بررسی و مقایسه صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه داروئی *Mentha pulegium* L. در رویشگاه‌های مختلف طبیعی و زراعی استان گیلان

زهرا بهارمست[۱]، عزیزاله خیری[۲]*، محسن ثانی‌خانی[۳]، علی سلیمانی[٤]

[۱]کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۳]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[٤]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۷

چکیده

گیاه داروئی پونه معطر (*Mentha pulegium* L.) متعلق به تیره نعنا، گیاهی با ارزش‌های سودمند تجاری و صنعتی است که به علت سنتز ماده مؤثره پولگون با اثر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدان مورد استفاده دارویی قرار می‌گیرد. این تحقیق با هدف بررسی صفات مورفولوژیکی و تنوع فیتوشیمیایی اسانس توده‌های مختلف پونه معطر جمع‌آوری شده از سه رویشگاه طبیعی: ضیابر، ماسال و آبکنار در مرحله گلدهی در استان گیلان و همچنین کشت ریزوم نمونه‌های رویشگاهی در همان سال در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام پذیرفت. ریزوم جمعیت‌های فوق در بهار ۱۳۹٦ جمع‌آوری و به مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان جهت کشت و مطالعه انتقال یافت و در تابستان همان سال ، همزمان سرشاخه‌های گلدار توده ها از مزرعه و نواحی مورد مطالعه جمع‌آوری گردید. استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر، تقطیر با آب و آنالیز اسانس‌ها با استفاده از دستگاه Gc و GC-MS شناسایی گردید. نتایج نشان داد، جمعیت‌های این گونه در رویشگاه طبیعی از لحاظ صفات مورفولوژیکی از جمله طول برگ، ارتفاع بوته و تعداد میانگره از برتری بیشتری برخوردار بودند. بیشترین میزان درصد اسانس و پولگون در جمعیت کشت شده (٥٤/٤ درصد) و کمترین میزان آن در توده آبکنار (٤٠/١٩ درصد) مشاهده شد. که یکی از دلایل آن می‌تواند کاهش میزان بارندگی، افزایش ارتفاع از سطح دریا و همچنین تفاوت در طول و عرض جغرافیایی باشد. پولگون و کامفن در منطقه ضیابر، به‌ترتیب با ٤٩/١٧ و ١١/٨٤ درصد بالاترین میزان ترکیبات اسانسی بودند، در منطقه ماسال، پولگون با ٤٩/٤٧ و گاماترپینن ١٤/٢٤ درصد و در منطقه آبکنار پولگون با ٤٠/١٩ و گاماترپینن با ١١/٥٦ درصد بیشترین میزان ترکیبات اسانسی بودند. بالا بودن میزان این ترکیبات در جمعیت‌های مورد بررسی نشان‌دهنده کیفیت بالای اسانس در این گیاه دارویی است. با توجه به اینکه هرچه ترکیبات موجود در اسانس کمتر و درصد آنها بیشتر باشد جداسازی ترکیبات جهت مصارف تجاری و دارویی آسان‌تر است جمعیت‌های کشت شده از این گونه با داشتن تعداد ترکیبات کمتر اما درصد بالای ترکیبات اصلی نسبت به سایر جمعیت‌های پونه برتری و پتانسیل بیشتری برای برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی دارند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پولگون، پونه معطر، *Mentha pulegium* L.، صفات مورفولوژیکی، صفات فیتوشیمیایی، گیلان

*نویسنده مسئول: kheiry@znu.ac.ir

مقدمه

گیاهان متعلق به جنس نعنا به‌دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجه اسانس، به‌عنوان یک گروه صنعتی مهم محسوب می‌شوند. اسانس آنها غنی از برخی ترکیبات منوترپنی بوده که به‌طور گسترده در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی استفاده می‌شوند (Aires et al., 2016). *Mentha pulegium* گیاهی دارویی و معطر است و این گیاه به حالت خودرو در دشت‌های مرطوب و حاشیه جریان‌های آب، حتی داخل آب رشد کرده و غالباً در نواحی مرکزی، جنوبی و غربی آسیا، شمال آفریقا، حبشه و جزایر قناری می‌روید. پراکنش این گیاه در ایران در دامنه‌های البرز، شمال و شمال شرقی کشور گزارش شده است (Bouyahya et al., 2017; Jafari et al., 2015). این گیاه منبع متنوعی از محصولات طبیعی مانند فلاونوئید، آلکالوئید و روغن‌های اسانسی است (Aires et al., 2016). روغن‌های اسانسی[1] ترکیبات آلی پیچیده با تنوع وسیعی از ساختارهای آلی هستند. ترکیباتی فرار که به وسیله گیاهان معطر به عنوان متابولیت‌های ثانویه سنتز شده‌اند (Benlarbi et al., 2014). مواد مؤثره در گیاهان دارویی با هدایت فرایندهای ژنتیکی همراه است ولی به طور بارز تحت تأثیر عوامل محیطی مانند ارتفاع از سطح دریا، شیب و عرض جغرافیایی، دما، نور و رطوبت نسبی قرار می گیرد، به‌طوری‌که عوامل محیطی سبب تغییرات در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها و امثال آنها می‌گردد (امید بیگی، ۱۳۷۹). ترکیبات اسانسی موجود در پونه معطر به طور گسترده در صنایع داروسازی، لوازم آرایشی، بهداشت فردی و تولید مواد غذایی کاربرد دارد (Salem et al., 2018). گیاه پونه معطر دارای خواص درمانی متعددی می‌باشد که شامل خاصیت ضدعفونی کننده، ضدنفخ، ضددرد، ضدچسبندگی پلاکت‌ها می‌باشد. مهم‌ترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس پونه مونوترپن‌ها هستند و این ترکیب به طور عمده از نئومنتون، منتون و پولگون تشکیل شده است (Abdelli et al., 2016; Bouyahya et al., 2017; Ouakouak et al., 2015). پونه معطر حاوی ترکیبات دیگری از جمله آلفا پینن، بتا پینن و کاریوفیلن است (Aires et al., 2016). محصول گیاه دارویی از نظر اقتصادی وقتی مقرون به صرفه می‌باشد که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد که با انتخاب ارقام گیاهی صحیح و محیط مناسب می‌توان به حداکثر مقدار محصول دست یافت. این تحقیق با بررسی تنوع فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی جمعیت‌های پونه معطر برای دست‌یابی به جمعیت مطلوب از نظر درصد و محتوای اسانس در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف گیلان انجام می‌شود. بررسی و شناسایی اجزای اسانس و تعیین درصد ترکیبات اسانسی جمعیت‌های رویشگاهی از اهداف اصلی این پژوهش می باشد. امکان کشت و کار و استقرار جمعیت‌های رویشگاهی در شرایط اقلیمی زنجان از دیگر اهداف مهم این پژوهش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ریزوم جمعیت‌های مختلف گیاه در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۶ از رویشگاه‌های مختلف طبیعی استان گیلان: (ضیابر (ارتفاع از سطح دریای ۸ متر و طول و عرض جغرافیایی ´۲۵ °۳۷ و ´۱٤ °٤۹ و میانگین دما ۱٦ درجه سانتی‌گراد و بارش سالیانه ۱۰۷۰ میلی‌متر) و ماسال (ارتفاع از سطح دریای ۸٤ متر و طول و عرض جغرافیایی ´۲۹ °۳۷ و ´۱۱ °٤۹ و میانگین دما ۱٦/۱ درجه سانتی‌گراد و بارش سالیانه ۱٤۰۰ میلیمتر) و آبکنار (ارتفاع از سطح دریا ۱۸- و طول و عرض

1. Essential oil

جغرافیایی ´۴۵ °۳۷ و ´۳۲ °۴۹ و میانگین دمای سالیانه ۱۷/۵ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارش ۱۷۴۵ میلی‌متر) در استان گیلان) و در سه تکرار جمع‌آوری و جهت بررسی و ارزیابی عملکرد آنها در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان (با ارتفاع ۱۶۶۳ متر از سطح دریا، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۵ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و یک دقیقه) کشت گردید. پس از ورود گیاهان به فاز گلدهی در شرایط آب و هوایی زنجان، اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی صورت پذیرفت. همچنین در تیر ماه سال ۱۳۹۶ در همان نواحی که ریزوم تهیه گردید از سرشاخه‌های گلدار سه جمعیت جمع‌آوری نمونه‌ها انجام شد و صفات مورفولوژیکی از جمله طول و عرض برگ، قطر ساقه، ارتفاع بوته، طول میانگره و صفات فیتوشیمیایی ازجمله درصد اسانس، میزان کاروتنوئید، میزان کلروفیل و میزان فلاونوئید مورد بررسی قرار گرفت.

جمعیت‌های جمع‌آوری شده در بهار ۱۳۹۶ با فواصل ردیف ۷۰ سانتی‌متر و فاصله دو بوته بر روی ردیف ۳۰ سانتی‌متری، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۳ دقیقه و عرض جغرافیایی و ۳۶ درجه ۴۱ دقیقه، میانگین بارش سالیانه ۲۸۰ میلی‌متر، میانگین دمای سالیانه ۱۱/۵ درجه سانتی‌گراد زنجان کشت شدند. تعداد بوته‌ها برای هر واحد آزمایشی ۱۸ بوته بود. پس از طی فصل رویشی و ورود گیاهان به فاز گلدهی در شرایط آب و هوایی زنجان، در فصل تابستان سال ۱۳۹۶، اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی از جمله طول و عرض برگ، قطر ساقه، ارتفاع بوته، طول میانگره و صفات فیتوشیمیایی از جمله درصد اسانس، میزان کاروتنوئید، میزان کلروفیل و میزان فلاونوئید صورت پذیرفت.

آزمایش خاک: نمونه‌های خاک بعد از برداشت از منطقه، هوا خشک شده و پس از جداسازی سنگ‌ها، سنگریزه‌ها و بقایای گیاهی درهاون چینی کوبیده شد. پس از کوبیدن، نمونه‌های خاک از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. اندازه‌گیری هدایت‌الکتریکی (Ec) و اسیدیته (pH) خاک با استفاده دستگاه هدایت‌سنج و pH متر انجام شد. نتایج نشان داد که میزان اسیدیته خاک بین ۷/۲ تا ۷/۴ و هدایت‌الکتریکی بین ۱/۸۴ تا ۲/۵ متغیر بوده است.

سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید یک گرم از بافت تازه گیاه با استفاده از محلول استون ۸۰ درصد درهاون چینی کوبیده شد. عصاره بدست آمده در فالکون با استفاده از محلول استون ۸۰ درصد به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر رسید. عصاره بدست آمده ابتدا به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس با کمک دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ برای اندازه‌گیری کلروفیل، ۵۱۰، ۴۸۰ برای اندازه‌گیری کاروتنوئید خوانده شد و میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید از فرمول‌های ذیل محاسبه گردید (Arnon, 1949).

رابطه ۱)

$$\text{Chl.a mg/g FW} = [12/7\ (A663) - 2/69(A645)] \times v/w$$

رابطه ۲)

$$\text{Chl.b mg/g FW} = [22/9\ (A645) - 4/68(A663)] \times v/w$$

رابطه ۳)

$$\text{Mg/g} = (7/6\times A480) - (1/49\times A510) \times (10 \div 1000\times 0/1)$$

Car

فلاونوئید: میزان فلاونوئید نیز به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک

مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت ٤٠ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس جذب مخلوط در ٤١٥ نانومتر اندازه‌گیری شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اکی والان کوئرستین در گرم (mg QE/g) در هر گرم عصاره بیان شد (Chang et al., 2002). تمامی سنجش‌ها در سه تکرار انجام شد.

$$Y = 0.018 + 0.005X$$ رابطه ٤)

Y: عدد جذب ثبت شده در دستگاه اسپکتوفتومتر

استخراج اسانس: نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری و جداسازی بقایای خاک و مواد زائد، در سایه و به دور از تابش مستقیم آفتاب در دمای محیط خشک شدند. ۱۰۰ گرم ماده خشک گیاهی از سرشاخه‌ها با آسیاب پودر شده و استخراج اسانس با استفاده از روش تقطیر با آب انجام شد. استخراج اسانس به مدت ٤ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر صورت پذیرفت.

رابطه ٥)

درصد اسانس =(وزن اسانس/ وزن خشک گیاه)×۱۰۰

کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS): برای شناسایی ترکیبات موجود در اسانس از دستگاه کروماتوگراف Hewlett Packard مدل Agilent متصل به طیف سنج جرمی استفاده شد. ستون با قطر داخلی ۰/۵ میکرومتر و طول ۳۰ متر ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر. دمای ستون از ۵۰ درجه سانتی‌گراد آغاز شد و در نهایت به ۲۵۰ درجه رسید. دمای آشکار سازی بر روی ۲۸۰ درجه سانتی-گراد تنظیم شد. گاز حامل هلیوم با خلوص ٪۹۹/۹ با سرعت ۳۵ سانتی‌متر بر ثانیه و انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی در دامنه ٦٠-٢٤٠ درجه با سرعت ۳ درجه بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه بود. شناسایی طیف‌های جرمی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از زمان بازداری و استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد انجام گرفت.

نتایج

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس طول برگ در جمعیت‌های رویشگاهی تفاوت معنی-داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد (جدول ۱). بیشترین و کمترین طول برگ در نواحی مورد بررسی به‌ترتیب مربوط به آبکنار با ۱۸/٦ میلی‌متر و ضیابر با ۱۸/۰٦ میلی‌متر حاصل شد (جدول ۳). عرض برگ در جمعیت‌های رویشگاهی تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده شد و بیشترین و کمترین عرض برگ به ترتیب مربوط به ماسال با ۱۳/۹۷ میلی‌متر و آبکنار با ۱۱/۹۵ میلی‌متر را نشان داد (جدول ۱ و ۳). قطر ساقه در جمعیت‌های رویشگاهی تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول ۱). کمترین و بیشترین قطر ساقه به ترتیب در آبکنار با ۲/۱ سانتی‌متر و ماسال با ۳/۱۵ سانتی‌متر مشاهده شد (جدول ۳). طول گل‌آذین در جمعیت‌های رویشگاهی در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب در ماسال با ۱۵/۳۳ میلی‌متر و در ضیابر با ١٤/٥٨ میلی‌متر بدست آمد (جدول ۳).

طول میانگره در جمعیت‌های رویشگاهی تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول ۱). بیشرین میزان آن مربوط به ضیابر با ۲/۷۳ سانتی متر و کمترین میزان آن مربوط به ناحیه ماسال با ۲/٤٥ سانتی‌متر بود. ارتفاع بوته در جمعیت‌های رویشگاهی در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱ و ۳). کمترین و بیشترین ارتفاع بوته به ترتیب مربوط به ماسال با ٢٥/١٦ سانتی‌متر و آبکنار با ۳۳/۲۵ سانتی‌متر می‌باشد (جدول ۳). بازده اسانس در جمعیت‌های رویشگاهی در سطح ۵ درصد تفاوت

معنی داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین بازده اسانس به ترتیب در ماسال با ۱/۵٦ درصد و آبکنار با ۱/۲۳ درصد حاصل شد (جدول ۲ و ٤).

کلروفیل b در جمعیت‌های رویشگاهی تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول ۲). کمترین و بیشترین میزان کلروفیل b به‌ترتیب در ماسال با ۰/۱٤ میلی‌گرم بر گرم و در آبکنار با ۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (جدول ٤). فلاونوئید کل در جمعیت‌های رویشگاهی تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشت (جدول ۲). کمترین و بیشترین میزان فلاونوئید کل به ترتیب آبکنار با ۰/٦۷ میلی‌گرم بر گرم و در ضیابر با ۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم را نشان داد(جدول ٤). کاروتنوئید کل در جمعیت‌های رویشگاهی در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری را نشان داد و بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب در ضیابر با ۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم و در آبکنار با ۰/۱۳ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (جدول ۲ و ٤). در دیگر صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

طول برگ در جمعیت‌های کشت شده در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری نشان داد و در آبکنار با ۱۷/۵۱ میلی‌متر بیشترین میزان و کمترین میزان آن در ماسال با ۱٤/۰۰۸ میلی‌متر مشاهده شد (جدول ۵ و ۷). عرض برگ در جمعیت‌های کشت شده در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری را نشان داد و بیشترین و کمترین میزان آن به‌ترتیب در ضیابر با ۱۳/۷۷ میلی‌متر و در ماسال با ۱۱/۰۲ میلی‌متر مشاهده گردید (جدول ۵ و ۷). قطر ساقه در جمعیت‌های کشت شده در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین میزان آن به‌ترتیب در ماسال با ٤/٤ میلی‌متر و در ضیابر با ۲/۹ میلی‌متر مشاهده گردید (جدول ۵ و ۷). طول گل‌آذین در جمعیت‌های کشت شده در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری نشان داد و بیشترین میزان آن مربوط به ضیابر با ۱٤/۸۱ میلی‌متر و کمترین میزان آن مربوط به ماسال با ۱۱/۷۳ میلی‌متر بود (جدول ۵ و ۷).

بازده اسانس در جمعیت‌های کشت شده در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری نشان داد و بیشترین و کمترین میزان آن به‌ترتیب در ماسال با ۱/۷٦ درصد و در آبکنار با ۱/۵ درصد مشاهده شد (جدول ۵ و ٦). کلروفیل a و b در سطح ۵ درصد معنی‌دار شدند و بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به‌ترتیب در ماسال با ۰/۹۵ میلی گرم بر گرم و در آبکنار با ۰/۵۷ میلی‌گرم بر گرم بود و بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به ترتیب آبکنار با ۲/۲۱ میلی‌گرم بر گرم و در ضیابر با ۰/۸۸ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (جدول ۵ و ٦). فلاونوئید کل در سطح ۵ در تفاوت معنی‌داری نشان داد و بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید کل به‌ترتیب در ماسال با ۰/۲۹ میلی‌گرم بر گرم و در ضیابر با ۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم مشاهده گردید (جدول ۵ و ٦). در دیگر صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که گونه پونه معطر[1] در مناطق شمالی ایران از ارتفاع ۱۸ تا ۸٤ متری از سطح دریا رویش دارد و نمونه‌های کشت شده در شرایط مزرعه با ارتفاع ۱٦۰۰ متری از سطح دریا در مزرعه تحقیقاتی زنجان با شرایط اقلیمی آن منطقه سازگاری یافته و قادر به رشد است. با توجه به جدول آنالیز اسانس در مجموع ۲۳ ترکیب از اسانس جمعیت‌های طبیعی کشت شده در زنجان از این گونه ۲۰ ترکیب شناسایی شد (جدول ۹). در میان ترکیبات مشترکی که در تمام اکوتیپ‌های مورد مطالعه گونه پونه معطر شناسایی شده بیشترین میزان اسانس را پولگون در همه جمعیت‌های رویشگاهی مورد مطالعه به خود اختصاص داد که میزان پولگون در رویشگاه ماسال با ٤۹/۷٤ درصد و کمترین میزان آن در آبکنار با ٤۰/۱۹

1. *Menthe pulegium*

درصد مشاهده گردید. ترکیبات دیگر از جمله گاما-ترپینن با ۱٤/۲٤ درصد در آبکنار بیشترین و کمترین مقدار آن در ضیابر با ٤/۱۲ درصد و ترکیب کامفن با ۱۱/۸٤ درصد در ضیابر بیشترین و کمترین میزان مربوط به ماسال با ۹/٤۸ درصد و ترکیب اوکالیپتول در ضیابر با ۳/۹۷ درصد بیشترین و در ماسال با ۲/۸٤ درصد کمترین میزان را نشان داد. از دیگر ترکیبات، د-لیمونن با ۳/۳۷ درصد در ضیابر بیشترین و در آبکنار با ۱/۷۱ درصد و بتا-میرسن به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان را در ضیابر با ۰/۷ درصد و در ناحیه آبکنار و ماسال با ۰/٦۲ درصد مشاهده شد. ترکیب منتوفوران با ۵/۲۱ درصد در آبکنار بیشترین و در ضیابر با ۰/۷۷ درصد کمترین و ترکیب ۳-اوکتانال بیشترین و کمترین میزان را به ترتیب در ضیابر با ۲/۰۷ درصد و ماسال با ۰/۷۷ درصد مشاهده گردید. ترکیب اصلی در جمعیت‌های کشت شده، ترکیب پولگون بود که در ماسال با ٥٤/٤۳ درصد بیشترین میزان و کمترین مقدار آن در آبکنار با ٥۰/۱٦ درصد را مشاهده شد. از دیگر ترکیبات اصلی در جمعیت‌های کشت شده، ترکیب کامفن با ۱۲/٤۹ درصد در ماسال بیشترین مقدار و کمترین میزان آن در آبکنار با ۹/۸ درصد و ترکیب آلفا-ترپینول با ۵/۵۳ درصد در آبکنار بیشترین و کمترین میزان آن در آبکنار با ۵/۳۱ درصد مشاهده گردید. همچنین ترکیب اوکالیپتول با ۵/۱۲ درصد در آبکنار بیشترین و کمترین میزان را در ماسال با ٤/۷۲ درصد نشان داد.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر رویشگاه بر صفات مورفولوژی اندازه‌گیری شده پونه معطر

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول برگ	عرض برگ	قطر ساقه	طول‌گل آذین	طول میانگره	ارتفاع بوته	تعداد شاخه	تعداد میانگره	تعداد گل‌آذین
جمعیت	۵	۰/۲۲*	۳/۳*	۰/۹۳*	۰/٤٥*	۰/۰٥۸*	٥۷/٤۸*	ns۱/۹۲	ns٦/۹	ns۱/۹۲
خطا	۱۲	۸/۷۱	۰/۸	۰/۱۳	۲/٥۳	۰/۱٤	۲۸/۷	۲/۲	٥/۹٥	۲/۲
ضریب‌تغییرات		۱٦/۰۸	۷	۱۳/۳۳	۱۰/٦۹	۱٤/۷۷	۱۷/۷٥	۱۰/٦۱	۹/۷۲	۱۰/٦۱

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر رویشگاه بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی پونه معطر

منابع تغییرات	درجه آزادی	بازده اسانس	کلروفیلa	کلروفیلb	کاروتنوئید	فلاونوئید
جمعیت	۲	۰/۸۳*	ns٤۹/٦۸	۲۷/٤۹*	٥/٦۱*	۰/۰٥۲*
خطا	٦	۰/۰٥	۱۰/۸۳	۱۹/۷	۱/۲	۰/۱۱
ضریب تغییرات		۱۷/۳۹	۱۰/۷٥	۲٤/۳۱	۲۱/٤۱	۱۳/٥۹

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ۳: مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی جمعیت رویشگاهی پونه معطر

جمعیت	طول برگ	عرض برگ	قطر ساقه	طول گل آذین	طول میانگره	ارتفاع بوته	تعداد شاخه	تعداد میانگره	تعداد گل آذین
ضیابر	b۱۸/۰٦	ab۱۲/٤۷	a۲/۹٦	b۱٤/٥۸	a۲/۷۳	a۳۲/۱۱	a۱٤/۸۸	a۲۳/٤٤	a۱٤/۸۸
آبکنار	a۱۸/٦	b۱۱/۹٥	b۲/۱	b۱٤/۷۷	a۲/٦۳	a۳۳/۲٥	a۱۳/۷۷	a۲٦/٤٤	a۱۳/۷۷
ماسال	ab۱۸/۳۸	a۱۳/۹۷	a۳/۱٥	a۱٥/۳۳	b۲/٤٥	b۲٥/۱٦	a۱۳/۳۳	a۲٥/۳۳	a۱۳/۳۳

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ٤: مقایسه میانگین صفات فیزیولوژی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های رویشگاهی پونه معطر

جمعیت	بازده اسانس	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	فلاونوئید
ضیابر	۱/۳۸ab	۰/٦۸a	۰/۲۳ab	۰/۷۷a	۰/۹۲a
آبکنار	۱/۲۳b	۰/۵۳a	۰/۳۹a	۰/۱۳b	۰/٦۷b
ماسال	۱/۵٦a	۰/۵۱a	۰/۱٤b	۰/۵۱ab	۰/۷۲ab

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ۵: تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های کشت شده پونه معطر

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول برگ	عرض برگ	قطر ساقه	طول‌گل آذین	طول میانگره	ارتفاع بوته	تعداد شاخه	تعداد میانگره	تعداد گل‌آذین
جمعیت	۵	۲۳/۷۱*	۱۱/۳۹**	۳/٦*	۱۵/۲*	۰/۱۸ns	۳۵/۷۹ns	۱/۷ns	۱/۵ns	۱/۷ns
خطا	۱۲	۵/۹	۲/۸	۰/۳۵	۳/۰۱	۰/۱۲	۱۷/٦۳	۵/۳٤	۱۸/۰٦	۵/۳٤
ضریب‌تغییرات		۱٤/۹۱	۱۳/۵٦	۱۵/٤۷	۱۲/۸٦	۱٤/٤۲	۱۸/٤۵	۱۸/۸۲	۱۷/٤٦	۱۸/۸۲

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ٦: تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های کشت شده پونه معطر

منابع تغییرات	درجه آزادی	بازده اسانس	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	فلاونوئید
جمعیت	۲	۰/۱ *	۲/٦*	۲/۹*	۰/۰۰۱ns	۲/۳۱*
خطا	٦	۰/۰۷	۰/۳۸	۰/۷٤	۰/۰۰۳	۰/۳۱
ضریب تغییرات		۰/۱	۲۷/٤۵	۵۱/۲۳	۷/۸	۲۲/۱۲

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ۷: مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی جمعیت کشت شده پونه معطر

جمعیت	درجه آزادی	طول برگ	عرض برگ	قطر ساقه	طول گل آذین	طول میانگره	ارتفاع بوته	تعداد شاخه	تعداد میانگره	تعداد گل آذین
ضیابر	۵	۱۷/۳۸a	۱۳/۷۷a	۲/۹b	۱٤/۸۱a	۲/۵a	۲۳/۵۸a	۱۲/۵a	۲٤/۳۳a	۱۲/۵a
آبکنار	۱۲	۱۷/۵۱a	۱۲/۳٤ab	٤/۲a	۱۳/۹۸a	۲/۵۳a	۲٤/٦٦a	۱۲/٦٦a	۲٤/۸۳a	۱۲/٦٦a
ماسال		۱٤/۰۰۸b	۱۱/۰۲b	٤/٤a	۱۱/۷۳b	۲/۲۱a	۲۰a	۱۱/٦٦a	۲۳/۸۳a	۱۱/٦٦a

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ۸: مقایسه میانگین صفات فیزیولوژی و فیتوشیمیایی جمعیت کشت شده پونه معطر

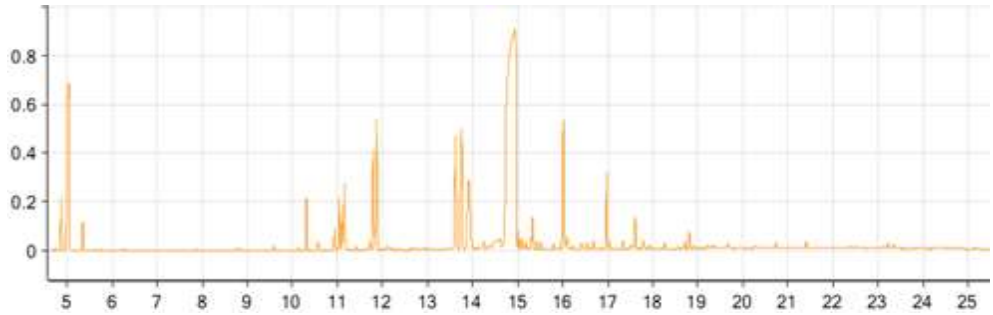
جمعیت	بازده اسانس	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	فلاونوئید
ضیابر	۱/۵۸b	۰/٦۱b	۰/۸۸b	۰/۷۱a	۰/۱۸b
آبکنار	۱/۵b	۰/۵۷b	۲/۲۱a	۰/۷a	۰/۲۸a
ماسال	۱/۷٦a	۰/۹۵a	۱/۹٦a	۰/۸a	۰/۲۹a

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، در سطح احتمال ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد.

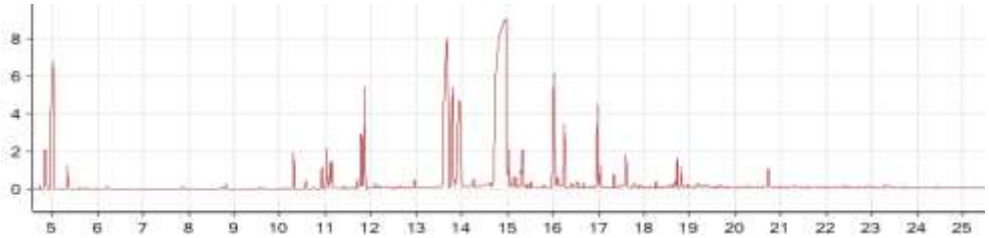
جدول ۹: مقایسه آنالیز اسانس جمعیت‌های رویشگاهی و کشت شده پونه معطر

نام ترکیب	شاخص بازداری	ضیابر	ماسال	آبکنار	ضیابرکشت۱	کشت۳آبکنار	ماسال کشت۲
Benzaldehyde	۹٦۳	۱/٤٥	۱/۳٥	۱/٤٤	۱/۱٥	۰/۹٥	۱/٥۱
Camphene	۹۷۰	۱۱/۸٤	۹/۸	۹/٤۸	۱۰/٤۲	۹/۸	۱۲/٤۹
Sabinene	۹۷٤	۰/٦٦	۰/٦	۰/٥۷	۰/٥۸	۰/٤٤	۰/٦۹
β.pinene	۹۷۸	۱/۳۱	۰/۹٦	۱/۰۳	۱/۲۱	۱/۱۱	۱/۲۹
β.-Myrcene	۹۹٤	۰/۷	۰/٦۲	۰/٦۲	۲/۲	۲	۲/۲٤
3-Octanol	۹۹٦	۲/۰۷	۰/۸٦	۰/۷۷	۲/۹٥	۲/٥	۳/٤٥
D-Limonene	۱۰۳۰	۳/۳۷	۱/۷۱	۱/۸	۰/۷٥	۰/٥	۰/۹٥
Eucalyptol	۱۰٤٥	۳/۹۷	۳/۱	۲/۸٤	٤/۹٥	٥/۱۲	٤/۷۲
γ-Terpinene	۱۰٥۸	٤/۱۲	۱٤/۲٤	۱۱/٥٦	۲/۰۳	۱/۹	۲/۰۹
α-Terpineol	۱۰٥۹	٤/۷۸	۲/۱۷	٤/۳۷	٥/٥	٥/۳۱	٥/٥۳
cis-p-mentha-1	۱۱۲۱	۱/۹٥	۳/۳	۳/٥۲	۱/۱	۰/۸٥	۱/۳۱
3-octyl acetate	۱۱۲٦	۲/۷	٥/٥٥	–	–	–	–
trans-Verbenol	۱۱٤۸	۰/۷۱	۰/٦۱	۱/۳۷	–	–	–
endo-Borneol	۱۱۷۰	۰/۸٥	۰/٦٥	۳/٦۸	٤/۹۲	٤/٥	٥/۳٤
Menthofuran	۱۱۷۱	۰/۷۷	٥/۲۱	۰/۸۳	۰/٦۸	۰/٤٥	۰/٥۸
Pulegone	۱۲٤۹	٤۹/۱۷	٤۹/۷٤	٤۰/۱۹	٥۳/۳۳	٥۰/۱٦	٥٤/٤۳
Cyclopentone	۱۲٦۸	٤/۸۸	۱/۹۲	۱/۹۲	۰/۸	۰/۷٥	۰/۷۸
Piperitone	۱۲۸۲	۱/٥۳	–	–	۱/۳٦	–	–
Thymol	۱۲۹٦	۱/٦۳	۱/٥٦	۱/۳۷	۱/٤٥	۱/۳۲	–
Caryophyllene	۱٤۲۹	۱/۹۱	۲/۲۹	۰/٦	۱/٥	۱/۸٥	½
cis-.beta.-Farnesene	۱٤٥۸	۰/۸٦	۰/٦	۰/۸٤	۰/۷٦	۰/٦۲	–
Biycyclogermacrene	۱٤۹۸	۱/۹۷	۱/۳٥	–	–	–	–
Caryophyllene oxide	۱٥۸۷	–	۰/۷۱	–	–	–	۰/٥۳

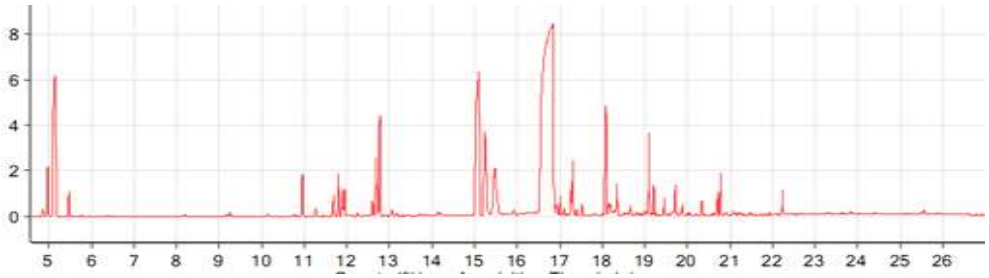
کشت ۱: جمعیت کشت شده ضیابر کشت ۲: جمعیت کشت شده ماسال کشت ۳: جمعیت کشت شده آبکنار



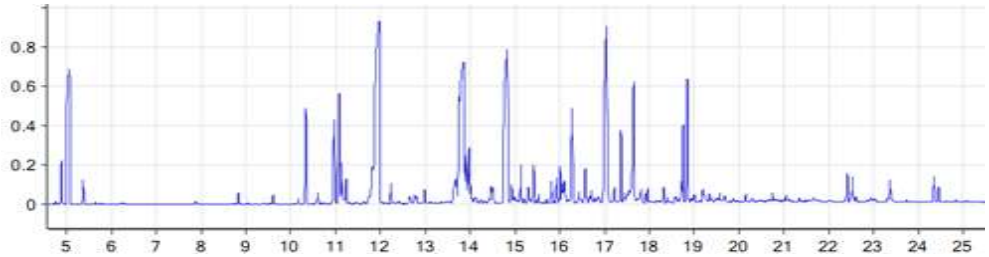
شکل ۱: کروماتوگرام آنالیز اسانس گیاه در رویشگاه ضیابر



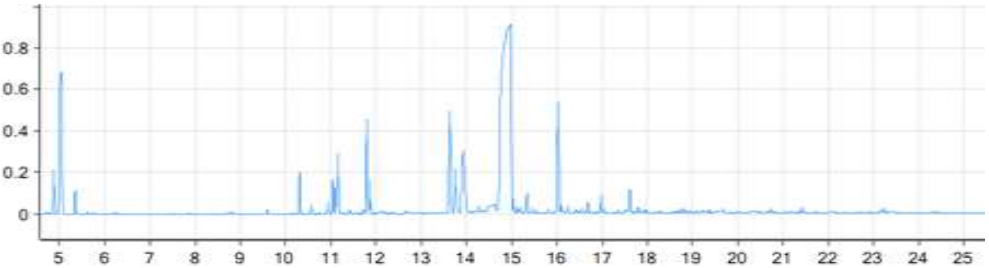
شکل ۲: کروماتوگرام آنالیز اسانس گیاه در رویشگاه ماسال



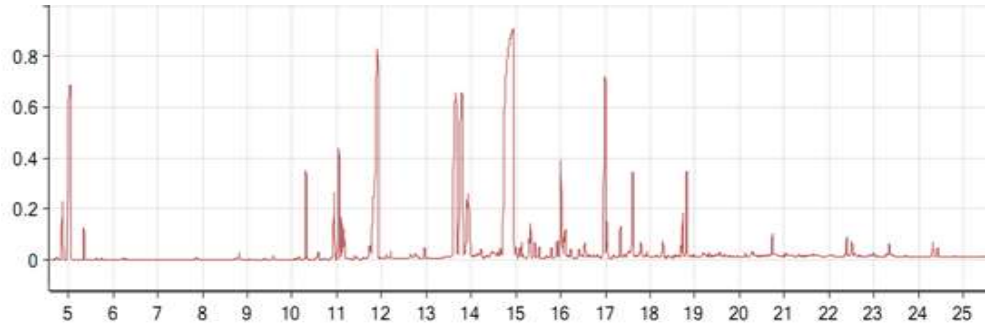
شکل ۳: کروماتوگرام آنالیز اسانس گیاه در رویشگاه آبکنار



شکل ٤: کروماتوگرام آنالیز اسانس جمعیت کشت شده ۱ مربوط به اکوتیپ ضیابر



شکل ٥: کروماتوگرام آنالیز اسانس جمعیت کشت شده ۲ مربوط به اکوتیپ آبکنار



شکل ٦: کروماتوگرام آنالیز اسانس جمعیت کشت شده ۳ مربوط به اکوتیپ ماسال

بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش (جدول ۱ و جدول ۲) نشان داد که بین جمعیت‌های مورد بررسی از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده (طول برگ و عرض برگ، قطر ساقه، طول گل آذین، بازده اسانس، کلروفیل b و مقدار فلاونوئید) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. وجود اختلاف معنی دار در بین اکسیشن‌های مختلف در هر یک از گونه‌ها علاوه بر خاصیت ذاتی ژنتیکی می‌تواند به‌دلیل سازش و تطابق با محیط حاصل شده باشد (Zargari, 1997) تفاوت‌های جغرافیایی یکی از مهمترین پارامترهای موثر بر رشد گیاهان دارویی است (Khadivi-Khub et al., 2014; Kaval et al., 2014; Chen et al., 2015). بر این اساس اثرات مجموعه‌ای از پارامترهای زیست محیطی مختلف از جمله آب و هوا، طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع بالاتر از سطح دریا و بارش و دما و خاک (شوری و pH) بر روی مورفولوژی و به طبع آن رشد و عملکرد پونه موثر است (Polat et al., 2013). نتایج نشان داد که اثرات قابل توجهی از تیمار آزمایشی، تفاوت‌های جغرافیایی به ویژگی‌های مورفولوژیکی پونه معطر به عنوان تابعی از آب و هوا است. یکی از مهمترین عوامل میزان بارش بود که به شدت به رشد اکوسیستم پونه تاثیر گذاشت. بر این اساس، می‌توان از خواص مورفولوژیکی آن برای اهلی‌سازی و اهداف بیوتکنولوژی استفاده کرد زیرا می‌توان آنها را برای پیش‌بینی رشد و عملکرد گیاه تحت تاثیر تفاوت‌های جغرافیایی مورد استفاده قرار داد. در اکوسیستم‌های طبیعی عوامل تعیین کننده تولید به غیر از گونه مورد نظر فراوانی و موقعیت جغرافیایی آنها نیز به شمار می‌روند. هر کدام از عوامل فوق می‌توانند تاثیر عمده‌ای در افزایش و کاهش کمیت و کیفیت گیاه داشته باشند (حبیبی و ابوطالبی، ۱۳۹۰). اکوتیپ آبکنار علاوه بر اینکه نسبت به جمعیت‌ها دارای تعداد گل آذین بیشتری بود، دارای کمترین قطر ساقه و بیشترین تعداد و طول میانگره، تعداد شاخه و ارتفاع بوته بود و جمعیت ماسال دارای بیشترین قطر ساقه و کمترین طول و عرض برگ، طول گل آذین و میانگره، ارتفاع بوته، تعداد شاخه و میانگره و تعداد گل آذین بود. داده‌ها نشان‌دهنده تاثیر قابل توجهی از تفاوت‌های جغرافیایی (اکوتیپ‌های مختلف) بر مورفولوژی و رشد و تولید پونه است. چنین تجزیه تحلیل‌هایی می‌تواند برای اهلی کردن و تولید گیاهان پونه پرمحصول‌تر و موثرتر استفاده شود. خصوصیات مورفولوژیکی گونه‌های مورد بررسی واکنش گیاه را به محیط زیست و رشد و تولید محصول پس از آن را نشان می‌دهد. گونه‌های گیاهی با خواص مورفولوژیکی برتر قادر به پاسخ‌گویی بیشتر به محیط زیست می‌باشند و از این رو رشد بیشتری دارند. با توجه به سازگاری پونه معطر به موطن اصلی در مناطق شمالی کشور که معتدل و مرطوب است و محدوده‌ی جغرافیایی خاص قرار گرفتن بین کوه و دریا و شرایط جوی از نظر بارندگی و طول و عرض جغرافیایی در مقایسه با نمونه‌هایی که در شرایط جوی متفاوت و طول عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا بسیار متفاوت از موطن اصلی جهت اهلی‌سازی کشت شدند تفاوت معنی‌داری می‌توان در اکثر صفات مورد بررسی مشاهده کرد. همچنین کیفیت گیاهان دارویی بازتاب تاثیر تعداد زیادی از عوامل محیطی در طول دوره رویش آن گیاه می‌باشد. علاوه براین ژرم پلاسم و عوامل ژنتیکی به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند (Dong et al., 2010). در مطالعه‌ای که Tutar و همکارانش در سال ۲۰۱٦ انجام داد، بیشترین ترکیبات اصلی اسانس M. pulegium را پیپریتنون ۱٦/۳٤ درصد و پولگون ۱۳/۷۲ درصد گزارش داد. Zanjani و همکارانش در سال ۲۰۱۵ ترکیب شیمیایی

اسانس M .pulegium را با استفاده از روش MS-GC تعیین نمودند. عمده ترکیبات تشکیل‌دهنده عبارت بودند از پولگون ۲۰ درصد و پیپریتنون ۱٤/۱۵ درصد. در مطالعهٔ انجام شده ازسوی Gulluc و همکاران بر روی پونه مشخص شد که بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شامل پیپریتون اپوکساید (۱۸/٤ درصد)، پولگون (۱۵/۵ درصد)، پیپریتون اکساید است (Gulluce et al., 2007) میزان بازدهی اسانس را از قسمت‌های هوایی گیاه ۰/۲۷ درصد و اجزای اصلی تشکیل‌دهنده آن را به‌ترتیب پی‌پریتون (۰/۳۸ درصد)، پیپریتنون (۰/۳۳ درصد)، آلفا ترپینون ٤/۷ درصد و پولگون ۲/۳ درصد گزارش کردند (et al., 2008 Mahboubi). در حالی که Ait_Ouazzou و همکاران بیشترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس پونه را پولگون ٦۹/۸ درصد، پی پریتون (۳/۱ درصد)، ایزوپولگون (۱/۸ درصد) و پیپریتون اپوکسید (۱/۷ درصد) گزارش کردند (Ait-Ouazzou et al., 2012). Lorenzo و همکاران در مطالعه‌ای در اروگوئه بیشترین جز اسانس پونه را پولگون (۷۳/٤ درصد) گزارش کردند (Lorenzo et al., 2002) مطالعهٔ دیگری که در تونس انجام شد بیشترین جز اسانس پولگون با ۷۳/۳۳ درصد بود (et al., 2009 Hajlaoui). نتایج به دست آمده در مطالعهٔ حاضر نشان داد که بیشترین اجزاء تشکیل‌دهندهٔ اسانس را پولگون تشکیل می‌دهد که تا حدودی با سایر بررسی‌ها همخوانی دارد. در تمام این گزارشات به اجزاء اصلی تشکیل دهنده اسانس پونه اشاره شده است، ولی در مقدار آنها اختلاف وجود دارد (Elhoussine et al., 2010). این اختلاف در ترکیبات تشکیل دهندهٔ اسانس به درجه حرارت، رطوبت نسبی، مدت زمان نور خورشید، شرایط آب و هوایی و بارش باران بستگی دارد (Ait-Ouazzou et al., 2012). مقایسه ترکیب‌های اسانس بدست آمده با نتایج سایر محققان نشان داد که علاوه بر مسایل ژنتیکی، عوامل محیطی نیز در تغییرات نوع و درصد ترکیبات اسانس موثر می‌باشند. با این وجود در ترکیب شیمیایی اسانس پونه در میان مطالعات انجام شده تاکنون تغییر زیادی وجود دارد (Abbaszadeh et al., 2010). چنین تغییرپذیری ممکن است با مراحل مختلف رویش گیاه و همچنین شرایط محیطی (تغییرات فصلی و جغرافیایی، ترکیب خاک) مرتبط می‌باشد (Salarbashi et al., 2013). بین بازده اسانس اندازه‌گیری شده جمعیت پونه کشت شده با مقدار فلاونوئید رابطه معنی‌داری مشاهده شد که با نتایج تحقیقات انجام گرفته مطابقت داشت (Moghaddam et al., 2015).

از آن جایی که بیشترین میزان اسانس در قسمت‌های گل آذین و برگ این گیاه وجود دارد بنابراین صفات مربوط به گل و برگ در به نژادی این گیاه حایز اهمیت است. همچنین به منظور انتخاب و اصلاح بهترین جمعیت‌ها برای مصارف دارویی و سبزی این صفات از اهمیت قابل توجهی برخوردارند. جمعیت‌های یک گونه معمولاً از نظر میزان رشد، مورفولوژی و غیره با یکدیگر متفاوت‌اند. ترکیبات فنلی یکی از مهمترین گروه‌های فیتوشیمیایی هستند و اهمیت فیزیولوژیکی قابل توجهی در گیاهان دارند (Mohsenpour et al., 2014). تحقیقات دیتز و بولتون (۲۰۱۰) نشان می‌دهد که مونوترپن‌ها از ترکیبات اصلی روغن‌های ضروری پونه به شمار می‌آیند (Hosseini et al., 2016). منوترپن‌ها به‌طور عمده از ترکیباتی نظیر پولگون و منتون تشکیل شده‌اند (Hosseini et al., 2016). ترکیبات اسانس در اکوتیپ‌های پونه نشان داد که جمعیت مناطق مختلف در کمیت و کیفیت اسانس تفاوت معنی‌داری دارند. در مقایسه کلی جمعیت‌های مورد بررسی، بیشترین درصد ترکیبات اسانسی مربوط به ترکیب پولگون

است که یک ترکیب مونوترپنی است، یعنی در همه جمعیت‌ها درصد مونوترپن‌های اکسیژنه بیشترین مقدار بوده در حالی که سایر ترکیبات مقادیر کمتری را شامل می‌شدند. بالا بودن میزان پولگون به عنوان یک ترکیب مونوترپنی موجود در اسانس گونه مورد بررسی گویای این مسئله می‌باشد که 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. بر اساس نتایج حاصل در جدول (۹) عمده‌ترین ترکیبات در گیاه پونه معطر پولگون، گاماترپینن، کامفن و اوکالیپتول است. پولگون یک مونوترپن معطر با عطر و طعم ویژه نعنایی است که در گیاهانی مانند پونه معطر، نعناع گربه ای و نعناع فلفلی وجود دارد. این ترکیب، مایع بی‌رنگی است که به خاطر خواص و عطر و طعم مطلوب آن در صنعت آروماتراپی، عطر و ادکلن سازی، آرایشی بهداشتی و صنایع دارویی جایگاه ویژه‌ای داشته و بسیار استفاده می‌شود (Abdeli et al., 2016). اوکالیپتول یک داروی مؤثر برای درمان بیماری راینو سینوزیت است. اوکالیپتول درترشحات مخاطی بسیار شدید و همچنین در آسم کنترل‌کننده مفیدِ راه‌های هوایی تنفسی است. همچنین در تحقیقات پیشتر محققان ثابت کردند که اَکالیپتول متابولیسم آراشیدونیک و همچنین تولید سیتوکین را در مونوسیت آدمی سرکوب می‌کند (Juergens et al., 1998).

در اهلی سازی و کشت گیاهان وحشی یا رویشگاهی در مکان جدید بسیار اتفاق می‌افتد که گیاه در مکان جدید رشد می کند اما میزان ماده موثره آن کمتر می‌شود یا تولید نمی‌شود و یا اینکه ترکیب دارویی اصلی آن کمتر از حد مطلوب تولید می‌شود و یا ترکیبات جدیدی تولید می‌شود که قبلا در گیاه تولید نمی‌شد (Hosseini et al., 2016)، در پژوهش حاضر نیز ماده پولگون مهم‌ترین ترکیب اسانسی پونه معطر را تشکیل می داد خوشبختانه در نمونه‌های کشت شده در شرایط اقلیمی زنجان هم میزان اسانس و هم ماده اصلی اسانس (پولگون) این گیاه نه تنها کمتر از گیاهان خودرو رویشگاهی نبود بلکه در هر سه مورد بیشتر از نمونه رویشگاهی بود، به‌طور نمونه در جمعیت آبکنار میزان اسانس جمعیت رویشگاهی ۱/۲۳ درصد و جمعیت کشت شده آن ۱/۵۰ درصد بود و میزان ترکیب اصلی پولگون در جمعیت رویشگاهی ۴۰/۱۹ درصد اما در همین نمونه کشت شده در شرایط زنجان میزان پولگون برابر ۵۴/۴۳ درصد بود که این نتایج، نوید خوبی برای ادامه کارهای اصلاحی و اهلی سازی این گیاه ارزشمند هست که در شرایط کشت شده هم کیفیت و هم کمیت اسانس، بهتر از نمونه‌های خودروی رویشگاهی است.

رابطه مثبت و معنی‌دار طول برگ با تعداد میانگره جالب توجه بود. در تحقیق زینلی و همکاران (Zeinali et al., 2007) بیشترین تغییرات عملکرد اسانس مربوط به طول برگ و ارتفاع گیاه بود. اندازه برگ فاکتور تأثیرگذاری در افزایش میزان اسانس است. با در نظر گرفتن این نکته که تولید و ذخیره اسانس و قسمت مورد استفاده جهت استخراج اسانس اغلب برگ است، بنابراین همبستگی شاخص‌های رویشی را می‌توان در افزایش میزان اسانس مثبت و تاثیرگذار ارزیابی کرد. در حالت کلی از نظر خصوصیات ریختی، از آن جایی که عمده‌ترین محل تولید و تجمع اسانس برگ است و چون بیش‌ترین شاخص بازده اسانس مربوط به جمعیت ماسال بود، بنابراین این جمعیت از این نظر و هم از حیث بزرگ بودن برگ به منظور شروع کارهای به نژادی برای اهلی کردن مطلوب به نظر می‌رسد. مطالعات برخی محققین نشان داد که بین تعداد میانگره و میزان اسانس ارتباط وجود دارد

(جدول ۷ و ۸). بـه عبـارت دیگـر بـا افـزایش تعـداد میانگره رقابت بین بخش‌های هوایی گیاه بـرای کسـب نور خورشید و انجام فعالیت فتوسـنتز کـاهش یافتـه و قطعات سایه‌اندازی کمتری خواهد داشت و در نهایـت تولید متابولیت اولیه که زمینه‌ساز تولید متابولیت ثانویـه (اسانس) است افزایش می‌یابد (Yavari et al., 2010). مقدار اسانس از جمله صفاتی است کـه تحـت کنتـرل عوامل محیطی و ژنتیکی است. با توجه به این که تمـام ژنوتیپ‌ها از یک گونه‌اند ولی در محیط‌ها و در شرایط اقلیمی متفاوت رشد کرده اند، تفاوت در میزان اسـانس را می‌توان به تفاوت در ژنوتیپ گیاهان و تا حـدی بـه شرایط محیطی نسبت داد. به طورکلی میان جمعیت‌هـا از نظر اکثر صفات تحت بررسی تنـوع وجـود داشـت. همچنین تفاوت ژنوتیپ‌های متعلق بـه یـک منطقـه بـا یکدیگر می‌تواند ناشی از تنوع تغییرات محیطـی باشـد که در طول سالیان متمادی پونه‌ها را تحـت تـأثیر قـرار داده است. میرزایـی ندوشـن و همکـاران (Mirzaaie-Nadoushan et al., 2011). گونه‌های مختلف نعنـاع را از نظر خصوصیات مورفولوژیک مـورد ارزیـابی قـرار دادند. در این بررسی بین گونه‌های مختلـف، اخـتلاف معنی‌داری از نظر خصوصیاتی هم چـون ارتفـاع گیـاه، قطر ساقه، تعداد شـاخه فرعـی، طـول و عـرض بـرگ مشاهده کردند. از آن جایی که یکی از مهم‌ترین اهداف به نژادی برای به نژادگران گزینش گیاهـانی بـا ارتفـاع بیشتر جهت سهولت در برداشت مکانیزه است، وجـود این همبسـتگی گـزینش گیاهـان مطلـوب را آسـان‌تـر می‌کند.

نتیجه‌گیری نهایی

با مقایسه صفات مـورد مطالعـه در جمعیـت‌هـای جمـع‌آوری شـده از نـواحی مختلـف اسـتان گـیلان، جمعیـت ماسـال از نظـر صـفات مورفولـوژیکی و فیتوشیمیایی از جملـه صـفت طـول و عـرض بـرگ، ارتفاع بوته و بازده اسانس نسبت به سایر جمعیت‌هـا برتری داشته کـه از عوامـل مـوثر در آن مـی‌تـوان بـه شرایط اقلیمی آن منطقه از جمله میزان بارش و ارتفاع از سـطح دریـا اشـاره کـرد. در ترکیـب اسـانس جمعیـت‌هـای کشـت شـده در زنجـان نسـبت بـه جمعیت‌های جمع‌آوری شـده از اسـتان گـیلان میـزان پولگون بیشتری مشاهده شد که این افزایش در میـزان ترکیب پولگـون را بـا افـزایش ارتفـاع از سـطح دریـا ارتباط مستقیم دارد. با توجه به این مسئله که پولگـون به عنوان یک ترکیب تجاری ارزشمند مطـرح اسـت و مقادیر بالایی از ایـن مـاده در ایـن گونـه یافـت شـد، کشت و اهلی‌سازی این گونه جهت مصارف تجاری و دارویی توصیه می‌شود. در مجموع باتوجـه بـه اینکـه جمعیت‌های کشت شده در شرایط محیطی یکسان، در مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان، تنوع موفولـوژیکی و فیتوشیمیایی نشان دادند مـی‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه بخشی از این تنوع ناشی از تفاوت ژنتیکی جمعیت‌هـا می‌تواند باشد و در نهایت کشـت موفقیـت آمیـز ایـن جمعیت‌ها با تولید مناسب ترکیبـات اسانسـی از نظـر کیفی و کمی در شرایط مزرعه ای امکان اهلـی‌سـازی موفق این گونه را نوید می‌دهـد. پولگـون مهمتـرین و بیشترین کمیت را در نمونه اسانس‌ها داشـت (حـدود ٤٩ درصد) و در شرایط مزرعه مخصوصا در اکوتیـپ ضیابر و آبکنار به ٥٤/٣٣ درصد رسید بعد آن ترکیـب کامفن (٩/٨- ١١/٨) در رویشگاه‌های طبیعی به میـزان ١٣/٤٩ درصد در مزرعه افزایش پیـدا کـرد و دیگـری ترکیب اوکالیپتول (٣/٩٧-٢/٨٤) از رویشگاه به میـزان ٥/١٢ درصـد در مزرعـه افـزایش یافـت و بـالعکس ترکیـب گامـا- تـرپینن بـود کـه در شـرایط مزرعـه (١/٩درصد) میـزان آن نسـبت بـه رویشـگاه (١٤/٢٤ درصد) کـم شـد. در پـژوهش حاضـر مـاده پولگـون مهم‌ترین ترکیب اسانسی پونه معطر بـود خوشـبختانه در نمونه‌های کشت شده در شرایط اقلیمی زنجان هـم

میزان اسانس و هم ماده اصلی اسانس (پولگون) این گیاه نه تنها کمتر از گیاهان خودرو رویشگاهی نبود بلکه در هر سه مورد بیشتر از نمونه رویشگاهی بود، که این نتایج، نوید خوبی برای ادامه کارهای اصلاحی و اهلی سازی این گیاه ارزشمند هست که در شرایط کشت شده هم کیفیت و هم کمیت اسانس، بهتر از نمونه‌های خودروی رویشگاهی بود.

References

1. Aires, A., Marrinhas, E., Carvalho, R., Dias, C. and José Saavedra, M. 2016. Phytochemical composition and antibacterial activity of hydroalcoholic Extracts of *Pterospartum tridentatum* and *Mentha pulegium* against *Staphylococcus aureus* Isolates. Bio Med Research International, 11: 65-74.
2. Abdelli, M., Moghran, H., Abounb, A. and Maachi, R. 2016. Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. Industrial Crops and Products, 94: 197-205.
3. Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, H., Pagán, R. and Conchello, P. 2011. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International, 79: 313-319.
4. Abbaszadeh, B., Rezaei, F. and Cleaner, F. 2010. Evaluation of the relationship between essential oil yield and some of the agronomic traits using causality analysis in two ecotypes of pennyroyal. Journal of Research in Iranian Medicinal Plants and Herbs, 27(1): 36-46.
5. Arnon, D.L.1994. A copper enzyme is isolated chloroplast polyphenol oxidase in *beta vulgaries*. Plant physiol, 24: 1-15.
6. Blanchini, M., Galvao, D., Tamborena, T., Alves, C. and Puntel, R. 2017. *Mentha pulegium* crude extracts induce thiol oxidation and potentiate hemolysis when associated to t-butyl hydroperoxide in human's erythrocytes. Industrial Crops and Products, 95(4): 2901-2909.
7. Benlarbi, K., Elmtili, N., Macı, F. and Galindo, J. 2014. Influence of in vitro growth conditions in the production of defence compounds in *Mentha pulegium* L. Phytochemistry Letters, 10: 233-244.
8. Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Ahmed, T., Fellah, H., Abrini, J. and Dakka, N. 2017. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. Microbial Pathogenesis, 111: 41-49.
9. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two Complementary colorimetric method. J. Food Durg Analaysis, 10: 178-182.
10. Chraibi, M., Farah, M., Lebrazi, S., Amine, OE., Houssaini, M.I. and Fikri-Benbrahim, K. 2016. Antimyco bacterial natural products from Moroccan medicinal plants: Chemical composition, bacteriostatic and bactericidal profile of *Thymus satureioides* and *Mentha pulegium* essential oils. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 10: 836-840.
11. Elhoussine D., Zineb B. and Abdellatif, B. 2010. GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. Res. J. Agri. Biol. Sci. 6(3):191-8.
12. Gomes Soaresa, P.M., Freitas Piresb, A., Prata de Souzaa, E., Sampaio Assreuyb, A.M. and Neil Criddlec, D. 2012. Relaxant effects of the essential oil of *Mentha pulegium* L. in rat isolated trachea and urinary bladder. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 64(12): 1777-84.
13. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer H., Daferera D. and Sokmen, A. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia*

L. ssp. longifolia. Food Chem. 103(4):1449-56.

14. Hassanpour, R.A., Khavari-Nejad, F., Najafi, F. and Kharazmi, A. 2013. Penconazole induced changes in photosynthesis, ion acquisition and protein profile *Mentha pulegium* of under drought stress. Physiol Mol Biol Plants, 19(4): 489-498
15. Hosseini, S., Feizi, H., Homeland, P. and Ali-Pana, M. 2016. Review and comparison of essential oil chemical compounds of *Mentha longifolia* L. Hudson. In different habitats of Fars province and Khorasan Razavi provinces. Quarterly journal of ecophythemistry of medicinal plants, 49(2): 525-529.
16. Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H. and Ksouri R. 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. World J Microbiol Biotechnol. 25(12):222-738.
17. Jafari, A., Kahrizi, D. and Mansouri, M. 2015. Effects of plant growth regulators and explant on callus induction in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Biharean biologist, 10(2): 134-136.
18. Khadraoui, A., Khelifa, A., Boutoumi, A. and Hammouti, B. 2014. *Mentha pulegium* extract as a natural product for the inhibition of corrosion. Part I: electrochemical studies, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, 28 (15): 1206-1209.
19. Khonche, A., Fallah Huseini, H., abdi, H., Mohtashami, Z., Nabati, F. and Kianbakht, S. 2017. Efficacy of *Mentha pulegium* extract in the treatment of functional dyspepsia: a randomized double- blind placebo-controlled clinical trial. Journal of Ethnopharmacology, 206: 267-273.
20. Mohsenpour, M., Vafadar, M., Meghani, H. and Vatankhah, F. 2014. Effect of environmental conditions on the amount of chemical compounds of essential oil of Pune *M. aquatica* L. from different habitats of Mazandaran province. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 47: 37-41.
21. Mirzaaie-Nadoushan, H., Rezaie, M. and Jaimand, K. 2001. Path analysis of the essential oil-related characters in *Mentha* spp. Flavour and Fragrance Journal, 16: 340-343.
22. Mehrafarin, A., Mighani, F., Baghestani, M.A. and Mirhadi, M.J. 2008. Evaluation of biodiversity of field bindweed population in Varamin (Iran). Rostaniha, 9 (1): 100-112 (in Persian).
23. Mahboubi, M. and Haghi G. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J Ethnopharmacol. 119(2): 325-7.
24. .Ouakouak, H., Chohra, M. and Denane, M. 2015. Chemical composition, antioxidant activities of the essential oil of *Mentha pulegium* L. South East of Algeria. In. L. Natur. Sci. 39: 49-55.
25. Lorenzo, D., Paz, D., Dellacassa, E., Davies, P., Vila, R. and Cañigueral S. 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. Braz Arch Biol Technol. 45(4):519-24.
26. Rodriguesa, L., Póvoab, O., Teixeirac, G., Figueiredod, A. and Moldãoa Monteiroa, A. 2013. Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of cultivated and wild growing *Mentha pulegium* L. populations from Portugal. Industrial Crops and Products, 43: 692– 700.
27. Slamati, M. and Yusefy, M. 2011. Evaluation of performance and morphological diversity of Dracocephalum moldavica genotypes. Plant Researches, 27: 1-9.
28. Salem, O., Bachrouch, J., Sriti, K., Msaada, S., Khammassi, M., Hammami, S., Selmi, E., Boushih, S., Koorani Manef Abderraba, B., Marzouk, F., Limam, J. and Mediouni, B.J. 2018. Fumigant and repellent potentials of *Ricinus communis* and *Mentha pulegium* essential oils against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. International Journal of Food Properties, 20: 89-93.
29. Salarbashi, D., Tajik, S., Shojaee-Aliabadi, S., Ghasemlou, M., Moayyed, H., Khaksar, R. and Noghabi, M.S. 2013. Development of new active

packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporated *Zataria multiflora* Boiss. and *Mentha pulegium* essential oils. Food Chemistry, 89: 614-622.

30. Tutar, U., Karaman, I., Çelik, C., Ataş, M. and Hepokur, C. 2016. Anti-biufilm antimicrobial activity of *Mentha pulegium* essential oil resistant-multidrug against *Acinetobacter baumannii*. Tropical Jornal of Pharmaceutica Research 15(5): 1046-103.
31. 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 & Desj-Shost. Iranian Journal of Medicinal Aromatic Plants Research, 26 (2): 227-238 (In Persian).
32. Zanjani, K., Bakhoda, H., Mohamadi, N. and Zojaji, M. 2015. composition chemical the essential oil of *pulegium Mentha* and this Antimicrobial activity on *Proteus mirabilis*. rouxii Zygosaccharomyces and subtilis Bacillus Food of Journal Biosciences and Technology. 5(2): 31-40.
33. Zargari, A. 1997. Medicinal Plants (Vol. 4). Tehran University Publicans, Tehran, Iran, 970p.
34. Zeinali, H., Arzani, A., Razmjoo, G.H. and Rezaei, M.B. 2007. Study of cytogenetic in *Mentha spicata* and *M. longifolia*. Pajouhesh va Sazandeg. 78 (1): 34-40 (In Persian).