نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد 8، شماره 1، بهار 1395، ص. 16-1

Journal of Agroecology
Vol. 8, No. 1, Spring 2016, p. 1-16

بررسی ترکیب فیتوشیمیایی اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahandica* Bornm.) در مراحل مختلف فنولوژیکی

حیران قمری[1]، مهدی صیدی[2*]، عظیم قاسم نژاد[3] و علیرضا قنبری[4]

تاریخ دریافت: 1393/12/23
تاریخ پذیرش: 1394/03/04

قمری، ح.، صیدی، م.، و قاسم نژاد، ع. 1395. بررسی ترکیب فیتوشیمیایی اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahandica* Bornm.) در مراحل مختلف فنولوژیکی. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی، 8(1): 16-1.

چکیده

مرزه سهندی (*Satureja sahandica* Bornm.) یکی از گیاهان خانواده نعناعیان و بومی ایران است که در شمال غرب و غرب کشور پراکندگی دارد. در تحقیق حاضر تأثیر زمان‌های مختلف برداشت بر عملکرد و ترکیب فیتوشیمیایی اسانس مرزه سهندی در رویشگاه طبیعی پاکل از توابع شهرستان ایلام، استان ایلام و یک نمونه کشت شده در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بخش‌های هوایی گیاهان در پایان هر ماه از فروردین تا شهریور ماه 1390 برداشت گردید. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که زمان برداشت بر صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت. مقایسه میانگین بازدهی اسانس نمونه‌های وحشی نشان داد که بیشترین (0/42 درصد) و کمترین (0/19 درصد) عملکرد به ترتیب مربوط به اردیبهشت و شهریور بود. همچنین بیشترین (61/06 درصد) و کمترین (49/53 درصد) فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به محصول شهریور و مرداد بود. از طرفی، بیشترین و کمترین محتوی فنل کل به ترتیب مربوط به شهریور (30/06 میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس) و خرداد (14/41 میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس) بود. تجزیه فیتوشیمیایی اسانس‌ها با کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) 75 ترکیب مختلف را جداسازی کرد. بورنئول در تمامی مراحل مختلف برداشت ترکیب اصلی اسانس بود. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که اردیبهشت ماه به عنوان مناسب‌ترین زمان برداشت جهت دستیابی به بالاترین میزان اسانس، مرحله گلدهی کامل (شهریور) جهت دستیابی به بالاترین کیفیت اسانس از جمله درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل و تیر ماه جهت دستیابی به مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده اسانس (بورنئول) مرزه سهندی در رویشگاه آن در استان ایلام می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بورنئول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گیاهان دارویی، محتوی فنل کل

مقدمه

جنس مرزه (*Satureja*) از خانواده نعناع[2] (El-Gazzar & Watson, 1970) اغلب در مناطق مدیترانه‌ای پراکندگی دارد. این جنس در ایران دارای 15 گونه می‌باشد که از میان آن‌ها نه گونه انحصاری کشور هستند. گونه‌های این جنس بیشتر در دامنه‌های کوهستانی مناطق شمال، شمال غربی، شمال شرقی، مرکزی و جنوب غربی ایران پراکندگی داشته و روی صخره‌های آهکی و یا دامنه‌های سنگلاخی می‌رویند و سایر گونه‌ها علاوه بر ایران در ترکمنستان، ترکیه، قفقاز، ماورای قفقاز و عراق نیز می‌رویند (Sefidkon et al., 2005).

مرزه سهندی با نام علمی *S. sahandica* Bornm. گیاهی چندساله است (Akbarinia & Sefidkon, 2009) که در شمال

1 و 2- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
3- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
4- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: Email: msaidi@ilam.ac.ir)

2- Labiateae

غرب و غرب ایران پراکنده شده است (Sefidkon et al., 2004). رشد رویشی این گیاه از اواخر اسفند شروع و گلدهی آن از اواسط خرداد تا اواخر مرداد ادامه دارد. در صورت برداشت و یا چرای دام گلدهی آن تا اوایل پاییز ادامه می‌یابد (Akbarinia et al., 2009). این گونه در رویشگاه‌های طبیعی استان ایلام به صورت خودرو می‌روید و فصل رویش آن از فروردین تا اواخر شهریور ماه می‌باشد.

گونه‌های مختلف جنس مرزه از نظر میزان اسانس و نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده تنوع زیادی دارند. در اسانس برخی از گونه‌ها، ترکیب‌های عمده پولگون و منتول هستند. در حالی‌که در اسانس بعضی دیگر از گونه‌ها ترکیباتی مانند کارواکرول، گاماترپینن و پاراسیمن ترکیب عمده اسانس را تشکیل می‌دهند (Ahmadi et al., 2009). در مرزه سهندی مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس تیمول، پی‌سیمن و گاماترپینن و بازده اسانس 2/8-1/5 درصد نسبت به وزن خشک گزارش شده است (Sefidkon et al., 2004).

باید توجه داشت که میزان مواد مؤثره در گیاه به هیچ وجه ثابت نبوده و متناسب با میزان رشد گیاه تغییر می‌نماید. تغییراتی که در میزان مواد مؤثره گیاه در طول سال و حتی ساعات یک روز به وجود می‌آید اهمیت جمع‌آوری گیاهان دارویی را در زمانی که گیاه دارای حداکثر میزان مواد مؤثره است نمایان می‌سازد (Samsam Shariat, 1992). برداشت گیاهان دارویی در زمان نامناسب نه تنها میزان محصول به دست آمده را کاهش می‌دهد، بلکه محصول برداشت شده نیز از کیفیت مطلوبی برخوردار نخواهد بود. زیرا عملکرد اندام مورد نظر و همچنین میزان متابولیت‌های ثانویه یک گیاه دارویی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه متفاوت است (Omidbaigi, 2005). از طرفی فعالیت بیولوژیک و کاربرد اسانس در صنایع مختلف بستگی به ترکیبات شیمیایی موجود در آن دارد که خود تحت تأثیر عوامل محیطی، مرحله رشد، زمان برداشت، شرایط کشت، روش‌های پرورش و اندام برداشت شده جهت اسانس‌گیری می‌باشد (Ahmadi & Mirza, 1999).

بازده اسانس مرزه بختیاری (*S. bachtiarica* Bunge.) کشت شده و جمع‌آوری شده از رویشگاه در مراحل قبل از گلدهی و گلدهی کامل در خرم آباد به ترتیب (1/1 و 2/1 درصد) و (1/8 و 1/1 درصد) بوده است. عمده‌ترین ترکیب‌های شناسایی شده در رویشگاه در مرحله قبل از گلدهی پاراسیمن (36/5 درصد)، کارواکرول (20/0 درصد) و تیمول (19/2 درصد) و در مرحله گلدهی کامل پاراسیمن (23/2 درصد)، کارواکرول (25/8 درصد)، تیمول (1/3 درصد) و منتول (18/5 درصد) بودند. در اسانس مرزه بختیاری جمع‌آوری شده از مزرعه در مرحله قبل از گلدهی عمده‌ترین ترکیب‌ها پاراسیمن (28/6 درصد) و کارواکرول (48/6 درصد) و در مرحله گلدهی کامل پاراسیمن (21/2 درصد) و کارواکرول (62/3 درصد) بودند (Ahmadi et al., 2009). بیشترین میزان اسانس به دست آمده از مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica* J.) در مرحله قبل از گلدهی (پنج میلی‌لیتر در 100 گرم ماده خشک) و کمترین مقدار مربوط به مرحله بعد از گلدهی (1/9 میلی‌لیتر در 100 گرم ماده خشک) بود و کارواکرول به عنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس در سه مرحله قبل از گلدهی، بعد از گلدهی و گلدهی گزارش شد (Madgd et al., 2008). در آویشن هیمالیایی (*Thymus hyemalis* Lange) بیشترین درصد مواد مؤثره تیمول و کارواکرول در آغاز گلدهی به دست آمده است (Jordan et al., 2006). بازدهی اسانس آویشن کرمانی (*T. caramanicus* Jalas) نیز تحت تأثیر زمان برداشت تغییرات معنی‌داری نشان داده است. به طوری‌که در مراحل گلدهی، تشکیل جوانه زایشی، رشد بذر و نیز تشکیل جوانه رویشی به ترتیب 2/5، 2/1، 2/0 و 1/9 درصد بوده است. ترکیب اصلی اسانس این گیاه نیز در تمام مراحل ذکر شده، کارواکرول گزارش شده است (Ebrahimi et al., 2008). ماده اصلی تشکیل‌دهنده اسانس زرمبات (*Alpinia zerumbet*) نیز در تمام فصول سال، پی‌سیمن بوده اما مقدار این ترکیب در فصل تابستان افزایش و در اوایل بهار کاهش پیدا کرد (Murakami et al., 2009). میزان اسانس در گل راعی (*Hypericum triquetrifolium* Turra.) در مراحل رویشی، گلدهی و میوه‌دهی به ترتیب 0/09، 0/12 و 0/08 درصد گزارش شده است. ان- اکتان، آلفا- پینن، بتا- کاریوفیلن، 2-متیل اکتان، ان- نونان، آلفا- لونگیپینن، کاریوفیلن اکسید و بتا- پینن ترکیبات اصلی اسانس بودند که درصدشان در طول سه مرحله رشد متفاوت بود (Hosni et al., 2011). بالاترین محتوی فنل کل در دو گونه از گل راعی (*H. scabrum; H. hyssopifolium*) در مرحله تشکیل جوانه زایشی و در گونه دیگر از این گیاه (*H. pruinatu*) در مرحله گلدهی کامل به دست آمده است (Ayan et al., 2007). بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو گونه توت (*Morus alba* L.; *M. nigra* L.) به ترتیب در اکتبر و فوریه ثبت شده است. اما بیشترین و کمترین میزان فنل کل در این دو گونه به ترتیب در اکتبر و ژوئن به دست آمده است. در این بررسی مشخص

شده که افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل در اکتبر ممکن است با مرحله گلدهی کامل و شروع مرحله پیری در ارتباط باشد (Syvacy & Sokmen, 2004). تغییرات غلظت فنل کل در طول رشد مرزنجوش بستانی (*Origanum majorana* L.) هم توسط مراحل فنولوژیکی و هم توسط فاکتورهای آب و هوایی تحت تأثیر قرار گرفته و مقدار فنل به طور معنی‌داری با مرحله رشد تغییر پیدا می‌کند (Sellami et al., 2009).

با توجه به این که شرایط اقلیمی و زمان برداشت گیاه می‌توانند تأثیرات چشمگیری در بازده و همچنین نوع و درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاهان معطر ایجاد کنند، لازم است جهت دستیابی به حداکثر بازدهی و کیفیت مطلوب اسانس‌ها، مطالعات دقیقی صورت گیرد. در همین راستا، تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر مراحل مختلف رشد و زمان برداشت مرزه سهندی بر عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس آن در رویشگاه طبیعی خود در استان ایلام و در نهایت معرفی مناسب‌ترین زمان برداشت برای بهره‌برداران و تولیدکنندگان انجام گردید.

مواد و روش‌ها

الف) مواد گیاهی و استخراج اسانس

در این تحقیق بخش‌های هوایی مرزه سهندی از کوهپایه‌های منطقه پاکل واقع در استان ایلام (شکل 1) در شش مرحله از فروردین تا شهریور سال 1390 و در پایان هر ماه جمع‌آوری گردید. یک نمونه تکثیر شده به روش غیرجنسی (قلمه) از این گیاه در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام کشت گردیده و در مرحله گلدهی کامل (شهریور ماه) برداشت و با نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه مورد مقایسه گردید. شناسایی و تعیین نام علمی این گیاه توسط دکتر ولی اله مظفریان، استاد گیاهشناسی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام شد. در هر مرحله از برداشت، اندام‌های هوایی تعدادی از گیاهان مورد نظر از ارتفاع 10 سانتی‌متر بالای سطح خاک برداشت شده و پس از جداسازی مواد زائد، در سایه و در دمای اتاق خشک شدند. تاریخ، محل جمع‌آوری و مرحله رشد گیاهان در جدول 1 آمده است.

برای استخراج روغن‌های اسانسی، 100 گرم از نمونه خرد شده گیاهی را در دستگاه کلونجر ریخته و پس از افزودن 300 میلی‌لیتر آب مقطر به آن به روش تقطیر با آب (Hydro-distillation) اسانس-گیری شد (British pharmacopoeia, 1988). پس از چهار ساعت اسانس‌گیری، اسانس حاصل جمع‌آوری و با سولفات سدیم بدون آب رطوبت‌زدایی شد.

شکل 1- مرزه سهندی در رویشگاه طبیعی پاکل، استان ایلام

Fig. 1- Sahandian savory at its natural habitat 'Paakal', Ilam province

جدول 1- تاریخ، محل جمع‌آوری و مرحله رشد مرزه سهندی

Table 1- Date, collection place and growth stage of Sahandian savory

تاریخ جمع‌آوری Date of harvesting	مرحله رشد Growth stage	محل جمع‌آوری Collection place
21.4.2011	رویشی Vegetative	رویشگاه طبیعی پاکل Natural habitat, Paakal
21.5.2011	رویشی Vegetative	رویشگاه طبیعی پاکل Natural habitat, Paakal
21.6.2011	رویشی Vegetative	رویشگاه طبیعی پاکل Natural habitat, Paakal
21.7.2011	رویشی Preflowering	رویشگاه طبیعی پاکل Natural habitat, Paakal
21.8.2011	شروع گلدهی Flowering	رویشگاه طبیعی پاکل Natural habitat, Paakal
7.9.2011	گلدهی کامل و بذر دهی Full blooming & seeding	رویشگاه طبیعی پاکل Natural habitat, Paakal
2.9.2011	گلدهی کامل Full blooming	گلخانه Greenhouse

درصد اسانس اندام هوایی در زمان‌های مختلف برداشت در رویشگاه به صورت حجمی- وزنی (حجم اسانس در 100 گرم وزن خشک) محاسبه گردید. برای دقت بیشتر، در هر مرحله از برداشت، سه نمونه گیاهی مجزا تهیه گردید و عملکرد اسانس با محاسبه میانگین درصد اسانس به دست آمده برای هر نمونه به دست آمد. اسانس‌ها تا زمان ارسال به آزمایشگاه جهت تجزیه فیتوشیمیایی در یخچال با دمای $4^{\circ}C$ نگهداری شدند.

ب) شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) در آزمایشگاه فیتوشیمی پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی استفاده شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه GC و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌های حاصله با دی کلرومتان رقیق شده و به دستگاه GC/MS تزریق شده و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از پارامترهای زمان و شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS صورت گرفت. درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ به دست آمد. مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده به صورت زیر بود.

مشخصات دستگاه GC

کروماتوگرافی گازی مدل TRACE GC ساخت شرکت Thermoquest-Finnigan مجهز به آشکارساز FID (یونیزاسیون شعله هیدروژن) با ستون DB-5 به طول 30 متر، قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن 0/25 میکرون بود. برنامه‌ریزی حرارتی آون از 60 تا $250^{\circ}C$ با سرعت افزایش $5^{\circ}C$ در دقیقه انجام گردید. گاز حامل نیتروژن با مقدار 1/1 میلی لیتر بر دقیقه بود. نسبت شکاف 100 برای رقیق کردن نمونه استفاده شد. دمای محفظه تزریق $250^{\circ}C$ و دمای آشکارساز (دتکتور) $280^{\circ}C$ منظور گردید. حجم نمونه اسانس تزریق شده به دستگاه نیز 0/2 میکرولیتر بود.

مشخصات دستگاه GC/MS

برای تجزیه اسانس از دستگاه GC/MS مدل TRACE MS مجهز به ستون DB به طول 60 متر و قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه نازک 0/25 میکرومتر استفاده شد. دمای آون از 60 تا $250^{\circ}C$ با سرعت $4^{\circ}C$ بر دقیقه افزایش یافت و به مدت 10 دقیقه در $250^{\circ}C$ نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان 1/1 میلی‌لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون 70 الکترون‌ولت نیز استفاده شد.

ج) اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس روش پیشنهادی (Kulkarni & Aradhya, 2005) انجام شد. درصد فعالیت آنتی-اکسیدانی بر اساس معادله (1) محاسبه گردید.

$$\text{Antioxidant activity (\%)}=[1-(A_{Sample}/A_{Control})]\times 100 \quad (1)$$

که در این معادله، A_{Sample}: جذب نمونه در طول موج 517nm و $A_{Control}$: جذب کنترل در طول موج 517nm می‌باشند.

د) سنجش میزان فنل کل

برای سنجش محتوی فنل کل نمونه‌ها، از روش پیشنهادی (Singleton et al., 1999) استفاده شد. میزان فنل کل بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس استخراج شده از گیاه خشک بیان گردید. برای این منظور ابتدا منحنی استاندارد گالیک اسید تهیه شد. برای منحنی استاندارد ترسیم شده معادله خطی (2) محاسبه شد.

$$Y=1/08x + 0/136 \quad R^2=0/983 \quad (2)$$

میزان فنل کل بر اساس معادله (3) محاسبه گردید:

$$\text{mg Gallic acid/ml Essential oil} = [(A_{760} + 0.131)/1.84) \times 39 \quad (3)$$

که در این معادله، A_{760}عدد قرائت شده در 760 nm و 39 عدد رقیق‌سازی اسانس با اتانول 96 درصد بودند.

ه) طرح آزمایشی و محاسبات آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها با نرم‌افزار Mstat-C انجام شد. ضرایب همبستگی صفات مختلف نیز با نرم‌افزار SPSS تعیین گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بازدهی اسانس نمونه‌ها تحت تأثیر زمان‌های مختلف برداشت اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول 2).

با مقایسه میانگین داده‌ها (جدول 3) مشخص گردید که بیشترین و کمترین بازدهی اسانس در رویشگاه به ترتیب مربوط به نمونه‌های اردیبهشت (0/42 درصد) و شهریور ماه (0/19 درصد) بود. هر چند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین نمونه شهریور و مرداد ماه (0/23 درصد) مشاهده نشد. بازدهی اسانس نمونه گلخانه در مقایسه با سایر نمونه‌ها بسیار پایین و ناچیز بود که به دلیل مقدار ناچیز ماده خشک اولیه استفاده شده در فرایند اسانس‌گیری، تقریباً غیرقابل اندازه‌گیری دقیق بود.

جدول 2- تجزیه واریانس عملکرد اسانس مرزه سهندی در مراحل مختلف فنولوژیکی

Table 2- ANOVA of essential oil yield of *S. sahandica* at different phenological stages

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS
		عملکرد اسانس Oil yield
تاریخ برداشت Date of harvesting	5	0.023**
خطا Error	12	0.001
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	9.60

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: Significant at 1% of probability level

جدول 3- مقایسه میانگین اثر زمان برداشت بر درصد اسانس

Table 3- Mean comparison of harvesting time impacts on oil percentage

تیمار Treatment	درصد اسانس Oil percentage
فروردین April	0.34bc*
اردیبهشت May	0.42a
خرداد June	0.38ab
تیر Julay	0.32c
مرداد August	0.23d
شهریور September	0.19d

* میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with at least one similar letter have no significant diference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس مرزه سهندی در مراحل مختلف برداشت در رویشگاه و گلخانه در جدول 4 خلاصه شده‌اند.

جدول ٤- اجزای اصلی، شاخص بازداری و درصد ترکیبات اسانس مرزه سهندی در زمان‌های مختلف برداشت

Table 4- Main compounds, retention index and percentage of essential oil composition of Sahandian savory at different harvesting dates

نام ترکیب Compound name	شاخص بازداری RI	زمان برداشت از رویشگاه پاکل Harvesting date from habitat 'Paakal'						زمان برداشت از گلخانه Harvesting date from greenhouse
		فروردین April	اردیبهشت May	خرداد June	تیر July	مرداد August	شهریور September	شهریور September
آلفا پینن α-Pinene	939	0.67	0.68	0.76	0.32	0.27	0.38	0.09
کامفن Camphene	955	2.82	2.56	2.80	2.87	2.03	1.77	5.93
دهیدرو-۱، ۸- سینئول Dehydro-1, 8-cineole	994	1.16	0.61	0.49	0.38	0.27	0.29	0.54
آلفا ترپینن α-Terpinene	1020	0.22	0.37	0.33	0.17	0.22	0.79	0.26
پی سیمن p-Cymene	1027	0.75	0.83	1.00	0.88	1.54	2.87	0.86
گاما ترپینن γ-Terpinene	1061	0.51	0.88	0.87	0.30	0.83	1.56	0.63
سیس-لینالول اکسید (فورانوئید) Cis-linalool oxide (furanoid)	1075	1.28	1.42	0.89	0.36	0.67	0.81	0.32
لینالول Linalool	1099	7.64	9.35	4.66	1.29	1.29	0.99	1.41
کامفور Camphor	1153	4.71	4.81	7.09	14.39	15.22	15.26	7.56
بورنئول Borneol	1177	29.34	34.58	43.14	44.71	37.31	29.30	39.02
۴- ترپینئول 4-Terpineol	1185	4.99	6.72	7.67	4.81	8.58	11.82	4.00
آلفا ترپینئول α-Terpineol	1198	7.09	8.26	6.80	4.41	5.10	4.38	2.97
ایزوبورنیل فومات Isobornyl formate	1237	2.82	2.78	2.70	3.27	4.78	3.47	1.98
بورنیل استات Bornyl acetate	1292	12.96	9.42	6.86	9.99	12.25	9.25	9.54
کارواکرول Carvacrol	1302	tr	tr	tr	tr	tr	4.92	7.88
ترپینن-۴- ال استات Terpinen-4-ol acetate	1304	0.18	0.09	0.15	1.19	0.37	3.39	0.64
اسپاتولنول Spathulenol	1600	5.23	2.90	2.13	1.39	1.60	0.92	1.58
کاریوفیلن اکسید Caryophyllene oxide	1605	5.24	5.23	5.11	2.64	2.52	1.15	4.81

tr: مقدار بسیار ناچیز

tr: Trace value

در مجموع تعداد 75 ترکیب مختلف در اسانس‌ها شناسایی شد که عمده‌ترین آن‌ها بورنئول، کامفور، بورنیل استات، 4- ترپینئول و لینالول بودند. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس حاصل از فروردین، اردیبهشت، خرداد، تیر، مرداد و شهریور از رویشگاه و نمونه گلخانه‌ای به ترتیب 99/07، 99/62، 99/35، 97/93، 99/04، 99/04 و 97/30 درصد از کل مواد تشکیل‌دهنده اسانس را تشکیل دادند.

شناسایی کیفی ترکیب‌های اسانس‌ها در مراحل مختلف برداشت وجود 68 ترکیب مختلف را نشان داد که در فروردین و اردیبهشت ماه عمده‌ترین ترکیب‌ها بورنئول، بورنیل استات، لینالول و آلفا- ترپینئول بودند. اما در خرداد ماه همچنان بورنئول ترکیب اصلی و پس از آن 4- ترپینئول، کامفور، بورنیل استات و آلفا- ترپینئول عمده‌ترین اجزاء اسانس بودند. در اسانس مربوط به تیرماه، بورنئول به حداکثر مقدار خود (44/71 درصد) در طول دوره رشد گیاه رسید و پس از آن کامفور، بورنیل استات، 4- ترپینئول و آلفا- ترپینئول به ترتیب بیشترین سهم در تشکیل اسانس را عهده‌دار بودند. در نمونه مرداد ماه افزایش درصد کامفور و بورنیل استات و کاهش محتوی آلفا- ترپینئول ادامه یافت. اگرچه در این مرحله نیز عمده‌ترین جزء تشکیل- دهنده اسانس بورنئول (37/31 درصد) بود، اما درصد آن نسبت به مراحل رشدی پیشین کاهش چشمگیری نشان داد. در اسانس حاصل از نمونه وحشی در شهریور ماه، 74 ترکیب مختلف شناسایی شد که عمده‌ترین آن‌ها بورنئول (29/30 درصد)، کامفور (15/26 درصد)، 4- ترپینئول (11/82 درصد)، بورنیل استات (9/25 درصد) و کارواکرول (4/92 درصد) بودند. در اسانس نمونه کشت شده در گلخانه نیز 74 ترکیب مختلف شناسایی شد اما عمده‌ترین آن‌ها بورنئول (39/02 درصد)، بورنیل استات (9/54 درصد)، کارواکرول (7/88 درصد)، کامفور (7/56 درصد) و کامفن (5/93 درصد) بودند (جدول 4).

نتایج تجزیه واریانس درصد عمده‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس نشان داد که بین زمان‌های مختلف برداشت اختلاف معنی- داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 5). مقایسه میانگین محتوای بورنئول نشان داد که بیشترین و کمترین درصد این ترکیب به ترتیب مربوط به نمونه‌های وحشی در تیر (44/71 درصد) و شهریور (29/30 درصد) بود. از طرفی بین نمونه‌های شهریور و فروردین (29/34 درصد) از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۵- تجزیه واریانس اجزای اصلی اسانس در زمان‌های مختلف برداشت

Table 5- ANOVA of main compounds of essential oils at different harvesting dates

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS						
		بورنئول Borneol	کامفور Camphor	بورنیل استات Bornyl acetate	٤- ترپینئول 4-Terpineol	لینالول Linalool	آلفا ترپینئول α-Terpineol	کارواکرول Carvacrol	کامفن Camphene
زمان برداشت Date of harvest	6	112.40**	71.73**	12.41**	22.05**	36.26**	10.40**	31.46**	5.64**
خطا Error	14	9.03	0.32	0.49	0.53	1.08	0.31	0.38	0.56
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	8.17	5.77	6.97	10.53	27.35	10.09	34.03	25.25

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: Significant at 1% of probability level

جدول 6- مقایسه میانگین درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در زمان‌های مختلف برداشت از رویشگاه و گلخانه

Table 6- Mean comparison oil compounds percentage at different harvesting times from habitat and greenhouse

تیمار Treatment	بورنئول Borneol	کامفور Camphor	بورنیل استات Bornyl acetate	4- ترپینئول 4-Terpineol	لینالول Linalool	آلفا ترپینئول α-Terpineol	کارواکرول Carvacrol	کامفن Camphene
فروردین April	29.34^{d*}	4.71^{c}	12.96^{a}	4.99^{d}	7.64^{a}	7.09^{b}	-	2.82^{b}
اردیبهشت May	34.58^{cd}	4.81^{c}	9.42^{b}	6.72^{c}	9.35^{a}	8.26^{a}	-	2.56^{b}
خرداد June	43.14^{ab}	7.09^{b}	6.86^{c}	7.67^{bc}	4.66^{b}	6.80^{b}	-	2.80^{b}
تیر Julay	44.71^{a}	14.39^{a}	9.99^{b}	4.81^{d}	1.29^{c}	4.41^{c}	-	2.87^{b}
مرداد August	37.31^{c}	15.22^{a}	12.25^{a}	8.58^{b}	1.29^{c}	5.10^{c}	-	2.03^{b}
شهریور (رویشگاه) September (Habitat)	29.30^{d}	15.26^{a}	9.25^{b}	11.82^{a}	0.99^{c}	4.38^{c}	4.92^{b}	1.77^{b}
شهریور (گلخانه) September (Greenhouse)	39.02^{bc}	7.56^{b}	9.54^{b}	4.00^{d}	1.41^{c}	2.97^{d}	7.88^{a}	5.93^{a}

* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means in each column with at least one similar letter have no significant diference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

جدول 7- تجزیه واریانس فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل اسانس در برداشت‌های مختلف

Table 7- ANOVA of antioxidant activity and total phenol content of oils at different harvests

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	
		فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	محتوی فنل کل Total phenol content
زمان برداشت Date of harvest	5	48.58**	107.67**
خطا Error	12	9.56	2.31
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	5.79	7.51

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: Significant at 1% of probability level

مقایسه میانگین محتوای کامفور نشان داد که بیشترین و کمترین درصد این ترکیب به ترتیب مربوط به نمونه شهریور (15/26 درصد) و فروردین (4/71 درصد) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین شهریور، مرداد (15/22 درصد) و تیر (14/39 درصد) و بین فروردین (4/71 درصد) و اردیبهشت (4/81 درصد) مشاهده نشد. مقایسه میانگین بورنیل استات موجود در اسانس‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین درصد این ترکیب به ترتیب مربوط به فروردین (12/96 درصد) و خرداد (6/86 درصد) بود. هر چند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین فروردین (12/96 درصد) و مرداد (12/25 درصد) وجود نداشت (جدول 6).

نتایج تجزیه واریانس درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل اسانس نشان داد که بین زمان‌های مختلف برداشت اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 7). بیشترین و کمترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به شهریور (61/06 درصد) و مرداد (49/53 درصد) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین مرداد و ماه‌های فروردین تا تیر وجود نداشت.

جدول 8- مقایسه میانگین اثر زمان برداشت بر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل اسانس

Table 8- Mean comparison of harvesting time effects on antioxidant activity and total phenol content of essential oils

تیمار Treatment	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)	محتوی فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس) Total phenol content (mg Gallic acid/ml Essential oil)
فروردین April	51.76[b*]	14.90[d]
اردیبهشت May	53.87[b]	20.43[c]
خرداد June	51.87[b]	14.41[d]
تیر Julay	51.92[b]	24.04[b]
مرداد August	49.53[b]	17.78[c]
شهریور September	61.06[a]	30.06[a]

* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means in each column with at least one similar letter have no significant diference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

بیشترین و کمترین محتوی فنل کل اسانس به ترتیب مربوط به شهریور (30/06 میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس) و خرداد (14/41 میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین خرداد و فروردین (14/90 میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر اسانس) مشاهده نگردید (جدول 8).

مقایسه درصد اسانس حاصل از اندام هوایی مرزه سهندی تحت تأثیر زمان‌های مختلف برداشت از رویشگاه نشان داد که حداکثر میزان اسانس (0/42 درصد) را از این گیاه می‌توان در اردیبهشت ماه به دست آورد. این در حالی است که اکبری‌نیا و همکاران (Akbarinia et al., 2009) بازده اسانس سه توده ژنتیکی مرزه سهندی جمع‌آوری شده از عرصه‌های طبیعی استان قزوین، آبگرم و آروچان را به ترتیب 3/3، 3/0 و 2/21 درصد و سفیدکن و همکاران (Sefidkon et al., 2004) بازده اسانس اندام هوایی مرزه سهندی در سه استان مختلف در شمال غرب (آذربایجان و زنجان) و غرب (کردستان) ایران را 2/8-1/5 درصد نسبت به وزن خشک گزارش نمودند. بنابراین، بازده اسانس این گونه در استان ایلام کمتر از مقدار گزارش شده توسط این محققان می‌باشد. رضوانی‌مقدم و همکاران (Rezvani Moghaddam et al., 2013) بالاترین درصد اسانس مرزه در شرایط آب و هوایی مشهد را تحت تأثیر کاربرد تیمارهای کودی برابر با 2/37 درصد برای تیمار ترکیبی نیتروکسین+حل‌کننده فسفات+ورمی‌کمپوست گزارش نمودند. به نظر می‌رسد تفاوت در بازده اسانس مرزه سهندی در مناطق مختلف کشور ناشی از شرایط متفاوت آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی متفاوت باشد (Samsam Shariat, 1992). در تحقیق حاضر بررسی سیر تغییرات درصد اسانس نشان داد که که مرزه سهندی در مرحله رویشی (اردیبهشت ماه) از اسانس بیشتری برخوردار بوده ولی پس از ورود به مرحله گلدهی، کاهش چشمگیری در عملکرد اسانس آن دیده شد. این روند کاهشی در میزان اسانس می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی و درونی باشد. به نظر می‌رسد وجود شرایط محیطی مطلوب از جمله بارندگی در اردیبهشت منجر به افزایش رشد رویشی و میزان اسانس شده باشد. گلدهی با تغییر در شرایط محیطی (خنک شدن هوا و کاهش طول روز) در اواخر تابستان و کاهش شدید سطح برگ و در نهایت کاهش تعداد کرک‌های غده‌ای در واحد سطح توأم بود. از طرفی، با شروع گلدهی و تبدیل مریستم‌های رویشی به زایشی، فعالیت برگ-زایی تقریباً متوقف می‌گردد که کاهش تعداد کرک‌های غده‌ای و متعاقب آن کاهش تولید اسانس را در پی خواهد داشت. تغییر مسیرهای بیوسنتزی در چرخه کربس و به کارگیری اجزای تشکیل-دهنده اسانس و پیش ماده‌های آن‌ها در تشکیل ساختارهایی نظیر بذر نیز می‌تواند یکی از دلایل کاهش مقدار اسانس در مرحله گلدهی کامل باشد (Madgd et al., 2008). نتایج این تحقیق در خصوص بهترین زمان برداشت برای استحصال حداکثر عملکرد اسانس با نتایج سفیدکن و همکاران (Sefidkon et al., 2007) در مرزه رشینگری

(*S. rechingeri* Jamzad) و سفیدکن و اکبری‌نیا (Sefidkon & Akbarinia, 2009) در مرزه سهندی مطابقت نداشت. این محققان اوایل گلدهی را بهترین مرحله رشد برای دستیابی به بالاترین میزان اسانس این دو گونه گزارش کردند. اما نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های سفیدکن و همکاران (Sefidkon et al., 2003) در پونه‌سا (*Nepeta heliotropifolia* Lam.) مطابقت داشت. این محققان دریافتند که در این گونه با گذر گیاه از مرحله برگ‌دهی به مرحله گلدهی کامل از میزان اسانس آن کاسته می‌شود. بنابراین، عکس العمل گیاهان مختلف از نظر مراحل رشدی از نظر میزان اسانس متفاوت می‌باشد. به عبارتی، میزان اسانس و کیفیت آن به طور معنی-داری به وسیله شرایط اکولوژیکی و زمان برداشت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Miguel et al., 2002).

بررسی ترکیب فیتوشیمیایی اسانس مرزه سهندی نشان داد که مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده اسانس در تمامی مراحل برداشت بورنئول بود. هر چند که مقدار آن تحت تأثیر زمان برداشت قرار گرفت. روند تغییرات درصد بورنئول نشان داد که درصد این ماده از فروردین ماه به تدریج شروع به افزایش نموده و در تیر ماه به حداکثر میزان خود می‌رسد. سپس با نزدیک شدن به شروع مرحله زایشی، میزان این ترکیب رو به کاهش می‌گذارد. امروزه بورنئول به عنوان یک ترکیب با خاصیت ضد میکروبی (Amiri, 2012)، ضدالتهابی (Liu et al., 2011) و ضد قارچی (Horvathova et al., 2009) شناخته شده است و در شامپوها، صابون‌های آرایشی و پاک‌کننده‌های خانگی نیز استفاده می‌شود (Bhatia et al., 2008). شناسایی بورنئول به عنوان عمده‌ترین ترکیب در اسانس مرزه سهندی در استان ایلام با گزارش-های محققان پیشین (Sefidkon et al., 2004; Tabatabaei-Raisi et al., 2007) مغایرت داشت. این محققان تیمول، پی سیمن و گاما ترپینن را به عنوان مهمترین ترکیبات اسانس در گونه مرزه سهندی معرفی نمودند. این تفاوت عمده در عملکرد و اجزای تشکیل-دهنده اسانس به احتمال زیاد ناشی از تفاوت‌های کموتایپی باشد که خود حاصل برهمکنش ژنوتیپ گیاهان و شرایط محیطی حاکم بر رویشگاه‌های مختلف می‌باشد. رشد و تولید گیاهان در بوم‌نظام‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد (Hadipanah et al., 2011). یکی از تفاوت‌های مهم در درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در مراحل مختلف فنولوژیکی، عدم وجود ماده بسیار مهم کارواکرول تا مرحله پیش از گلدهی یعنی مرداد ماه بود. از نکات مهم دیگر، عدم وجود اختلاف معنی‌دار در محتوی کامفن در زمان‌های مختلف برداشت از رویشگاه و اختلاف معنی‌دار آن در نمونه وحشی و گلخانه‌ای بود. همچنین، با وجود هم زمان بودن برداشت نمونه‌های وحشی و گلخانه‌ای در شهریور ماه، درصد ترکیب‌های به دست آمده از این دو نمونه تفاوت‌های قابل توجهی داشتند. در نمونه وحشی، محتوی برخی از ترکیب‌ها نظیر کارواکرول، کامفن و بورنئول نسبت به نمونه گلخانه‌ای پایین‌تر بود. در حالی‌که درصد بعضی از ترکیب‌های دیگر نظیر آلفا ترپینئول، 4- ترپینئول و کامفور بالاتر بود. این تغییرات می‌تواند ناشی از میزان بیان و یا عدم بیان مجموعه‌های ژنی مرتبط با سنتز اسانس باشد که در برهمکنش با عوامل محیطی در هر مرحله رشد متغیر می‌باشد (Madgd et al., 2008).

با مطالعه درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل مشخص شد که این خصوصیات تحت تأثیر مراحل مختلف فنولوژیکی گیاه قرار می‌گیرند. به طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل در مرحله گلدهی کامل به دست آمد. محتوی فنل کل در تیر ماه افزایش معنی‌داری نسبت به سه ماه پیش از آن نشان داد. علت افزایش محتوی فنل کل در تیر ماه نسبت به مراحل رویشی قبل از آن را می‌توان با دوره حداکثر رشد مرتبط دانست. بعد از دوره حداکثر رشد در تیر ماه، رشد رویشی کاهش یافته و گیاه خود را برای تشکیل جوانه زایشی در مرداد ماه مهیا می‌نماید. کاهش رشد در مرداد به منظور تشکیل جوانه زایشی منجر به کاهش میزان محتوی فنل کل می‌شود. در مرحله گلدهی کامل (شهریور)، گیاه ترکیب‌های فنولیکی را برای آماده‌سازی خود جهت فرآیند لیگنینی شدن و تشکیل بذر، تجمع داده که منجر به افزایش میزان فنل کل در این زمان نسبت به مراحل رشدی قبل از آن می‌شود (Sellami et al., 2009). به عبارتی دیگر، علت تغییر در محتوی فنل کل و افزایش آن در مرحله گلدهی کامل در نمونه وحشی ناشی از تغییرات میزان ترکیب‌های عمده نظیر 4- ترپینئول، کامفور و کارواکرول می‌باشد. زیرا همان‌طور که جدول 9 نشان می‌دهد همبستگی مثبتی بین درصد این ترکیب‌ها و محتوی فنل کل وجود دارد. همچنین نتایج جدول 4 نشان داد که مقدار این سه ترکیب در مرحله گلدهی کامل (شهریور) نسبت به مراحل قبل از آن بیشتر می-باشد.

جدول ۹- همبستگی پیرسون ترکیب‌ها، فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی فنل کل اسانس.

Table 9- Pearson's correlation of compounds, antioxidant activity and total phenol content of essential oils.

	کامفن Camphene	لینالول Linalool	کامفور Camphor	بورنئول Borneol	٤-ترپینئول 4-Terpineol	آلفاترپینئول α-terpineol	بورنیل استات Bornyl acetate	کارواکرول Carvacrol	عملکرد اسانس Oil yield	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity	محتوی فنل کل Total phenol Content
کامفن Camphene	1										
لینالول Linalool	0.258	1									
کامفور Camphor	-0.390	-0.914**	1								
بورنئول Borneol	0.233	-0.332	0.146	1							
۴-ترپینئول 4-Terpineol	-0.436	-0.437	0.473*	-0.360	1						
آلفاترپینئول α-terpineol	0.204	0.942**	-0.884**	-0.265	-0.317	1					
بورنیل استات Bornyl acetate	-0.192	0.091	0.086	-0.473*	-0.283	-0.016	1				
کارواکرول Carvacrol	-0.389	-.396	0.442	-0.444	0.719**	-0.479*	-0.179	1			
عملکرد اسانس Oil yield	0.325	0.761**	-0.796**	0.213	-0.606**	0.817**	-0.221	-0.654**	1		
فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity	-0.408	-0.089	0.232	-0.531*	0.621**	-0.083	-0.186	0.658**	-0.296	1	
محتوی فنل کل Total phenol Content	-0.304	-0.492*	0.613**	-0.159	0.474*	-0.585*	-0.157	0.758**	-0.563*	0.614**	1

* و **: به ترتیب همبستگی در سطح پنج و یک درصد

* and **: Significant at 5 and 1 percent of probability level, respectively.

از طرفی ترکیب‌هایی نظیر لینالول و آلفا ترپینئول با محتوی فنل کل همبستگی منفی نشان داده و پایین بودن میزان این ترکیب‌ها در مرحله گلدهی کامل نسبت به سایر زمان‌های برداشت نیز باعث افزایش خاصیت فنلی اسانس مرزه سهندی شده است.

از آن‌جا که ترکیبات فنلی مسئول اصلی فعالیت‌های آنتی-اکسیدانی در گیاهان معطر می‌باشند (Salehi et al., Alizadeh et al., 2010; 2007)، همبستگی مثبت دو ترکیب 4- ترپینئول و کارواکرول و همبستگی منفی محتوای بورنئول با درصد فعالیت آنتی-اکسیدانی؛ افزایش درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شهریور ماه را توجیه می‌نماید. همچنین، با توجه به همبستگی مثبت درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل می‌توان گفت افزایش محتوی ترکیبات فنلی در شهریور ماه منجر به افزایش درصد فعالیت آنتی-اکسیدانی شده است.

تغییر در درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل در طول مراحل رشد گیاه و افزایش میزان آن در مرحله گلدهی کامل در مرزه سهندی با نتایج سیواسی و سوکمن (Syvacy & Sokmen, 2004) در دو گونه توت (*M. alba* L.; *M. nigra* L.)؛ آیان و همکاران (Ayan et al., 2007) در گونه‌ای از گل راعی (*H. pruinatu*) و سناتور (Senatore, 1996) در اسانس گونه‌ای از آویشن (*T. pulegioides* L.) مطابقت و با نتایج آیان و همکاران (Ayan et al., 2007) در گونه‌های گل راعی (*H. nummularioides* Trautv.; *H. hyssopifolium* L.; *H. pruinatum* Boiss. and *H. scabrum* L.) مغایرت داشت. امروزه مشخص شده است که محتوی فنل و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان هر منطقه به پارامترهای زیادی از جمله آب و هوا، خاک، ارتفاع و گونه‌های مختلف گیاهی بستگی دارد (David & Zbigniew, 2010).

نتیجه‌گیری

بنابراین، تحقیق حاضر ثابت نمود که اسانس گیاهان در مراحل مختلف رشد، تفاوت‌های کمی و کیفی زیادی داشته و این نیاز ما به یک کمیت یا کیفیت خاص از اسانس است که تعیین‌کننده زمان برداشت گیاه می‌باشد.

منابع

1- Ahmadi, L., and Mirza, M. 1999. A study of chemical composition of essential oil from *Salvia officinalis* L. during different growth stages. Journal of Sciences and Technology Agriculture and Natural Research 3(2): 93-99.
2- Ahmadi, S., Sefidkon, F., Babakhanlo, P., Asgari, F., Khademi, K., and Karimifar, M.A. 2009. Comparing essential oil composition of *Satureja bachtiarica* Bunge. before and full flowering stages in field and provenance. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(2): 159-169. (In Persian with English Summary)
3- Akbarinia, A., and Sefidkon, F. 2009. Identification of essential oil components of *Satureja sahendica* Bornm., In cultivated condition in Qazvin. Journal of Qazvin University of Medical Sciences 13(2): 60-63. (In Persian with English Summary)
4- Akbarinia, A., Sefidkon, F., and Razaz Hashemi, S.R. 2009. Essential oil components of cultivated and wild accessions of *Satureja sahendica* Bornm. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(3): 376-385. (In Persian with English Summary)
5- Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli, E., and Khalighi, A. 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. Medicinal Plants Research 4(1): 033-040. (In Persian with English Summary)
6- Amiri, H. 2012. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Salvia multicaulis* Vahl., Journal of Medicinal Plants 11(8): 111-117. (In Persian with English Summary)
7- Ayan, A.K., Yanar, P., Cirak, C., and Bilgener, M. 2007. Morphogenetic and diurnal variation of total phenols in some Hypericum species from Turkey during their phenological cycles. Bangladesh Journal of Botanically 36: 39-46.
8- Bhatia, S.P., Letizia, C.S., and Api, A.M. 2008. Fragrance material review on borneol. Food and Chemical Toxicology 46: 77- 80.
9- British Pharmacopoeia. 1988. British pharmacopoeia, 20, London, HMSO, 137-138.
10- David, R., and Zbigniew, A. 2010. Aqueous extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) inflorescences

suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 2647 murine macrophages. Medicinal Plants Research 4(3): 225-234.

11- Ebrahimi, S.N., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., and Yousefzadi, M. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food Chemistry 110: 927-931.

12- El-Gazzar, A., and Watson, A. 1970. Taxonomic study of Labiatae and related genera. New Phytologist 69: 451-486.

13- Hadipanah, A., Golparvar, A.R., Ghasemi Pirbalouti, A., and Zaynali, H. 2011. Determine optimum of harvest time on the quantity/quality of essential oil and thymol of thyme (*Thymus vulgaris* L.) in Isfahan. Journal of Herbal Drugs 2(1): 23-32. (In Persian with English Summary)

14- Horvathova, E., Slamenova, D., Marsalkova, L., Sramkova, M., and Wsolova, L. 2009. Effects of borneol on the level of DNA damage induced in primary rat hepatocytes and testicular cells by hydrogen peroxide. Food and Chemical Toxicology 47: 1318-1323.

15- Hosni, K., Msaada, K., Taarit, M.B., and Marzouk, B. 2011. Phenological variation of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifoli*um Turra., Biochemical Systematics and Ecology 39: 43-50.

16- Jordan, M.J., Martinez, R.M., Goodner, K.L., Baldwin, E.A., and Sotomayor, A. 2006. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils compositions. Industrial Crops and Products 24: 253-263.

17- Kulkarni, A.P., and Aradhya, S.M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. Food Chemistry 93: 319-324.

18- Liu, R., Zhang, L., Lan, X., Li, L., Zhang, T.T., Sun, J.H., and Du, G.H. 2011. Protection by borneol on cortical neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion: involvement of anti-oxidation and anti-inflammation through nuclear transcription factor kappab signaling pathway. Neuroscience 176: 408-419.

19- Madgd, A., Nedzaad-Sataari, T., Khavari Nedzaad, R., and Doosti, B. 2008. Evaluation of qualitative and quantitative changes in essential oil components of the medicinal plant (*Satureja khuzistanica* J.) during plant genesis and its oil in vitro antimicrobial properties. Journal of Sciences Islamic Azad University 18(70/1): 51-60. (In Persian with English Summary)

20- Miguel, M.G., Duarte, F., Venancio, F., and Tavares, R. 2002. Changes of the chemical composition of the essential oil of Portuguese *Thymus mastichina* in the course of two vegetation cycles. Acta Horticulturae 576: 83-86.

21- Murakami, S., Li, W., Matsuura, M., Satou, T., Hayashi, S., and Koike, K. 2009. Composition and seasonal variation of essential oil in Alpinia zerumbet from Okinawa Island. Natural Medicinal 63: 204-208.

22- Omidbaigi, R. 2005. Production and Processing of Medicinal Plants. Astane Ghodse Razavi, Mashhad, Iran 347 pp. (In Persian)

23- Rezvani Moghaddam, P., Aminghafori, A. Bakhshaie, S., and Jafari L. 2013. The effect of organic and biofertilizers on some quantitative characteristics and essential oil content of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology 5(2): 105-112. (In Persian with English Summary)

24- Salehi, P., Sonboli, A., Ebrahimi, S.N., and Yousefzadi, M. 2007. Antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia sahendica* in different phenological stages. Chemistry of Natural compounds 43: 328-330.

25- Samsam Shariat, H. 1992. Extraction of plant materials and quantitative evaluation. Mani, Isfahan, Iran 293 pp. (In Persian)

26- Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z., and Ahmadi, S. 2007. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad., Food Chemistry 100: 1054-1058.

27- Sefidkon, F., and Akbarinia, A. 2009. Essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. In different stages of plant growth. Journal of Essential Oil Research 21(2): 112-114.

28- Sefidkon, F., Jamzad, Z., and Barazandeh, M.M. 2005. Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge. a potential source of carvacrol. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 20(4): 425-439. (In Persian with English Summary)

29- Sefidkon, F., Jamzad, Z., and Mirza, M. 2004. Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahendica* from Iran. Food Chemistry 88: 325-328.

30- Sefidkon, F., Kalvandi, R., and Mirza, M. 2003. Chemical variation of the essential oil of *Nepeta heliotropifolia* in different stages of plant growth. Medicinal and Aromatic Plants Research 19(3): 225-267. (In Persian with English Summary)

31- Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W.A., Kchouk, M.E., and Marzouk, B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet majoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crops and Products 30: 395-402.

32- Senatore, F. 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). Food Chemistry 44: 1327-1332.

33- Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant activity by meas of folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymology 299: 152-178.

34- Syvacy, A., and Sokmen, M. 2004. Seasonal changes in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin constituent of the stems of two Morus species (*Morus alba* L. and *Morus nigra* L.). Plant Growth Regulation 44: 251-256.

35- Tabatabaei-Raisi, A., Khaligi, A., Kashi, A., Asnaashari, S., Bamdad mogadam, S., and Delazar, A. 2007. Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil of aerial parts of *Satureja sahendica* Bornm., Pharmaceutical Sciences 3: 1-6.

Journal of Agroecology
Vol. 8, No. 1, Spring 2016, p. 16-1

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد 8، شماره 1، بهار 1395، ص. 16-1

Evaluation of Phytochemical Composition of Sahandian Savory (S*atureja sahendica* Bornm.) Essential Oils at Different Phenological Stages

H. Ghamari[1], M. Saidi[2*], A. Ghaasemnejaad[3] and A.R. Ghanbari[4]

Submitted: 14-03-2015
Accepted: 25-05-2015

Ghamari, H., Saidi, M., Ghaasemnejaad, A., and Ghanbari, A.R. 2016. Evaluation of phytochemical composition of sahandian savory (S*atureja sahendica* Bornm.) essential oils at different phenological stages, Journal of Agroecology 8(1): 1-16.

Introduction

Sahandian Savory (*Satureja sahandica* Bornm.) is an indigenous perennial aromatic plant growing in the West and North West of Iran. Its growing season starts from March till end of September. Oil and its quality are abundantly variable among different Savory species (Ahmadi et al., 2009). Although, Thymol, p-Cymene and γ-Terpinen have been determined as the main components of Sahandian Savory oil by Sefidkon et al. (2004), little data on its Phytochemistry and phenology genealogy? is available. The present study investigated the phytochemical properties of essential oils of (*S. sahendica* Bornm.) at different harvest times from Pakal habitat and a specimen grown in greenhouse.

Materials and methods

The aerial parts of plants were collected on one month intervals from 20th April till 20th September. A specimen cloned from the wild plants and grown in research greenhouse, college of Agriculture, Ilam, was harvested at full blooming stage in September. Essential oils were extracted using Clevenger apparatus by hydro-distillation. Isolation and identification of oil components were carried out by gas chromatography (GC) and coupled gas chromatography with mass spectrometer (GC/MS) at Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti Medical University, Tehran, Iran. Antioxidant activity and total phenol content were measured following Singleton et al. (1999) methods, respectively.

Results and discussion

The ANOVA showed that harvest time significantly affected oil yield of samples at one percent of probability. Mean comparison analysis revealed that the maximum and minimum oil yield were belonged to May (0.42%) and September (0.19%) harvests, respectively. The essential oil percentage of plants grown in greenhouse were extremely low and negligible samples collected from their natural habitat. Analysis of variances for antioxidant activity and total phenol content showed that the traits were also significantly affected by harvest time. The highest and lowest antioxidant activity recorded for harvests in September (61.06%) and August (49.53%), respectively. On the other hand, maximum and minimum total phenol content recorded from samples harvested in September (432.71 mg Gallic acid/ ml essential oil) and June (191.28 mg Gallic acid/ml essential oil), respectively. Phytochemical analysis by coupling gas chromatography with mass spectrometer (GC/MS) identified 75 different components. ANOVA of oil compositions exhibited a highly significant difference between different harvest times. Borneol was the main component of oil at all harvests. In early stages (April and May), Borneol (29.34 and 34.58 percent), Bornyl acetate (12.96 and 9.42 percent), Linalool (7.64 and 9.35 percent) and α-Terpineol (7.09 and 8.26 percent) were the main components. By the end of spring (Mid June) Borneol and Camphor content was increased slowly so that Borneol reached to its peak (44.71 percent) in end of June, but the other main components were declined by the last harvest. On full flowering stage (mid-August and early-September) an increase was recorded for Bornyl acetate, the highest content of Camphor observed; Carvacrol was identified as the main oil component (4.92 percent) and Borneol content decreased.

1 and 2- Former MSc Student in Horticultural Sciences and Assistant professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
3- Assistant Professor, Department of Horticulture, Gorgaan Agriculture and Natural Resources University, Gorgaan, Iran
4- Assistant professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran
(*- Corresponding author Email: msaidi@ilam.ac.ir)

Phytochemical composition of oils extracted from greenhouse sample at flowering stage was significantly different from those obtained from wild plants at the same growing stage. Plants grown in the greenhouse were rich in Borneol, Bornyl acetate, Carvacrol, Camphor and Camphene (39.02, 9.54, 7.88, 7.56 and 5.93 percent, respectively), while oils extracted from wild plants, mostly formed by Borneol, Camphor, 4-Terpineol, Bornyl acetate and Carvacrol (29.30, 15.26, 11.82, 9.25 and 4.92 percent, respectively). The results showed that growing Sahandian savory in the greenhouse which is free from climatic stresses may be led to beneficial changes in its essential oil composition.

Conclusion

The study revealed that the highest essential oil can be achieved in May, the best quality essential oil regarding antioxidant activity and total phenol content should be obtained at the full blooming stage and to get the highest amount of Borneol, harvest must be done in July under Ilam province conditions.

Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support of the project by Dean, College of Agriculture; and Vice President for Research and Technology, Ilam University, Ilam, Iran.

Keywords: Antioxidant activity, Borneol, Medicinal plants, Total phenol content

References

Sefidkon, F., Jamzad, Z., and Mirza, M. 2004. Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahendica* from Iran. Food Chemistry 88: 325-328.

Ahmadi, S., Sefidkon, F., Babakhanlo, P., Asgari, F., Khademi, K., and Karimifar, M.A. 2009. Comparing essential oil composition of *Satureja bachtiarica* Bunge. before and full flowering stages in field and provenance. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(2): 159-169. (In Persian with English Summary)

Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant activity by meas of folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymology 299: 152-178.