بررسی و مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه دارویی *Mentha longifolia* L. Hudson. در رویشگاه‌های مختلف استان‌های فارس و خراسان رضوی

سیده‌زهره حسینی[۱]، حسن فیضی[۲*]، صفیه وطن‌دوست جرتوده[۳]، مسعود علی‌پناه[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.

[۲]استادیار زراعت، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.

[۳]دکترای علوم باغبانی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.

[۴]دانشیار علوم دام، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲٤

چکیده

گیاه معطر پونه با نام علمی (*Mentha longifolia* L. Hudson.) متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae) دارای خواص دارویی محرک، مقوی، ضداسپاسم، ضدنفخ، قابض و آرام‌بخش می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی و مقایسه کمیت و کیفیت ترکیب‌های شیمیایی اسانس پونه در مناطق مختلف استان‌های فارس و خراسان رضوی انجام گرفت. در این مطالعه سرشاخه‌های گل‌دارگیاه در تابستان ۱۳۹۴ از ده رویشگاه‌های طبیعی از دو استان جمع‌آوری گردید. استخراج اسانس‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب انجام و ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS شناسایی شدند. بیشترین میزان بازده اسانس مربوط به رویشگاه چناران، مشهد و کاشمر در استان خراسان رضوی تعیین شد. در مجموع در اسانس پونه ۳۴ ترکیب شناسایی شدند که بیشترین میزان ۱و۸-سینئول (۳۶/۴۷ درصد) و منتول (۱۶/۳ درصد) در رویشگاه فسا، بیشترین میزان پولگون (۴۵/۲-۴۹/۵ درصد) به‌ترتیب در منطقه کوار و بوانات، پیپریتون اکسید به‌ترتیب در دو رویشگاه کازرون و فسا از بیشترین مقدار (۱۵/۷-۱۸/۳ درصد) برخوردار بود و در نهایت میزان پیپریتنون (۵۵/۳۴ درصد) از بیشترین مقدار در منطقه کازرون برخوردار بود. پونه به‌علت حضور ترکیبات متعدد دارای پتانسیل قابل توجهی در برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی می‌باشد. لذا با توجه به اینکه رویشگاه مشهد از بیشترین بازده اسانس و مقادیر بالای پولگون برخوردار بود، می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی آینده مورد توجه قرارگیرد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پونه، پولگون، خراسان رضوی، فارس

*نویسنده مسئول: h.feizi@torbath.ac.ir

مقدمه

خانواده نعنا یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی است که دارای پراکنش جهانی می‌باشد و حدود ۲۰۰جنس و بیش از ۴۰۰۰ گونه از بوته‌های معطرو درختچه‌ای کوتاه دارد (Mozafarian, 2013; Azadbakht, 1999). این گیاه به‌صورت خودرو در زیستگاه مرطوب، رودخانه، دریاچه، حوضچه، زمین‌های جنگلی و حتی مکان‌های خشک در امتداد جاده‌ها و زمین‌های زراعی و نواحی کوهستانی رشد می‌کند (Stanisavljevic, 2010).

در ایران ۶ گونه از جنس نعناع (*M. longifolia*، *M. mozaffarianii*، *M. aquatica*، *M. arvensis*، *M. spicata*، *M. suaveolens*) گزارش شده است. پونه (*Mentha longifolia* L. Hudson.) یکی از شش گونه‌ای است که در ایران وجود دارد و مورد توجه قرار گرفته است (Mozaffarian, 2013).

در گزارش‌های مختلف از پیپریتون به‌عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره گیاه پونه گزارش شده است که در منطقه صربستان تا میزان ۵۰ درصد نیز گزارش شده است (Stanisavljevic, 2010). کامکار و همکاران (Kamkar et al., 2012) نیز مهم‌ترین ترکیبات روغن اسانسی گیاه پونه را مونوترپن‌های اکسیژن‌دار: منتون (۹/۷۳ درصد)، آلفا-تریپنئول (۱۰/۹۷ درصد)، سیس- پیپریتوناپوکسید (۱۸/۶۴ درصد)، پولگون (۸/۷۳ درصد) گزارش کردند. همچنین مکادم و همکاران (Mkaddem et al., 2009) از ماده مؤثره پولگون به‌عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره گیاه پونه در منطقه تونس نام بردند.

به علت وجود اسانس در پیکر رویشی، پونه از بویی مطبوع و مزه‌ای کم و بیش تند برخورداراست. پیکر رویشی ۱/۱ تا ۱/۷۷ درصد اسانس دارند و ساقه‌های پونه به‌طور معمول اسانس بسیار کمی دارند. مواد دیگری مانند فلاونویید و اسیدفنولیک هم در گیاه وجود دارد (Omidbeigi, 2013).

بیشترین پراکنش بومی گیاه پونه در منطقه مدیترانه گزارش شده است (Zargari, 2011). از دوران باستان از اندام‌های آن به‌عنوان ضدعفونی‌کننده قوی، ضدنفخ، اشتهاآور، ضداسپاسم، مقوی معده، مسکن درد، ضدالتهاب و ضدکرم استفاده شده است (Derwich et al., 2010). همچنین دارای اثرات ضدباکتریایی و نیز ضدقارچی (Dzamic et al., 2010; Khan et al., 2011) می‌باشد.

از آنجایی که در بررسی‌های مختلف مشخص‌شده که کمیت و کیفیت موادمؤثره گیاهان در رویشگاه‌های بومی با تغییر تنش‌های محیطی متفاوت است، لذا این تحقیق با هدف شناسایی مواد مؤثره و انتخاب منطقه مناسب کاشت و تأثیر اقلیم بر روی درصد اسانس و ماده مؤثره و سایر ترکیبات در ده منطقه مختلف استان‌های خراسان رضوی و فارس صورت گرفت تا بتوان گامی در راستای دستیابی به جمعیت‌های برخوردار از صفات مطلوب که می‌تواند مقدمه‌ای در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی و کشت این‌گونه دارویی در کشور باشد، برداشت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی فیتوشیمیایی اسانس توده‌های پونه وحشی (*Mentha longifolia*) در دو استان فارس (سپیدان، بوانات، کوار، کازرون و فسا) و خراسان رضوی (تربت‌حیدریه، مشهد، نیشابور، کاشمر، چناران) ابتدا با مراجعه به منابع معتبر از جمله فلور ایرانیکا محدوده پراکنش و رویشگاه‌های این گیاه در دو استان مورد نظر مشخص شدند. به‌نحوی که اطلاعات مربوط به محل‌های جمع‌آوری هر رویشگاه ثبت شد (جدول ۱). مشخصات جغرافیایی هر منطقه

با استفاده از GPS (طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا) و مشخصات آب و هوایی سالیانه مناطق جمع‌آوری (متوسط دمای سالیانه و متوسط بارندگی سالیانه) از سایت ایستگاه هواشناسی (http/irimo.irfarwd۲۷۰۳) تهیه شد.

استخراج اسانس

با توجه به اینکه بیشترین میزان ماده مؤثره این گیاه در زمان گلدهی گزارش‌شده است (Omidbeigi, 2009)، نمونه‌های گیاهی در تابستان ۹۴ در مرحله گلدهی برداشت و هم‌زمان صفات مورفولوژیکی (کمی و کیفی) در جمعیت‌های مختلف بررسی شد. لازم به ذکر است برای بررسی این صفات تعداد ۱۰ بوته به‌صورت تصادفی از هر رویشگاه انتخاب و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد.

پس از جمع‌آوری نمونه‌ها به میزان دوکیلوگرم، آن‌ها را در سایه و دمای اتاق خشک و وزن خشک آن‌هااندازه‌گیری شد. برای تعیین درصد اسانس، با توجه به تنوع روش‌های اسانس‌گیری گزارش‌شده برای استخراج بالاترین میزان اسانس از روش تقطیر با آب استفاده شد (Sefidkon and Rahimi-Bidgoly, 2003). ماده گیاهی خشک شده با آسیاب برقی خرد شد، ۲۰ گرم از پودر گیاه خشک‌شده که شامل سرشاخه‌های هوایی گیاه بود، جهت استخراج اسانس به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر طبق فارماکوپه بریتانیا به مدت سه ساعت در آزمایشگاه دانشگاه تربت‌حیدریه اسانس‌گیری شد (British pharmacopoeia, 1993).

جدول ۱: مشخصات محل جمع‌آوری نمونه‌های پونه

محل جمع‌آوری	مختصات جغرافیایی				ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین دما سالانه	میانگین بارش سالانه
	عرض		طول				
	درجه	دقیقه	درجه	دقیقه			
تربت‌حیدریه	۳۵	۱۴	۵۹	۱۳	۱۳۱۲	۱۵/۱۲	۲۰۷/۹۰
کاشمر	۳۵	۱۶	۵۸	۱۵	۹۸۴	۱۸/۸۳	۱۴۸/۸۰
مشهد	۳۶	۱۹	۵۹	۲۴	۱۱۹۷	۱۶/۴۲	۱۹۷/۴۰
چناران	۳۶	۳۹	۵۹	۴	۱۵۵۸	۱۶/۶۲	۱۸۵/۸۰
نیشابور	۳۶	۱۸	۵۸	۴۹	۲۰۲۹	۱۵/۲۳	۲۳۹/۵۰
سپیدان	۳۰	۱۴	۵۱	۵۹	۲۱۸۹	۱۶/۲۳	۴۲۴/۳۰
کوار	۲۹	۱۳	۵۲	۴۲	۱۵۲۹	۱۹/۰۵	۲۰۵/۸۰
بوانات	۳۰	۲۹	۵۳	۳۴	۲۲۶۰	۱۶/۴۱	۱۱۰/۵۰
فسا	۲۸	۵۹	۵۳	۳۹	۱۴۶۱	۲۰/۴۳	۱۵۹/۹۰
کازرون	۲۹	۳۹	۵۱	۳۴	۷۹۳	۲۴/۶۶	۲۵۸/۵۰

به‌منظور شناسایی ترکیبات موجود در اسانس به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) موردآنالیز و شناسایی قرار گرفت.

مشخصات دستگاه GC: برای آنالیز کروماتوگرافی گازی اسانس از گاز کروماتوگراف مدل Agilent Technologies 7890 مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون شعله هیدروژن) با ستون غیرقطبی HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرون استفاده شد. از گاز نیتروژن (N_2) با سرعت ۰/۸ میلی‌متر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای اولیه ستون ۶۰ درجه بود

و دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت افزایش دما ۴ درجه سانتی‌گراد بود. دما قسمت تزریق و آشکارساز به‌ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. نسبت شکاف ۱:۱۰۰ برای رقیق کردن نمونه‌ها استفاده شد. اسانس تزریق‌شده به دستگاه نیز ۰/۱ میکرولیتر بود.

مشخصات دستگاه GC/MS: برای آنالیز اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی مجهز به ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. از گاز هلیوم با سرعت ۰/۸ میلی‌متر بر دقیقه به‌عنوان حامل استفاده شد. دما از ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ۲۸۰ با سرعت افزایش ۴ درجه بر دقیقه درجه رسید. از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت استفاده گردید.

نتایج

همسو با یافته‌های این تحقیق در جدول ۲ که کمیت و کیفیت مواد مؤثره اسانس‌های گیاه را در ۱۰ رویشگاه نشان می‌دهد نتایج حاکی ازآن است که در رویشگاه‌های مختلف علاوه بر تغییرات بازده اسانس، کمیت و کیفیت مواد مؤثره اسانس‌ها نیز متغیر می‌باشد و به‌ترتیب رویشگاه‌های مشهد (۹۵/۸۴ درصد)، بوانات (۹۴/۶۹ درصد) و کازرون (۹۴/۵۴ درصد) از بیشترین درصد ترکیبات اسانس برخوردار بودند. در تحقیق حاضر عمده‌ترین ترکیبات پونه (*Mentha longifolia*) شامل پولگون، پیپریتینون اکسید، ۸،۱-سینئول، پیپریتینون و منتون بودند.

بررسی یافته‌های جدول آنالیزمقایسه‌ای اسانس‌ها نشان داد که کمیت و کیفیت مواد مؤثره اسانس‌ها بسته به نوع رویشگاه‌های مورد مطالعه متفاوت می‌باشد. به‌طوری‌که در منطقه سپیدان، تربت‌حیدریه و چناران بیشترین مقدار ماده مؤثره مربوط به پیپریتوناکسید (به‌ترتیب ۶۲/۱۷، ۳۸/۸ و ۳۵/۷۷ درصد) بود، ماده مؤثره پولگون (۴۹/۵۵، ۴۵/۷۱، ۴۵/۲۳ و ۴۰/۷۲ درصد) به‌ترتیب از بیشترین مقدار در اسانس نمونه‌های بوانات، مشهد، کوار و کاشمر گزارش گردید.

در نیشابور و فسا بیشترین ماده مؤثره مربوط به ۸،۱-سینئول (به‌ترتیب ۴۴/۷۳، ۳۶/۴۷ درصد) بود. همچنین پیپریتینون (۵۵/۴۵ درصد) در بیشترین مقدار خود در اسانس منطقه کازرون گزارش گردید (جدول ۲).

تجزیه به مؤلفه: نتایج تجزیه به مؤلفه اصلی صفات مورد مطالعه نشان داد که پنج عامل مقادیر ویژه بیشتر از دو دارند و به‌عنوان عامل‌های اصلی در نظر گرفته شدند. که این پنج عامل با مجموع ۸۵/۸۳ درصد از واریانس کل را شامل می‌شوند.

مؤلفه اول ۳۵/۲۵ درصد از واریانس کل را در بر می‌گیرد که شامل ترکیبات آلفا-ترپینن، لینالول، منتون، دی هیدروکاروول و دی جرماکرین می‌باشد. ترکیبات مایرسین، سیس-اوسیمن، سابینن هیدرات، تیمول و آلفا-کوپائن با قرار گرفتن در مؤلفه دوم ۱۷/۳۵ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند. در مؤلفه سوم ترکیبات منتول،آلفاترپینئول، کارواکرول و بتا-المن قراردارند که ۱۴/۶۷ درصد از واریانس را تشکیل دادند. مؤلفه چهارم که ۱۱/۶۶ درصد از واریانس کل را توجیه می‌کند با ترکیبات آلفا-توجین، کامفن، ۸،۱-سینئولو بی سیکلوجرماکرین ارتباط مثبت و معنی‌داری نشان داد و درنهایت ترکیبات بتاپینن و پیپریتینون اکسید با قرارگرفتن در مؤلفه پنجم ۶/۸۸ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص دادند.

جدول ۲: نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه پونه (*Mentha longifolia*) درمناطق موردمطالعه

ترکیبات	شاخص بازداری (RI)	سپیدان	بوانات	کوار	کازرون	فسا
آلفا- توجین	۹۲۶	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱	۰	۰/۰۳
آلفا- پینن	۹۳۵	۰/۸۹	۰/۸۱	۰/۹۲	۰/۵۴	۱/۳۸
سابینن	۹۷۱	۱/۰۵	۵/۹۵	۳/۳۱	۲/۳۷	۱/۴۹
کامفن	۹۷۵	۰/۱۲	۰/۱۴	۰	۰	۰
بتا- پینن	۹۷۹	۳/۳۸	۰/۱۱	۰/۵۶	۰/۱۲	۰/۱
تری اوکتانول	۹۹۱	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۰۳
مایرسین	۹۹۷	۰/۱۴	۰/۰۴	۰/۰۲	۰	۰/۵۶
آلفا ترپینن	۱۰۱۷	۰	۰/۰۳	۰/۰۵	۰	۰/۱۵
لیمونن	۱۰۲۶	۱/۰۹	۸/۸۲	۵/۳	۴/۰۱	۰/۳۵
پ- سیمن	۱۰۲۹	۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۵
سیس اوسیمن	۱۰۳۴	۰/۰۸	۰	۰/۰۹	۰	۰/۲۳
۱،۸- سینئول	۱۰۳۷	۸/۹۱	۷/۵۷	۱۱/۵۱	۸/۰۲	۳۶/۴۷
گاما- ترپینن	۱۰۵۸	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۸	۰	۰
سابینن هیدرات	۱۰۶۷	۰/۱۹	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۷۵
آلفا- ترپینولن	۱۰۸۷	۰/۲۶	۲/۱۷	۰/۹۶	۰/۶۴	۰/۹
لینالول	۱۱۰۱	۰	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۴
منتون	۱۱۵۶	۰/۱	۳/۸۷	۴/۷	۱/۳۴	۶/۳۶
منتول	۱۱۷۴	۰	۰/۱۶	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۰۷
۴- ترپینول	۱۱۷۹	۱/۲۳	۱/۵۵	۱/۷۶	۰/۹۷	۰/۷۵
دی هیدرو کارواکرول	۱۱۹۳	۰	۰/۰۷	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۷
آلفا ترپینئول	۱۱۹۷	۰	۰/۱۳	۰/۰۸	۰	۰
پولگون	۱۲۵۰	۱/۱۲	۴۹/۵۵	۴۵/۲۳	۱/۸۹	۱۱/۵۳
پیپریتون	۱۲۸۳	۰/۷۲	۰/۸۱	۰	۰	۰/۵
تیمول	۱۲۹۷	۰/۹۴	۰/۲۴	۰/۱۷	۰/۱۱	۲/۰۱
کارواکرول	۱۳۰۳	۰	۰	۰	۰	۰/۴۴
پیپریتنون اکسید	۱۳۴۵	۶۲/۱۷	۹/۵۸	۱۰/۸۲	۱۸/۳۸	۱۵/۰۷
پیپریتنون	۱۳۶۹	۷/۳	۳/۰۱	7/7	۵۵/۴۵	۸/۵۶
آلفا- کوپائن	۱۳۸۸	۰/۸۱	۰	۰	۰	۲/۲
بتا- المن	۱۳۹۳	۰/۱۴	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۷	۰/۰۶
بتا- کاریوفیلن	۱۴۱۴	۰/۱۹	۰/۳	۰/۲	۰/۱۴	۰/۳
دی جرماکرین	۱۴۵۸	۰/۱۱	۰/۱۷	۰/۱	۰/۰۵	۰/۱۲
آلفا هومولن	۱۴۸۳	۰	۰	۰	۰	۰
بیسیکلوجرماکرین	۱۴۹۹	۰	۰	۰	۰	۰
کاریوفیلن اکسید	۱۵۸۲	۰	۰	۰	۰	۰/۱۳
مونوترپن‌های هیدروکربنه		۷/۳۲	۱۷/۳۵	۱۱/۶۳	۷/۹۲	۵/۹۹
مونوترپن‌های اکسیژنه		۸۲/۴۹	۷۶/۶۵	۸۲/۱۴	۸۶/۲۹	۸۱/۸۷
سزکویی ترپن‌های هیدروکربنه		۱/۲۵	۰/۵۴	۰/۴۳	۰/۲۶	۲/۶۸
سزکویی ترپن‌های اکسیژنه		۰	۰	۰	۰	۰/۱۳
سایر ترکیبات		۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۰۳
جمع		۹۱/۱۸	۹۴/۶۹	۹۴/۳۲	۹۴/۵۴	۹۰/۷

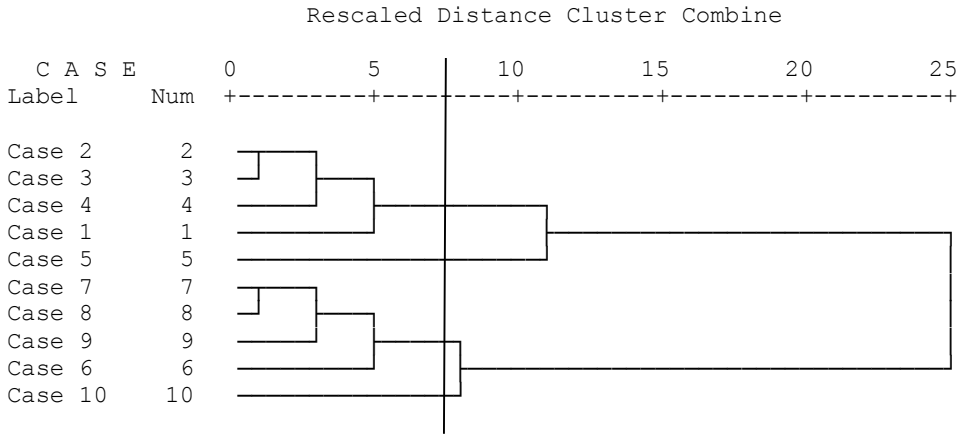
ادامه جدول ۲: ادامه نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه پونه (*Mentha longifolia*) در مناطق مورد مطالعه

ترکیبات	شاخص بازداری (RI)	تربت حیدریه	نیشابور	کاشمر	مشهد	چناران
آلفا- توجین	۹۲۶	۰/۴۷	۳/۹۸	۱/۸۶	۱/۳۸	۰/۹۹
آلفا- پینن	۹۳۵	۰/۱۳	۰/۴۱	۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۴
سابینن	۹۷۱	۰	۴۰/۰	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۳
کامفن	۹۷۵	۰/۵۲	۳/۰۲	۱/۷۳	۱/۱۶	۱/۰۶
بتا- پینن	۹۷۹	۱/۰۴	۰/۸۸	۱/۱۹	۰/۴۶	۲/۳۱
تری اوکتانول	۹۹۱	۰/۰۴	۰/۰۹	۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۰۸
مایرسین	۹۹۷	۰/۰۷	۰/۰۴	۰/۰۵	۰	۰
آلفا ترپینن	۱۰۱۷	۰/۳۶	۰/۲۷	۰/۳۴	۰/۱۷	۰/۲۹
لیمونن	۱۰۲۶	۰	۰	۰	۰	۰
پ- سیمن	۱۰۲۹	۰	۰	۰	۰	۰
سیس اوسیمن	۱۰۳۴	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۱	۰/۱	۰/۱۶
۱،۸- سینئول	۱۰۳۷	۶/۹۷	۴۴/۷۳	۲۶/۶۱	۲۴/۵۸	۴/۵۳
گاما- ترپینن	۱۰۵۸	۰	۰/۴۷	۰/۷	۱/۱۸	0۰/۸8
سابینن هیدرات	۱۰۶۷	۰/۵۵	۰/۳۱	۰/۳۸	۰/۱۹	۰/۰۹
آلفا- ترپینولن	۱۰۸۷	۰	۰	۰	۰	۰
لینالول	۱۱۰۱	۱/۴۱	۱/۰۵	۰/۹۲	۰/۶۷	۰/۲۲
منتون	۱۱۵۶	۱۰/۹۸	۴/۳۵	۸/۸	۸/۹۶	۰/۹
منتول	۱۱۷۴	۱/۵۵	۱/۴۵	۱/۶۱	۱/۰۷	۳/۳۷
۴- ترپینول	۱۱۷۹	۰	۰	۰/۸۳	۴/۶۱	۰/۳۵
دی هیدرو کارواکرول	۱۱۹۳	۰/۴۹	۰/۱۹	۰/۲۸	۰/۱۸	۰
آلفا ترپینئول	۱۱۹۷	۱/۳۲	۱/۰۸	۰/۷۱	۱/۴۷	۹/۰۳
پولگون	۱۲۵۰	۱۲/۲۴	۱۴/۵۳	۴۰/۷۲	۴۵/۷۱	۱۰/۲۴
پیپریتون	۱۲۸۳	۰/۰۸	۰/۱۲	۰/۱۲	۰	۰/۱۴
تیمول	۱۲۹۷	۰/۰۳	۰/۱۷	۰/۱۸	۰/۱۳	۰/۴۳
کارواکرول	۱۳۰۳	۰/۲۴	۱/۶۳	۱/۷	۰/۶۳	۸/۵۹
پیپریتنون اکسید	۱۳۴۵	۳۸/۸	۱۳/۰۲	۲/۱۲	۱/۹۹	۳۵/۷۷
پیپریتنون	۱۳۶۹	۱۱/۵۴	۰/۴۸	۱/۰۷	۰/۳۵	۱۱/۸۱
آلفا- کوپائن	۱۳۸۸	۰/۳۸	۰/۱۳	۰/۱۱	۰	۰
بتا- المن	۱۳۹۳	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰
بتا- کاریوفیلن	۱۴۱۴	۰/۰۴	۰/۰۹	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۷
دی جرماکرین	۱۴۵۸	۰/۸۷	۰/۵۳	۰/۶۴	۰/۲۹	۰/۱۵
آلفا هومولن	۱۴۸۳	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۵	۰	۰
بیسیکلوجرماکرین	۱۴۹۹	۰/۲۲	۰/۵	۰/۶	۰/۱	۰/۱۲
کاریوفیلن اکسید	۱۵۸۲	۰	۰	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۴
مونوترپن‌های هیدروکربنه		۳/۱۶	۹/۴۸	۶/۴۵	۴/۷۴	۵/۷۷
مونوترپن‌های اکسیژنه		۸۵/۶۵	۸۲/۸	۸۵/۵۷	۹۰/۳۵	۸۵/۳۸
سزکویی ترپن‌های هیدروکربنه		۱/۶۷	۱/۳۴	۱/۶	۰/۵۵	۰/۴۴
سزکویی ترپن‌های اکسیژنه		۰	۰	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۴
سایر ترکیبات		۰/۰۴	۰/۰۹	۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۰۸
جمع		۹۰/۵۲	۹۳/۷۱	۹۳/۹۲	۹۸/۸۴	۹۱/۸۱

تجزیه خوشه‌ای: نتایج تجزیه خوشه‌ای بیانگر تنوع فیتوشیمیایی بین جمعیت‌های مختلف پونه می‌باشد که یکی از عوامل این تنوع شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاه می‌باشد. درمجموع جمعیت‌های مورد مطالعه ازنظر ترکیبات شیمیایی در ۸ تیپ شیمیایی مختلف قرار گرفتند (شکل۲).تیپ اول- شامل اکوتیپ‌های ۲، ۳ و ۴ می‌باشد و میزان پیپریتنون و پولگون در این اکوتیپ‌ها بیشتر از سایر ترکیبات بود. تیپ دوم- تیپ شیمیایی پیپریتون اکسید که شامل اکوتیپ ۱ می‌باشد. این تیپ شیمیایی بر اساس بالا بودن میزان این ترکیب در این اکوتیپ مشخص شد. این اکوتیپ دارای مقادیر بیشتر پیپریتینون اکسید و بتاپینن، بتا-المن نسبت به سایر اکوتیپ‌ها می‌باشد.

تیپ سوم-تیپ شیمیایی مربوط به اکوتیپ ۵ بود که دارای مقادیر بالای ترکیبات ۸،۱-سینئول، آلفا-پینن، تیمول، آلفا- کوپائن در این اکوتیپ می‌باشد. تیپ چهارم- ترکیبات منتون، پولگون در همه اکوتیپ‌های این تیپ بسیار زیاد می‌باشد. مقدار کامفن، آلفا-توجین، ۸،۱-سینئول، گاما- ترپینن دراکوتیپ‌های ۷و ۸و ۹ بیشتر از میانگین می‌باشد.

تیپ پنجم- تیپ شیمیایی منتون شامل اکوتیپ ۶ می‌باشد که میزان منتون در این اکوتیپ بیشتر از سایر اکوتیپ‌ها می‌باشد. تیپ ششم- اکوتیپ ۱۰ در این تیپ قرار دارد. ترکیبات آلفا- ترپینئول، منتول، کارواکرول و بتا-المن در این اکوتیپ بالاتر از مقدار آن در سایر اکوتیپ‌ها بود.



شکل ۲: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس درصد ترکیبات اسانس پونه وحشی

۱ تا ۱۰ به ترتیب: سپیدان، بوانات، کوار، کازرون، فسا، تربت‌حیدریه، نیشابور، کاشمر، مشهد و چناران

بررسی بازده متوسط تولید اسانس پونه نشان داد که بیشترین راندمان درصداسانس در رویشگاه مشهد (۱/۸۳درصد) و رویشگاه کاشمر(۱/۸درصد) و کمترین مقدار اسانس مربوط به رویشگاه چناران (۰/۸۷درصد) می‌باشد. مقدار درصد اسانس رویشگاه سپیدان ۱/۷۵ درصد، بوانات ۱/۵۵ درصد، کوار ۱/۷۵ درصد، کازرون ۱/۱۷ درصد، فسا ۱/۳۷ درصد، تربت‌حیدریه ۱/۲۵ درصد و نیشابور ۱/۲۷ درصد می‌باشد.

بحث

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده میزان مونوترپن‌های اکسیژنه بیشترین بخش از ترکیبات اسانس را به خود

اختصاص دادند و می‌توان نتیجه گرفت که این ترکیبات از اجزای اصلی اسانس در پونه می‌باشند و سزکویی ترپن‌ها درصد کمی از مواد را شامل شدند. در مقایسه کلی در اکوتیپ‌های مختلف نتایج تقریباً نزدیک هم می‌باشند، یعنی در همه اکوتیپ‌ها درصد مونوترپن‌های اکسیژنه بیشترین مقداربوده و درصد سزکوییترپن اکسیژنه و سایر ترکیبات کمترین مقدار را شامل شد. همچنین بیشترین میزان مونوترپن اکسیژنه مربوط به اکوتیپ مشهد (۹۰/۳۵ درصد) می‌باشد (جدول ۲). تحقیقات دایتز وبولتون (Dietz and Bolton. 2010) نشان می‌دهند که مونوترپنها از ترکیب اصلی روغن‌های ضروری پونه به شمار می‌آیند. مونوترپن‌ها به‌طور عمده از ترکیباتی نظیر پولگونومنتون تشکیل شده‌اند (Kamkar et al., 2012; Smith et al., 2009).

کامکار و همکاران (Kamkar et al, 2012) ترکیبات اسانسی این گیاه را توسط آنالیز GC/MS مورد بررسی قرار دادند و ۳۹ ترکیب شناسایی شد که مهم‌ترین آن‌ها شامل سیس-پیپریتون اکسید (۲۸/۲۳ درصد)، آلفاترپینئول (۱۸/۶۴درصد)، منتون (۱۰/۹۷ درصد)، پولگون (۹/۷ درصد) می‌باشد. ترکیب عمده اسانس پونه (*M. longifolia*) در آفریقای جنوبی منتون گزارش شده است (Oyedeji and Afolayan, 2006). در بررسی‌های دیگر مهم‌ترین ترکیبات اصلی روغن اسانس پونه در نواحی مختلف تاجیکستان شامل پولگون و منتون گزارش نمودند (Sharopov et al., 2012) که با اجزای اسانس نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش مطابقت دارد.

نتایج نشان داد که ترکیبات در مناطق مختلف دارای تشابهات و اختلافاتی می‌باشدبه‌عنوان‌مثال ترکیب پولگون که یکی از ترکیبات اصلی اسانس می‌باشددرنمونه‌های بوانات (۴۹/۵۵ درصد)، مشهد (۴۵/۷۱ درصد)، کوار (۴۵/۲۳ درصد)، کاشمر (۴۰/۷۲ درصد) به‌طورچشم‌گیری بیشتر از نمونه‌های نیشابور (۱۴/۵۳ درصد)، تربت‌حیدریه (۱۲/۲۴ درصد)، فسا (۱۱/۵۳ درصد)، چناران (۱۰/۲۴ درصد)، کازرون (۱/۸۹ درصد) و سپیدان (۱/۱۲ درصد) بود.

پیپریتینون اکسید در نمونه سپیدان (۶۲/۱۷ درصد) بسیار بیشتر از سایر مناطق می‌باشد که مقدارش در نمونه‌های تربت‌حیدریه (۳۸/۸ درصد)، چناران (۳۵/۷۷ درصد)، کازرون (۱۸/۳۸ درصد)، فسا (۱۵/۰۷درصد)، نیشابور (۱۳/۰۲ درصد)، کوار (۱۰/۸۲ درصد) بوانات (۹/۵۸ درصد)، کاشمر (۲/۱۲ درصد) و مشهد (۱/۹۹ درصد) می‌باشد. همچنین ۸،۱-سینئول نیز جز اصلی اسانس گیاه پونه می‌باشد در رویشگاه‌های نیشابور (۴۴/۷۳ درصد)، فسا (۳۶/۴۷ درصد)، کاشمر (۲۶/۶۱ درصد) و مشهد (۲۴/۵۸ درصد) خیلی بیشتر از سایر مناطق می‌باشد. مقدار آن در سپیدان (۸/۹۱ درصد)، بوانات (۷/۵۷ درصد)، کوار (۱۱/۵۱ درصد)، کازرون (۸/۰۲ درصد)، تربت‌حیدریه (۶/۹۷ درصد) و چناران (۴/۵۳ درصد) می‌باشد.

ترکیب پیپریتینون در رویشگاه کازرون (۵۵/۴۵ درصد) بیشتر از سایر مناطق می‌باشد. مقدار این ترکیب در نمونه‌های سپیدان (۷/۳ درصد)، بوانات (۳/۰۱ درصد)، کوار (۷/۷ درصد)، فسا (۸/۵۶ درصد)، تربت‌حیدریه (۱۱/۵۴ درصد)، نیشابور (۰/۴۸ درصد)، کاشمر (۱/۰۷ درصد)، مشهد (۰/۳۵ درصد) و چناران (۱۱/۸۱ درصد) درصد بودند. نمونه‌های اسانس کازرون فاقد ترکیب آلفا-توجین بود و در نمونه‌های سپیدان (۰/۰۲ درصد)، بوانات (۰/۰۲ درصد)، کوار (۰/۰۱ درصد)، فسا (۰/۰۳ درصد)، تربت‌حیدریه (۰/۴۷ درصد)، نیشابور (۳/۹۸ درصد)، کاشمر (۱/۸۶ درصد)، مشهد (۱/۳۸ درصد) و چناران (۰/۹۹ درصد) درصد از این ترکیب یافت شد.

در بررسی اثر ارتفاع بر میزان روغن اسانس گونه *T.kotschyanus* همبستگی منفی بین ارتفاع از سطح دریا و میزان اسانس گزارش شد (Habibi et al., 2006). طبق تحقیقات ارتفاع کم از سطح دریا، عاملی تأثیر گذار در افزایش تولید اسانس در آویشن آذربایجانی گزارش شده است که با یافته‌های این تحقیق در مورد منطقه کاشمر مطابقت دارد (Yavari et al, 2010).

درجه حرارت مناسب رشد و نمو در نعناع ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. درجه حرارت بالاتر باعث تغییراتی در ترکیب اجزا اسانس می‌گردد، به‌عنوان‌مثال در نعناع فلفلی افزایش دما (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) باعث کاهش منتول می‌شود (Omidbeigi, 2013) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. نتایج مقایسه میانگین ترکیبات اسانس در اکوتیپ‌های پونه نشان داد که جمعیت‌های مناطق مختلف در کمیت و کیفیت اسانس تفاوت معنی‌داری دارند. ترکیبات ثانویه شیمیایی گیاه به وسیله هردوفاکتورمحیطی وژنتیکی تحت تأثیرقرارمی‌گیرند.لذاباانتخاب عوامل محیطی وارقام گیاهی مناسبمی‌توان به حداکثرمیزان محصول‌دهی ازلحاظ کمی وکیفی دست یافت (Omidbeigi, 2013).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بین اکوتیپ‌های مختلف از نظر عملکرد اسانس و ترکیبات مهم شیمیایی موجود در اسانس تنوع معنی‌داری وجود داشت. بیشترین راندمان درصد اسانس در گیاهان رویشگاه مشهد (۱/۸۳درصد) و رویشگاه کاشمر (۱/۸درصد) و کمترین مقدار اسانس مربوط به گیاهان رویشگاه چناران (۰/۸۷ درصد) بود. حتی درصد ترکیبات اسانس نیز در گیاهان در رویشگاه‌های مختلف مورد مطالعه متفاوت بود به‌طوری‌که در همه اکوتیپ‌ها درصد مونوترپن‌های اکسیژنه بیشترین مقدار بود و درصد سزکویپترپن اکسیژنه و سایر ترکیبات کمترین مقدار را شامل شدند. بیشترین میزان مونوترپن اکسیژنه مربوط به اکوتیپ مشهد (۹۰/۳۵ درصد) بود. عمده‌ترین ترکیبات شناسایی شده گیاه پونه شامل پولگون، پیپریتینون اکسید، ۸،۱- سینئول، پیپریتینون و منتون بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که عوامل اقلیمی و ادافیکی مختلف می‌توانند در مقدار و کیفیت ترکیبات ثانویه گیاه تاثیر مهمی داشته باشند. لذا برخی از این مناطق می‌توانند به‌عنوان مناطقی مستعد برای اهلی سازی و اصلاح تیپ شیمیایی برتر در نظرگرفته شود. البته بررسی مناطق بیشتر جهت معرفی بهترین اکوتیپ در رویشگاه‌های طبیعی این گیاه ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه تربت‌حیدریه انجام شده است که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Azadbakht, M. 1999. Categorize of medicinal plants. Cultural Institute Publishing Teymoorzadeh (Tabib), Tehran, 401 p.
2. British pharmacopoeia, 1993. British Pharmacopoeia Commission, HMSO Publisher: London. United Kingdom.
3. Derwich, E., Benziane, z., Taouil, R., Senhaji, O. and Touzani, M. 2010. Comparative essential oil composition of leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a traditional herbal medicine in Morocco American-Eurasian. Journal of Sustainable Agriculture, 4(1):47-54.
4. Dietz, B.M.and Bolton, J.L. 2010. Biological reactive intermediates (BRIs) formed from botanical dietary supplements. Chemico Biological Interaction, 192(1-2): 72-80.

5. Dzamic, A.M., Sokovic, M.D., Ristic, M.S., Novakovic, M., Grujic-Jovanovic, S., Tesevic, V. and Marin, P.D. 2010. Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* (L.) Hudson (Lamiaceae) essential oil. Botanica Serbica. 34(1): 57-62.
6. Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoonhoseini, N., Chaeichi, M.R., Tabatbaei, M.F. and Bigdeli, M. 2006. The effect of altitude compounds of medicinal plant (*Thymus kotschyanus* Boiss.) in region Taleghan. Research and Construction Cultivation and Horticulture, 19(4): 2-10.
7. Kamkar, A., Shariatifar, N., Jamshidi, A., Jebelli Javan, A., Sadeghi, T., Zeagham Monfared, M. 2012. In vitro evaluation of antioxidant activity of Iranian *Mentha longifolia* essential oil and extracts. Journal of Medicinal Plants, 1 (41):185-194.
8. Khan,R.A., Khan, F., Mushtaq, A., Shah, A.S., Khan, N.A., Khan, M.R. and Shah, M.S. 2011. Phytotoxic and antibacterial assays of crude methanolic extract of *Mentha longifolia* (Linn.). African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(12): 1530-1533.
9. Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F. and Romdhane, M. 2009. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of (*Mentha longifolia* L. and viridis) essential oils. Food Technologists, 74(7): 358-363.
10. Mozaffarian, V.A. 2013. Dictionary of Iranian plant Name. Farhang Moaser Press, Iran, Tehran, 671 p.
11. Omidbeigi, R. 2013. Production and Processing ofmedicinal plants (In Persian). Astan'e Qods'eRazavi publication, Mashhad-Iran, 347p.
12. Omidbeigi, R. 2009. Production and manufacturing the herbs (In Persian). Astan'e Qods'eRazavi publication, Mashhad-Iran, 347p.
13. Oyedeji, A.O. and Afolayan, A.J. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from South African *Mentha longifolia* (L.) L. subsp. Capensis(Thunb.) Briq. Journal of Essential Oil Ressarch, 18: 57-59.
14. Sefidkon, F. and Rahimi-Bidgoly, A. 2003. Quantitative variation of essential oil of *Thymus kotschanus* by different method of distillation and stage of plant growth. Iranian Medicinal and Aromatic Plant Research, 15: 1-22.
15. Stanisavljevic, D.M., Dordevic, S., Ristic, M., Velickovic, D. and Randelovic, N.V. 2010. Effects of different drying methods on the yield and the composition of essential oil from herb *Mentha longifolia* (L.). Biologica Nyssana, 1(2): 89-93.
16. Sharopov Farukh, S., Sulaimonova, V.A., and Setzer, W.N. 2012. Essential oil composition of *Mentha longifolia* from wild populations growing in Tajikistan. Journal of Medicinally Active Plants, 1(2): 76-84.
17. Smith, T.J., George, D.R., Sparagano, O.A.E., Seal, C., Shiel, R.S., Guy, J.H. 2009. A pilot study into the chemical and sensorial effect of Thyme and pennyroyal essential oil on hens eggs. International Journal of Food Science Technology, 44(9): 1836–1842
18. Yavari, A.R., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E. 2010. Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Thymus migricus Klokov* and *Desj.-Shost.* Iranian. Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 227-238.
19. Zargari, A. 2011. Medicinal Plant. Tehran University Press, Tehran, 980p.