۰/۱۲ ± ۱۱۰/۰۱ پی‌پی‌ام) در منطقه سه مشاهده شد.

*مسئول مکاتبه: mhtb.salehi@gmail.com

نتیجه‌گیری: علت بالاتر بودنِ محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در منطقه سه را می‌توان بالاتر بودنِ میزان عناصر غذایی در خاک این نقطه و بالاتر بودنِ ارتفاع این منطقه از سطح دریا در مقایسه با دو نقطه دیگر دانست. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، تحت تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد، به همین دلیل گیاهان روییده در ارتفاعات نسبت به گیاهانِ مناطقِ پست، به دلیل شرایط خشکی، نور آفتاب و اشعه فرابنفش، تحت تنش‌های شدید قرار گرفته و مواد مؤثره در آن‌ها افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: فلاونوئید کل، فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

بیش از ۲۸۰ گونه از جنس *Crataegus* در سراسر جهان (۷) از جمله اروپا، خاورمیانه، آسیای جنوب شرقی و آمریکای شمالی وجود دارد (۳۲). این جنس در ایران پراکندگی زیادی دارد و ۲۰ گونه از آن در ایران وجود دارد و با نام‌های فارسی و محلی زالزالک، ولیک، سیاه ولیک، سرخه ولیک، سیسته، گویج و ... شناخته می‌شود (۲۹). ولیک، نام عمومی گونه‌های گیاهی جنس *Crataegus* spp. متعلق به تیره گل سرخ (Rosaceae) است. این گونه‌ها، درختچه‌ها یا درختانِ کوچکِ کم و بیش خارداری هستند که دارای برگ‌های سبز و روشن، گل‌های سفید یا صورتی‌رنگ بر روی گل‌آذین دیهیم هستند. میوه‌ها کروی تا بیضوی، قرمز، زرد، ارغوانی و یا سیاه‌رنگ هستند که هر میوه (بسته به گونه) حاوی ۱، ۳ یا ۵ عدد بذر است (۵). یکی از مراکز تنوع ژنتیکی اصلیِ این جنس، منطقه‌ای وسیع از ترکیه تا ایران است (۹). گونه‌های *Crataegus* دارای کاربردهای دارویی وسیعی هستند، اما بعضی از گونه‌ها به دلیل فعالیت‌های بیولوژیکی شناسایی شده‌اند. این گونه‌ها، جریان خونِ شریان قلب و فشردگیِ ماهیچه قلب را بهبود می‌بخشند؛ به همین دلیل به صورت وسیع در بی‌نظمی‌های قلبی ـ عروقی مثل آریتمی و نارسایی تراکم قلبی به کار می‌روند (۲۶، ۴۰ و ۱۷). برگ‌ها، گل‌ها و میوه زالزالک، حاوی ترکیباتی مانند بیوفلاونوئید هستند که به نظر می‌رسد مسئول اصلی بهبود بیماری‌های قلبی توسط این گیاه است (۴۲). گونه‌های *Crataegus* شامل *C. pseudoheterophylla* و *C. monogyna* دارای فلاونوئید و پروآنتوسیانیدین هستند که این ترکیبات در برابر ویروس‌های هرپس بسیار مؤثر هستند (۳۴). گونه *C. Pseudoheterophylla* Pojark یکی از اعضای جنس زالزالک از تیره رزاسه است که بومی آسیای غربی شامل کشورهایی مانند افغانستان، ایران و ترکیه است (۲۸). آنالیز فیتوشیمیایی میوه‌های *C. pinnatifida*، حضور فلاونوئیدها، پلی‌فنل، اسید آلی، قندها و ترکیبات دیگر را نشان می‌دهد (۲۴، ۲۵، ۱۶). همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی از عصاره متانولیِ ۸۰ درصد آن گزارش شده است (۱۳). ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، تری‌ترپنوئیدها و تانن‌ها دارای اثراتِ قویِ روبشِ رادیکال‌های آزاد اکسیژن[1] هستند (۶، ۱۹). محتوای بالای ترکیبات فنولیک مانند فنل‌ها، پروسیانیدین‌ها، فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، پلی‌ساکاریدها و کاتکول‌آمین‌ها در برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌های جنس *Crataegus* L. وجود دارد (۸، ۳۰، ۱۰). اثرات دارویی گونه‌های جنس *Crataegus*، تا حدود زیادی با میزان ترکیبات فنولیکیِ آنها در ارتباط است (۴۱). بررسی گونه‌های مختلف زالزالک در ترکیه نشان داد که میوه‌های این گونه‌ها، حاوی مقادیر بالایی فنل کل و ظرفیت و

1. Reactive Oxygen Species (ROS).

فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی هستند (٤). با توجه به این موضوع که کشور ایران به دلیل داشتن شرایط اقلیمی خاص به عنوان یکی از مناطق پراکنش گونه‌های مختلف زالزالک محسوب می‌شود، این پژوهش با هدف جمع‌آوری و شناسایی گونه‌های زالزالک موجود در جنگل‌های طبیعی سراب گیان واقع در شهرستان نهاوند و بررسی برخی صفات فیتوشیمیایی آن صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش: تحقیق حاضر در سال ۱۳۹۷، در جنگل‌های طبیعی منطقه سراب گیان واقع در نهاوند از شهرستان‌های استان همدان به عنوان یکی از رویشگاه‌های گیاه زالزالک در ایران انجام گرفت. این آزمایش، در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد

تهیه نمونه گیاه: نمونه‌ها از سه منطقه با فواصل نسبتاً مساوی (حدود ۳۰۰ متر فاصله از یکدیگر) از ورودی جنگل تا انتهای آن با ارتفاعات مختلف جمع‌آوری گردید. نمونه‌های گل و برگ (سرشاخه گلدار) در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۷ در مرحله گلدهی جمع‌آوری گردیدند. برای تهیه نمونه‌های میوه در اوایل آذرماه که رنگِ میوه‌ها کاملاً قرمز شده بودند، اقدام به جمع‌آوری آنها گردید. نمونه‌های هرباریومی تهیه‌شده از گل، برگ و میوه با استفاده از نکات درج شده در فلورهای موجود در بخش هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان مورد بررسی قرار گرفتند و گونه *Crataegus pseudoheterophylla* A. Pojark با کد هرباریومیِ ۸۰۳٤ در این منطقه شناسایی گردید.

تهیه نمونه از خاک: برای اطلاع از وضعیت فیزیکوشیمیاییِ خاک، اقدام به نمونه‌برداری از خاکِ پای درختان در هر منطقه گردید. نتایج آزمونِ خاک در جدول ۱ آمده است.

عصاره‌گیری و تغلیظ: به‌منظور عصاره‌گیری از گیاه، از روش ازکان و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد (۳۵)، به این صورت که مقدار ۱۵ گرم از پودر سرشاخه‌های گلدار و میوه، در یک بالنِ دردار ریخته شد و ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه گردید. عصاره‌گیری به مدت ۲ ساعت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام شد (۱۵ دقیقه عصاره‌گیری، ۱۵ دقیقه استراحت به دستگاه، در مجموع این فرایند ٤ ساعت به طول انجامید). با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی، عصاره صاف گردید. عصاره صاف‌شده با دستگاه تبخیرکننده دوّار در دمای زیر ٤۰ درجه، تغلیظ و دوباره توزین شد، وزن عصاره محاسبه گردید و تا زمان مصرف، در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (۳۵).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک پای درختان زالزالک در سه منطقه جمع‌آوری گیاه.

Table 1- Physical and chemical properties of the soil under the hawthorn trees in 3 regions of plant collection.

محل نمونه‌برداری Sampling location	ارتفاع (متر) Height (m)	بافت خاک Soil texture	شن (درصد) Sand (%)	سیلت (درصد) Silt (%)	رس (درصد) Clay (%)	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	پتاسیم قابل جذب (پی‌پی‌ام) Absorbable K (ppm)	فسفر قابل جذب (پی‌پی‌ام) Absorbable P (ppm)	نیتروژن قابل دسترس (درصد) Available N (%)	کربنات کلسیم معادل (درصد) Calcium carbonate equivalent (%)	پی‌اچ (pH)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس / متر) Electrical conductivity ($ds.m^{-1}$)
منطقه ۱ Region 1	1628	لوم رسی Clay loam	80	12	8	2.2	360	34.4	0.24	4	8	1.4
منطقه ۲ Region 2	1618	لوم رسی Clay loam	72	20	8	5.5	350	35.1	0.49	11.6	8.2	0.5
منطقه ۳ Region 3	1664	لوم شنی Sandy loam	62	28	10	6.7	520	69.3	0.60	16.9	7.9	0.6

بررسی محتوای فنل کل: جهت بررسی محتوای فنل کل، از روش کیم و همکاران (۲۰۰۳) و خلیقی سیگارودی و همکاران (۲۰۱۲a) استفاده شد (۲۳، ۲۰). به‌طور خلاصه، غلظت‌های مختلف از اسید گالیک (استاندارد)، عصاره گیاه و آب مقطر (شاهد) در سه تکرار تهیه شد و به آن‌ها به ترتیب، آب مقطر، معرف فولین- سیوکالتو و سدیم کربنات اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در برابر شاهد، توسط اسکتروفتومتر UV در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در پایان، محتوای فنل کل، برحسب مقدار معادل اسید گالیک (میلی‌گرم) در عصاره محاسبه شد (۲۳، ۲۰).

بررسی محتوای فلاونوئید کل: به منظور بررسی محتوای فلاونوئید کل، از روش خلیقی سیگارودی و همکاران (۲۰۱۲a) و یو و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد (۲۰، ٤٤). ابتدا، غلظت‌های مختلف از روتین (استاندارد)، عصاره و آب مقطر (شاهد) در سه تکرار تهیه شد و به آن‌ها به ترتیب، سدیم نیتریت، آلومینیوم کلرید و سود اضافه شد. سپس جذب محلول صورتی‌رنگ در برابر شاهد، توسط اسپکتروفتومتر UV در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت، محتوای فلاونوئید کل، برحسب مقدار معادل روتین (میلی‌گرم در عصاره) محاسبه شد (۲۰، ٤٤).

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره: جهت بررسی فعالیت روبش رادیکال (DPPH)، از روش خلیقی سیگارودی و همکاران (۲۰۱۲b) استفاده شد (۲۱). به این ترتیب که غلظت‌های مختلفی از اسید آسکوربیک (استاندارد) و عصاره گیاه در سه تکرار تهیه و به آن‌ها محلول DPPH اضافه گردید. برای تهیه محلول شاهد، از متانول به جای عصاره استفاده شد. برای حذف رنگ عصاره‌ها، از شاهد عصاره نیز استفاده شد. در انتها، جذب محلول‌ها پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محیط تاریک، توسط اسپکتروفتومتر UV، در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد ظرفیت روبش رادیکالی (RSA) به وسیله معادله (۱) محاسبه شد:

معادله ۱: $RSA (\%) = [1 - (S - SB) / C] \times 100$

در این معادله، S و SB به‌ترتیب میزان جذب نمونه (عصاره + DPPH) و جذب شاهد (متانول + عصاره) و C میزان جذب کنترل (متانول + DPPH) می‌باشد. پس از به دست آوردن درصد ظرفیت روبش رادیکالی (RSA)، مقدار IC_{50} عصاره و اسید آسکوربیک نیز تعیین گردید. IC_{50} بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد و مقدار آن از طریق رسم مقادیر RSA برحسب غلظت‌های مختلف نمونه و محاسبه معادله خط رگرسیون، به دست می‌آید (۲۱). برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SAS 9.1 و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین میزان فنل و فلاونوئید کل در سرشاخه‌های گلدار زالزالک، در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان فنل کل (۱۲/۹۷±۲۲۵/۹۵ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و فلاونوئید کل (۷/۵۵ ± ٤٦٤/٥٢ میلی‌گرم روتین بر گرم عصاره)، در منطقه سه با ارتفاع ١٦٦٤ متر از سطح دریا به دست آمد. در بخش نتایج مربوط به میوه (جدول ۳)، بیشترین میزان فنل میوه (٤/٩٨±٧٦/٩١ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)، بیشترین میزان فلاونوئید (٥/٣٦ ± ١٦١/٠٥ میلی‌گرم روتین بر گرم عصاره) و بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٠/١٢ ± ١١٠/٠١ پی‌پی‌ام) از منطقه سه به دست آمد.

بالا بودن میزان فنل و فلاونوئید در سرشاخه‌های گلدار و میوه و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانیِ بیشترِ میوه در منطقه سه، می‌تواند دو دلیل داشته باشد: اولاً بالا بودن عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در خاک این منطقه و ثانیاً بالاتر بودنِ ارتفاع آن (جدول ۱). نیتروژن و فسفر در بین عوامل مؤثر بر عملکرد، به دلیل بهبود رشد، می‌توانند نقش بسزایی بر افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی داشته باشند (۱۸). از آنجا که نیتروژن و فسفر، از عناصر پرمصرف بوده و در رشد گیاه و بیوسنتز اسانس، نقش اساسی دارند، علاوه بر تأثیر در فتوسنتز و تنفس، در تولید اسکلت کربنی، پیروات لازم جهت بیوسنتز اسانس را فراهم نموده و در ساختار سه کوآنزیم به نام‌های آدنوزین تری فسفات، کوانزیم آ و نیکوتین آمید دی نوکلئوتید فسفات شرکت می‌کنند؛ این کوآنزیم‌ها در بیوسنتز ترپنوئیدها نقش اساسی دارند (۳۸).

جدول ۲ – مقایسه میانگین میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره سرشاخه‌های گلدار زالزالک جمع‌آوری شده از سه نقطه در جنگل‌های گیان.

Table 2- Mean comparison of total phenol and flavonoid content in flowering shoots extract of hawthorn collected from 3 regions in Gyan forests.

شماره منطقه Region number	ارتفاع (متر) Height (m)	میزان فنل کل در سرشاخه گلدار براساس اسید گالیک (میلی‌گرم / گرم عصاره) Total phenol content in flowering shoot (mg of Galic acid / gr of the extract)	میزان فلاونوئید کل در سرشاخه گلدار براساس روتین (میلی‌گرم / گرم عصاره) Total flavonoid content in flowering shoot (mg in routine / gr of the extract)
منطقه ۱ Region 1	1628	212.55 ± 22.36 B	381.09 ± 31.17 C
منطقه ۲ Region 2	1618	202.40 ± 23.72 C	395.30 ± 1.79 B
منطقه ۳ Region 3	1664	225.95 ± 12.97 A	464.52 ± 7.55 A

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

In each row, means with at least a similar letter, are not significantly different (P<0.05).

جدول ۳ – مقایسه میانگین میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره میوه‌های زالزالک جمع‌آوری شده از سه نقطه در جنگل‌های گیان.

Table 3- Mean comparison of total phenol and flavonoid content and antioxidant activity in fruits extract of hawthorn collected from 3 regions in Gyan forests.

شماره منطقه Region number	ارتفاع (متر) Height (m)	میزان فنل کل در میوه براساس اسید گالیک (میلی‌گرم / گرم عصاره) Total phenol content in fruit (mg of Galic acid / gr of the extract)	میزان فلاونوئید کل در میوه براساس روتین (میلی‌گرم / گرم عصاره) Total flavonoid content in fruit (mg in routine / gr of the extract)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه (پی‌پی‌ام) Antioxidant activity in fruit(ppm)
منطقه ۱ Region 1	1628	59.05 ± 6.41 C	115.91 ± 9.43 C	249.48 ± 0.08 A
منطقه ۲ Region 2	1618	75.30 ± 6.49 B	145.30 ± 9.48 B	123.28 ± 0.05 B
منطقه ۳ Region 3	1664	76.91 ± 4.98 A	161.05 ± 5.36 A	110.01 ± 0.12 C

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

In each row, means with at least a similar letter, are not significantly different (P<0.05).

در مورد گیاهان دارویی و معطر، نیتروژن بر محتوا و ترکیبات شیمیایی اسانس و نیز عملکرد اسانس مؤثر است (۱). محققان دیگری نیز گزارش کردند که کاربرد نیتروژن، باعث افزایش وزن تر برگ و محتوای اسانس در نعنا سبز (*Mentha spicata* L.) (۳۳)، وزن تر و خشک بوته و محتوای اسانس در نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) (۳۱) و همچنین، عملکرد گیاه و اسانس در مرزه (*Satureja hortensis* L.) و بابونه آلمانی (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) (۲، ۱۱) گردید. افزایش کود فسفر و نیتروژن به طور معنی‌داری باعث افزایش وزن خشک گیاه، درصد و عملکرد اسانس در گیاه مرزه زمستانه (*Satureja montana* L.) گردید (۳۷). پوپ و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که میزان ماده مؤثره فلاون در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، افزایش معنی‌داری داشته است (۳٦).

افزایش گلوتاتیون رداکتاز در سطوح بالای نیتروژن نشان می‌دهد که نیتروژن برای سنتز پروتئین لازم است و طبیعت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئینی است. کاربرد کود نیتروژن (۱۰۰ کیلو گرم در هکتار) در گیاه سنا (*Cassia angustifolia* L.) باعث افزایش محتوای پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد کمّی گردید (۲۲). نیتروژن به عنوان یک عنصر ماکرو، نقش مهمی در سنتز آمینواسیدها و پروتئین در گیاهان دارد. در سنتز متابولیت‌های ثانویه، نیتروژن به عنوان یک ماده سازنده، به‌خصوص در سنتز آمینواسیدها از طریق مسیر بیوسنتز اسید شیکمیک، در تشکیل فنیل‌پروپان نقش دارد (٤۳). بنابراین، نیتروژن نقش مهمی در رشد رویشی و متابولیسم اساسی در گیاه دارد که به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در تولید متابولیت‌های ثانویه دخیل است.

موضوع افزایش ارتفاع هم در این منطقه می‌تواند دلیل دیگری برای افزایش فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، تحت استرس‌های محیطی افزایش می‌یابد؛ به همین دلیل گیاهان روییده در ارتفاعات کوهستانی به نسبت گیاهانِ مناطقِ پست، به دلیل شرایط خشکی، نور آفتاب و اشعه فرابنفش، تحت استرس‌های شدید قرار گرفته و مواد مؤثره در آن‌ها افزایش می‌یابد. ارتفاع از سطح دریا از جمله فاکتورهای مهم و تأثیرگذار بر رشد و عملکرد گیاهان است. تغییرات دما در اثر تغییر ارتفاع، از مهم‌ترین عوامل مؤثر در تغییرات مربوط به ارتفاعِ محلِ زندگیِ گیاه است، به طوری که با افزایش و یا کاهش ارتفاع، عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آبِ در دسترس و حتی تابشِ دریافتی، تغییر می‌کند (۱۲). بررسی تنوع ترکیبات بیوشیمیایی گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) در ارتفاعات مختلف غرب مازندران (۲۳۰۰-۵۰۰ متر) نشان داد که بیشترین مقادیر فلاونوئید در بالاترین ارتفاع (۲۳۰۰ متر) به دست آمد (۳).

رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد. هریک از این عوامل می‌توانند تأثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان داشته باشند. هرچند تولید متابولیت‌های ثانویه، تحت کنترل ژن‌ها می‌باشد، ولی میزان تولید آن‌ها به طور قابل‌توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (۳۹). تأثیر اوضاع اقلیمی بر گیاهان مختلف، متفاوت است و همواره باید با تحقیقات مناسب، به بررسی نقش عوامل اقلیمی بر رشد، نمو و مواد مؤثره گیاهان دارویی پرداخت. مهم‌ترین عوامل محیطی رویش گیاهان دارویی که

تأثیر عمده‌ای بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها می‌گذارند، عناصر غذایی خاک، ارتفاع محل، ویژگی‌های خاک، دما، بارندگی، طول روز و عرض جغرافیایی می‌باشد (۳۹). در پژوهش دیگری، با بررسی تأثیر رویشگاه بر میزان برخی متابولیت‌های ثانویه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) گزارش گردید که بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی مربوط به پوست ریشه، در ارتفاعات بالا بود (۱۵). همچنین، گزارش شده است که ترکیبات فنلی اندام‌های مختلف گیاه آقطی (*Sambucus ebulus* L.) با افزایش ارتفاع، افزایش معنی‌داری را نشان داد (۲۷). ارتفاع، مهم‌ترین عامل در تولید ترکیبات مؤثره گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) در رویشگاه‌های غرب و مرکزیِ ایران شناخته شده است (۱٤).

در مطالعه حاضر، به منظور تعیین میزان همبستگی بین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و صفات فیتوشیمیایی سرشاخه گلدار و میوه، از ضرایب همبستگی ساده صفات (ضریب پیرسون) استفاده شد (جدول‌های ٤ و ٥).

جدول ٤- ضرایب همبستگی بین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و صفات فیتوشیمیایی سرشاخه گلدار.

Table 4- Correlation coefficients between soil physical and chemical properties and phytochemical characteristics of flowering shoot.

صفات مورد بررسی Studied traits	ارتفاع رویشگاه‌ها Height of habitats	کربنات کلسیم معادل Calcium carbonate equivalent	نیتروژن قابل دسترس Available N	فسفر قابل جذب Absorbable P	پتاسیم قابل جذب Absorbable K	کربن آلی Organic carbon	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid
ارتفاع رویشگاه‌ها Height of habitats	1							
کربنات کلسیم معادل Calcium carbonate equivalent	0.67^{ns}	1						
نیتروژن قابل دسترس Available N	0.58^{ns}	0.99^{ns}	1					
فسفر قابل جذب Absorbable P	0.97^{ns}	0.82^{ns}	0.74^{ns}	1				
پتاسیم قابل جذب Absorbable K	0.98^{ns}	0.77^{ns}	0.69^{ns}	0.99^{*}	1			
کربن آلی Organic carbon	0.54^{ns}	0.98^{ns}	0.99^{*}	0.71^{ns}	0.66^{ns}	1		
فنل Phenol	0.97^{ns}	0.48^{ns}	0.37^{ns}	0.89^{ns}	0.33^{ns}	0.33^{ns}	1	
فلاونوئید Flavonoid	0.93^{ns}	0.89^{ns}	0.83^{ns}	0.99^{ns}	0.81^{ns}	0.81^{ns}	0.82^{ns}	1

نتایج تجزیه همبستگیِ خصوصیات خاک و صفات فیتوشیمیاییِ میوه نشان می‌دهد که بین میزان نیتروژن و کربنات کلسیم خاک و میزان فلاونوئید، همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد (جدول ٥). این موضوع با نتایج به دست آمده در مورد فلاونوئید میوه مطابقت دارد.

جدول ۵ ـ ضرایب همبستگی بین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و صفات فیتوشیمیایی میوه.

Table 5- Correlation coefficients between soil physical and chemical properties and phytochemical characteristics of fruit.

صفات مورد بررسی Studied traits	ارتفاع رویشگاه‌ها Height of habitats	کربنات کلسیم معادل Calcium carbonate equivalent	نیتروژن قابل دسترس Available N	فسفر قابل جذب Absorbable P	پتاسیم قابل جذب Absorbable K	کربن آلی Organic carbon	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity
ارتفاع رویشگاه‌ها Height of habitats	1								
کربنات کلسیم معادل Calcium carbonate equivalent	0.62^{ns}	1							
نیتروژن قابل دسترس Available N	0.58^{ns}	0.99^{ns}	1						
فسفر قابل جذب Absorbable P	0.97^{ns}	0.82^{ns}	0.74^{ns}	1					
پتاسیم قابل جذب Absorbable K	0.98^{ns}	0.77^{ns}	0.69^{ns}	0.99^{*}	1				
کربن آلی Organic carbon	0.54^{ns}	0.98^{ns}	0.99^{*}	0.71^{ns}	0.66^{ns}	1			
فنل Phenol	0.23^{ns}	0.87^{ns}	0.92^{ns}	0.44^{ns}	0.38^{ns}	0.94^{ns}	1		
فلاونوئید Flavonoid	0.61^{ns}	0.99^{*}	0.99^{*}	0.77^{ns}	0.73^{ns}	0.99^{ns}	0.90^{ns}	1	
فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	-0.39^{ns}	-0.94^{ns}	-0.97^{ns}	-0.58^{ns}	-0.52^{ns}	-0.98^{ns}	-0.98^{ns}	-0.96^{ns}	1

نتیجه‌گیری کلی

پتانسیل زالزالک بومیِ جنگل طبیعی سراب گیان، به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم در طب سنتی، می‌تواند چشم‌انداز روشنی در آینده این گیاه در کشورمان ایجاد کند. هدف از این مطالعه، شناسایی گونه‌های زالزالک موجود در این منطقه بود که با بررسی نمونه‌های جمع‌آوری‌شده، تنها یک گونه با نام علمی *Crataegus pseudoheterophylla* A. Pojark شناسایی گردید. بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی اندام‌های مختلف گیاه زالزالک، بر وجود تفاوت در میزان این ترکیبات در سرشاخه گلدار و میوه در مناطق مورد مطالعه تأکید می‌کند، به طوری که میزان فنل و فلاونوئید کل در سرشاخه گلدار، بیشتر از میوه است. همچنین، بالاترین میزان فنل و فلاونوئید کل در سرشاخه‌های گلدار و میوه و بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه، در منطقه‌ای به‌دست آمد که خاک آن از نظر مواد غذایی بسیار غنی‌تر از سایر مناطق بود و همچنین، بیشترین ارتفاع را داشت.

منابع

1. Aboukhalid, K., Al Faiz, C., Douaik, A., Bakha, M., Kursa, K., Agacka-Mołdoch, M., Machon, N., Tomi, F., and Lamiri, A. 2017. Influence of environmental factors on essential oil variability in *Origanum compactum* Benth. growing wild in Morocco. Chem. Biodivers. 14: 9.
2. Andrzejewska, J., and Woropaj-Janczak, M. 2014. German chamomile performance after stubble catch crops and response to nitrogen fertilization. Ind. Crops Prod. 62: 350-358.
3. Asadian, G.h., Rahnavard, A., Pourshamsian, K.h, S., Ghorbanpour, M., and Taghavi, M. 2011. Study of variation of biochemical components in *Hypericum perforatum* L. grown in north of Iran. J. Res. Agric. Sci. 7: 1. 27-36.
4. Calişkan, O., Gündüz, K., Serçe, S., Toplu, C., Kamiloğlu, O., Sengül, M., and Ercişli, S. 2012. Phytochemical

characterization of several hawthorn (*Crataegus* spp.) species sampled from the Eastern Mediterranean region of Turkey. Pharmacogn. Mag. 8: 29. 16-21.
5. Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., and Chow, M.S. 2002. Hawthorn. J. Clin. Pharmacol. 42: 6. 605-612.
6. Chen, H.L., Lin, K.W., Huang, A.M., Tu, H.Y., Wei, B.L., Hour, T.C., Yen, M.H., Pu, Y.C., and Lin, C.N. 2010. Terpenoids induce cell cycle arrest and apoptosis from the stems of *Celastrus kusanoi* associated with reactive oxygen species. J. Agric. Food Chem. 58: 6. 3808-3812.
7. Ching-Yee, K., Candy, N.W., Mabel, Y.Y., Peter, H.Y., Alice, L.S., Christina, C.P., Sai-Wang, S., Tsz-Yan, L., Yiu-Wa, K., and Shun-Wan, C. 2010. Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. J. Funct. Foods. 2: 3. 179-186.
8. Dinesh, K., Vikrant, A., Zulfiqar, A.B., Nisar, A.K., and Deo Nandan, P. 2012. The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. Rev. Bras. Farmacogn. (The Brazilian Journal of Pharmacognosy). 22: 5. 1187-1200.
9. Dönmez, A.A. 2004. The genus *Crataegus* L. (Rosaceae) with special reference to hybridisation and biodiversity in Turkey. Turk. J. Bot. 28: 1-2. 29-37.
10. Edwards, J.E., Brown, P.N., Talent, N., Dickinson, T.A., and Shipley, P.R. 2012. A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. Phytochem. 79: 5-26.
11. El-Leithy, A.S., El-Hanafy, S.H., Khattab, M.E., Ahmed, S.S., and El-Sayed, A.A.A. 2017. Effect of nitrogen fertilization rates, plant spacing and their interaction on essential oil percentage and total flavonoid content of summer savory (*Satureja hortensis* L.) plant. Egypt. J. Chem. 60: 5. 805-816.
12. Filehkesh, A., Aliabadi, A., Farzane, H., Borzoee, M., and Dadrasi, A. 2013. Ecology study of *Salvia leriifolia* in Sabzevar. 8th Congress of Horticultural Sciences. Bu-Ali Sina University. Iran.
13. Gazdik, Z., Reznicek, V., Adam, V., Zitka, O., Jurikova, T., Krska, B., Matuskovic, J., Plsek, J., Saloun, J., Horna, A., and Kizek, R. 2008. Use of liquid chromatography with electrochemical detection for the determination of antioxidants in less common fruits. Molecules. 13: 11. 2823-2836.
14. Ghasemi Pirbalouti, A., Karimi, A., Yousefi, M., Enteshari, Sh., and Golparvar, A.R. 2011. Diversity of *Thymus daenensis* Celak. in central and west of Iran. J. Med. Plants Res. 5: 4. 319-323.
15. Hemati, K.H., Hemati, N., and Ghaedi, A. 2015. The effect of habitat, root diameter and type of tissue on some secondary metabolites content of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) in Khorasan Razavi (Ghoochan). J. Plant Environ. Physiol. 10: 39. 1-10. (In Persian)
16. Huang, W., Ye, X., Li, X., Zhao, Z., Lan, P., Wang, L., Liu, M., Gao, Y., Zhu, J., Li, P., and Feng, P. 2010. The inhibition activity of chemical constituents in hawthorn fruit and their synergistic action to HMG–CoA reductase. Zhongguo Zhongyao Zazhi. 35: 18. 2428 -2431.
17. Jayalakshmi, R., Thirupurasundari, C.J., and Devaraj, S.N. 2006. Pretreatment with alcoholic extract of *Crataegus oxyacantha* (AEC) activates mitochondrial protection during isoproterenol–induced myocardial infarction in rats. Mol. Cell. Biochem. 292: 1-2. 59-67.
18. Jha, P., Ram, M., Khan, M.A., Kiran, U., Uzzafar, M., and Abdin, M.Z. 2011. Impact of organic manure and chemical fertilizers on artemisinin content and yield in *Artemisia annua* L. Ind. Crops Prod. 33: 2. 296-301.
19. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., and Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chem. 94: 4. 550-557.
20. Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Hadjiakhoondi, A., Taghizadeh, M., Yazdani, D., Khalighi-Sigaroodi, Sh., and Bidel, S. 2012b. Cytotoxicity and antioxidant activity of 23 plant species

of Leguminosae family. Iran. J. Pharm. Res. 11: 1. 295-302.
21. Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Yazdani, D., and Kashefi, M. 2012a. Cytotoxicity and antioxidant activity of five plant species of Solanaceae family from Iran. J. Med. Plants. 3: 43. 41-53.
22. Khammari, I., Galavi, M., Ghanbari, A., Solouki, M., and Asghari Poorchaman, M.R. 2012. The effect of drought stress and nitrogen levels on antioxidant enzymes, proline and yield of Indian Senna (*Cassia angustifolia* L.). J. Med. Plants Res. 6: 11. 2125-2130.
23. Kim, D.O., Jeong, S.W., and Lee, C.Y. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chem. 81: 3. 321-326.
24. Lin, Y., Vermeer, M.A., and Trautwein, E.A. 2011. Triterpenic acids present in hawthorn lower plasma cholesterol by inhibiting intestinal ACAT activity in hamsters. Evid. Based Complement. Altern. Med. Article ID 801272. 9 p.
25. Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C., Ou, S., and Yang, B. 2010. Acids, sugars, and sugar alcohols in Chinese hawthorn (*Cratageus* spp.) fruits. J. Agric. Food Chem. 58: 2. 1012-1019.
26. Long, S.R., Carey, R.A., Crofoot, K.M., Proteau, P.J., and Filtz, T.M. 2006. Effect of hawthorn (*Crataegus Oxyacantha*) crude extract and chromatographic fractions on multiple activities in a cultured cardiomyocyte assay. Phytomed. 13: 9-10. 643-650.
27. Mazandarani, M., Jamshidi, M., and Fathi Azad, F. 2011. Investigation of secondary metabolites of *Sambucus ebulus* L. in two natural regions of Mazandaran province, North of Iran. J. Plant Res. 6: 1. 58-67. (In Persian)
28. Mozaffarian, V. 2004. Trees and shrubs of Iran. Farhang-e Moaser Press. Tehran. 1102p. (In Persian)
29. Mozaffarian, V. 2012. Recognition of medicinal and aromatic plants of Iran. Farhang-e Moaser Press. Tehran. 1024p. (In Persian)
30. Nabavi, S.F., Habtemariam, S., Ahmed, T., Sureda, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez E., and Nabavi, S.M. 2015. Polyphenolic composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: from chemistry to medical applications. Nutrients. 7: 9. 7708-7728.
31. Niakan, M., Khavarynejad, R.A., and Rezaee, M.B. 2004. Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Menta piperita* L. Iran. J. Med. Aromat. Plant Res. 20: 2. 131-148. (In Persian)
32. Nieto-Ángel, R., Pérez-Ortega, S.A., Núñez-Colín, C.A., Martínez-Solís, J., and González-Andrés, F. 2009. Seed and endocarp traits as markers of the biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from central and southern Mexico. Sci. Hortic. 121: 2. 166-170.
33. Nigussie, A., Chala, M., Lulie, B., and Adugna, G. 2017. Response of spearmint (*Mentha spicata* L.) to nitrogen and phosphorus fertilizers at Koka, Ethiopia. Acad. Res. J. Agri. Sci. Res. 5: 6. 414-418.
34. Orhan, I.E., Özçelik, B., Kartal, M., Özdeveci, B., and Duman, H. 2007. HPLC quantification of vitexine-2″-*O*–rhamnoside and hyperoside in three *Crataegus* species and their antimicrobial and antiviral activities. Chromatographia. 66: 1. 153-157.
35. Ozkan, G., Sagdic, O., Ekici. L., Ozturk, I., and Ozcan, M.M. 2007. Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities. J. Food Lipids. 14: 2. 157-169.
36. Pop, G., Pirsan, P., Mateoc-Sirb, N., and Mateo, T. 2007. Influence of technological elements on yield quantity and quality in marigold (*Calendula officinalis* L.) cultivated in cultural conditions of Timisoara. P 20-23. 1st International Scientific Conference on Medicinal, Aromatic and Spice Plants. Slovak University of Agriculture in Nitra.
37. Said-Al Ahl, H.A.H., and Hussien, M.S. 2016. Effect of nitrogen and phosphorus application on herb and essential oil composition of *Satureja montana* L. ‘carvacrol’ chemotype. J. Chem. Pharmaceut. Res. 8: 6. 119-128.

38. Sell, C.S. 2003. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. UK. 410p.
39. Somjen, D., Knoll, E., Vaya, J., Stern, N., and Tamir, S. 2004. Estrogen-like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues in vitro and in vivo. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 91: 3. 147-155.
40. Tadić, V.M., Dobrić, S., Marković, G.M., Đorđević, S.M., Arsić, I.A., Menković, N.R., and Stević, T. 2008. Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. J. Agric. Food Chem. 56: 17. 7700-7709.
41. Urbonaviciūte, A., Jakstas, V., Kornysova, O., Janulis, V., and Maruska, A. 2006. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. J. Chromatogr. 1112: 1-2. 339-344.
42. Verma, S.K., Jain, V., Verma, D., and Khamesra, R. 2007. *Crataegus oxyacantha* – A cardioprotective herb. J. Herb. Med. Toxicol. 1: 1. 65-71.
43. Winkel, B.S.J. 2006. The biosynthesis of flavonoids. P 71-95. In: E. Grotewold (ed). The Science of Flavonoids. Springer-Verlag. New York.
44. Yoo, K.M., Lee, C.H., Lee, H., Moon, B., and Lee, C.Y. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food Chem. 106: 3. 929-936.