

(OPEN ACCESS)

**Assessment of Antioxidant Activity and Its Relationship
with Total Phenolic and Flavonoid Contents in Ecotypes of
Teucrium polium L. in Southern Iran for Identification
of Superior Germplasm for Medicinal Use**

**Reyhaneh Arefnia¹, Alireza Yavari^{*2}, Mojgan Soleimanizadeh³,
Alireza Nafarzadegan⁴**

1. Ph.D. Student of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: r.areff67@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: yavari@hormozgan.ac.ir
3. Assistant Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: m.soleimani380@gmail.com
4. Associate Prof., Dept. of Natural Resources Engineering, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran. E-mail: a.r.nafarzadegan@hormozgan.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: <i>Teucrium polium</i> L., a perennial medicinal plant from the Lamiaceae family, is renowned in traditional medicine for its hypoglycemic properties. Its flowering tops contain phenolic and flavonoid compounds, which are associated with tonic, analgesic, and antioxidant effects. Given the influence of environmental factors on phytochemical composition, this study aimed to evaluate the antioxidant activity, total phenolic content (TPC), and total flavonoid content (TFC) of 18 ecotypes from southern Iran. The objective was to identify superior ecotypes with an optimal phytochemical profile for pharmaceutical applications and to establish a basis for their conservation and commercial cultivation.
Article history: Received: 09.04.2025 Revised: 09.21.2025 Accepted: 10.06.2025	
Keywords: DPPH assay, Flavonoid compounds, Habitat variation, Phenolic compounds, Secondary metabolites	
	Materials and Methods: Eighteen <i>T. polium</i> ecotypes were collected at full flowering stage from various habitats in southern Iran, encompassing the provinces of Hormozgan, Kerman, Bushehr, and Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad. The flowering branches were dried in shade at room temperature, powdered, and subjected to methanolic extraction using maceration. TPC was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, with absorbance measured at 750 nm and quantified against a gallic acid standard curve. TFC was assessed via the aluminum chloride colorimetric method, measuring absorbance at 415 nm against a quercetin standard. Antioxidant capacity was evaluated using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay, measuring absorbance at 517 nm. All measurements were performed in triplicate, and data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).
	Results: Habitat significantly influenced the phytochemical properties of <i>T. polium</i> ($p < 0.01$). Among the 18 ecotypes, the Siyahoo ecotype (Hormozgan) exhibited the highest TPC (86.66 mg GAE/g DW), while the

Kondar ecotype (Kerman) showed the highest TFC (56.45 mg QE/g DW). The Narrab ecotype (Kerman) demonstrated the highest IC₅₀ value (85.02 µg/ml), indicating its weaker antioxidant activity. Correlation analysis revealed a significant positive relationship ($R^2 = 0.82$) between TPC and antioxidant power (inverse of IC₅₀), confirming the contribution of phenolics to the plant's antioxidant activity. Ecotypes from Kerman and Hormozgan provinces consistently outperformed those from Bushehr and Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad. Siyahoo exhibited a 25% higher phenolic content than the average of other ecotypes, whereas Kondor was superior in flavonoids. Significant statistical differences ($p < 0.05$) among ecotypes highlighted the impact of environmental factors, such as altitude and rainfall, on phytochemical diversity.

Conclusion: The findings demonstrate that the ecological conditions of high-altitude regions, characterized by greater solar radiation, temperature fluctuations, and lower precipitation, significantly enhance the phenolic and flavonoid compounds and antioxidant capacity of *T. polium*. This underscores the necessity of concurrently considering environmental factors like altitude, temperature, and rainfall when selecting elite germplasms for pharmaceutical and industrial purposes. The introduction of high-yielding ecotypes (e.g., Kondar, Siyahoo, and Esfandagheh) can pave the way for sustainable cultivation, conservation of natural resources, and improved quality of plant-based pharmaceutical products.

Cite this article: Arefnia, Reyhaneh, Yavari, Alireza, Soleimanizadeh, Mojgan, Nafarzadegan, Alireza. 2026. Assessment of Antioxidant Activity and Its Relationship with Total Phenolic and Flavonoid Contents in Ecotypes of *Teucrium polium* L. in Southern Iran for Identification of Superior Germplasm for Medicinal Use. *Journal of Plant Production Research*, 33 (2), 217-236.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/jopp.2025.24006.3279

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارتباط آن با فنول و فلاونوئید کل در اکوتیپ‌های مریم نخودی (*Teucrium polium* L.) در جنوب ایران جهت شناسایی ژرمپلاسم برتر برای استفاده دارویی

ریحانه عارف‌نیا^۱، علیرضا یآوری^{۲*}، مژگان سلیمانی‌زاده^۳، علیرضا نفرزادگان^۴

۱. دانشجوی دکتری علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
رایانامه: r.areff67@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
رایانامه: yavari@hormozgan.ac.ir
۳. استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
رایانامه: m.soleimani380@gmail.com
۴. دانشیار گروه مهندسی منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
رایانامه: a.r.nafarzadegan@hormozgan.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: گیاه دارویی مریم نخودی (<i>Teucrium polium</i> L.) گیاهی چندساله از خانواده نعناع (Lamiaceae) به‌خواص کاهندگی قند خون شناخته شده است. شاخه‌های گلدار آن حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند که اثرات مقوی، ضد درد و آنتی‌اکسیدانی دارند. با توجه به تأثیر عوامل محیطی بر ترکیبات فیتوشیمیایی، این پژوهش به ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنولی و فلاونوئیدی ۱۸ اکوتیپ از جنوب ایران پرداخت. هدف، شناسایی اکوتیپ‌های برتر با پروفایل بهینه برای کاربردهای دارویی و ارائه پایه‌ای برای حفاظت و تکثیر تجاری آن‌ها بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۴	
واژه‌های کلیدی: آزمون DPPH، ترکیبات فلاونوئیدی، ترکیبات فنولی، تنوع رویشگاهی، متابولیت‌های ثانویه	مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۱۸ اکوتیپ مریم نخودی در مرحله گل‌دهی کامل از زیستگاه‌های مختلف در جنوب ایران، شامل استان‌های هرمزگان (سیاهو، زیارتعلی، گنو و هماگ)، کرمان (ساردوئیه، مهرئیه، دهبکری، انجرک، ردور، نراب، رمون، راین، کندر، اسفندقه، چاه‌شاهی و جنت‌آباد)، بوشهر (کنگان) و کهگیلویه و بویراحمد (دنا) جمع‌آوری شدند. شاخه‌های گل‌دار در سایه و دمای اتاق خشک شده، پودر شدند و عصاره متانولی آن‌ها به روش خیساندن برای ارزیابی خواص فیتوشیمیایی تهیه شد. محتوای فنولی کل با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو و اندازه‌گیری جذب نوری در ۷۵۰ نانومتر، با کالیراسیون بر اساس منحنی

استاندارد اسید گالیک، تعیین شد. محتوای فلاونوئیدی کل با روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و اندازه‌گیری جذب نوری در ۴۱۵ نانومتر، با کالبراسیون بر اساس منحنی استاندارد کوئرستین، اندازه‌گیری شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون خشتی‌سازی رادیکال آزاد ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) و اندازه‌گیری جذب نوری در ۵۱۷ نانومتر ارزیابی شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام شد و داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p < 0.05$) تحلیل شدند.

یافته‌ها: زیستگاه به‌طور معنی‌داری بر ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه مریم نخودی تأثیرگذار بود ($p < 0.01$). در میان ۱۸ اکوتیپ مورد بررسی، اکوتیپ سیاهو (هرمزگان) بیش‌ترین محتوای فنولی (۸۶/۶۶ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و اکوتیپ کندر (کرمان) بیش‌ترین محتوای فلاونوئیدی (۵۶/۴۵ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک) را داشتند. هم‌چنین، اکوتیپ نراب (کرمان) بالاترین مقدار IC_{50} را (۸۵/۰۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نشان داد که این امر بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تر این اکوتیپ نسبت به سایر اکوتیپ‌ها است. تحلیل همبستگی نشان داد بین مقدار فنول کل و معکوس مقدار IC_{50} رابطه مثبت و معنی‌دار ($R^2 = 0.82$) وجود دارد؛ به بیان دیگر، افزایش فنول کل با کاهش مقدار IC_{50} (و در نتیجه افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی) ارتباط معنی‌داری داشت که نقش فنول کل در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تأیید می‌کند. اکوتیپ‌های دو استان کرمان و هرمزگان به‌طور مداوم نسبت به اکوتیپ‌های استان‌های بوشهر و کهگیلویه و بویراحمد عملکرد بهتری داشتند. اکوتیپ سیاهو در محتوای فنولی ۲۵ درصد بالاتر از میانگین سایر اکوتیپ‌ها بود؛ در حالی‌که کندر در فلاونوئیدها برتری داشت. تفاوت‌های آماری معنی‌دار ($p < 0.05$) بین اکوتیپ‌ها، نشان‌دهنده تأثیر عوامل محیطی مانند ارتفاع و بارندگی بر تنوع فیتوشیمیایی بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که شرایط اکولوژیک مناطق مرتفع (از جمله تابش بیش‌تر، نوسان دمایی و بارندگی کم‌تر) به‌طور قابل‌توجهی موجب افزایش ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه مریم نخودی می‌شود. این یافته‌ها لزوم توجه هم‌زمان به عوامل محیطی مانند ارتفاع، دما و بارش را در انتخاب ژرم‌پلاس‌های برتر برای اهداف دارویی و صنعتی نشان می‌دهد. معرفی اکوتیپ‌های پرمحتوا (نظیر کندر، سیاهو و اسفندقه) می‌تواند زمینه‌ساز توسعه کشت پایدار، حفظ منابع طبیعی و بهبود کیفیت فرآورده‌های دارویی مبتنی بر این گیاه باشد.

استناد: عارف‌نیا، ریحانه، یآوری، علیرضا، سلیمانی‌زاده، مژگان، نفرزادگان، علیرضا (۱۴۰۵). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارتباط آن با فنول و فلاونوئید کل در اکوتیپ‌های مریم نخودی (*Teucrium polium* L.) در جنوب ایران جهت شناسایی ژرم‌پلاس‌های برتر برای استفاده دارویی. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۳ (۲)، ۲۳۶-۲۱۷.

DOI: 10.22069/jopp.2025.24006.3279



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تامین آنتی اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان دارویی، میوه‌جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند؛ زیرا معمولاً مصرف آنتی اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کم‌تر و درمان بهتری ایجاد می‌کنند (۱). نظر به این‌که گیاهان دارویی یکی از منابع آنتی اکسیدانی می‌باشند، تحقیقات در این زمینه رو به افزایش است. مطابق گزارش سازمان جهانی بهداشت گیاهان دارویی می‌توانند بهترین منبع برای به دست آوردن انواع مختلف از داروها باشند (۲). در حال حاضر هزاران متابولیت ثانویه گیاهی به‌طور موفقیت‌آمیزی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود (۳). ظرفیت تولید آنتی اکسیدان‌ها در گیاهان بومی و وحشی روئیده در یک منطقه طبیعی به علت تماس آن‌ها با عوامل تنش‌زای متعدد نظیر قارچ‌ها و انواع میکروارگانیسم‌ها و حمله علف‌خواران و تنش‌های محیطی شامل خشکی، شوری، وجود فلزات سنگین و آلاینده‌ها بیش‌تر از گیاهانی است که در شرایط کنترل‌شده می‌رویند. از این رو تولید ترکیب‌های دفاعی همانند آنتی اکسیدان‌ها در این گیاهان بیش‌تر از گیاهان زراعی است (۴).

آنتی اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکتة مغزی می‌شوند. ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گیاهان از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند که توان آنتی اکسیدانی مشابهی با آنتی اکسیدان‌های سنتزی بدون اثرات جانبی دارند (۵). امروزه استفاده از آنتی اکسیدان‌های غیرطبیعی در پزشکی، کشاورزی و صنایع دارویی بسیار رواج یافته است. اما مطالعات زیادی حاکی از سمیت این آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. به همین دلیل یافتن آنتی اکسیدان‌های طبیعی به ویژه از منابع گیاهی بسیار مطلوب است تا علاوه بر داشتن

اثرات بیولوژیکی وسیع احتمال ایجاد اثرات جانبی و مسمومیت با آن‌ها به خصوص در دوزهای کنترل شده کاهش یابد (۶).

گیاه مریم نخودی با نام علمی *Teucrium polium* L. گیاه دارویی از خانواده نعناع (Lamiaceae) است. این گیاه از نظر ظاهری گیاهی است علفی، چندساله، پرشاخه، به ارتفاع ۱۰ تا ۳۵ سانتی‌متر و با ظاهری سفید پنبه‌ای که برگ‌های آن باریک، دراز و پوشیده از کرک‌های پنبه‌ای در هر دو سطح پهنک می‌باشد. گل‌هایی به رنگ‌های سفید، سفید مایل به زرد، زرد و ارغوانی دارد. بخش مورد استفاده آن، سرشاخه‌های گل‌دار می‌باشد که کاربرد غذایی و به ویژه دارویی دارند (۷). دارای ۲۲۲ گونه مختلف بوده و تنها ۱۲ گونه آن در ایران وجود دارد. این گونه دارویی به‌صورت خودرو در برخی مناطق ایران و از جمله در جنوب ایران مشاهده می‌شود. بهره‌برداری بی‌رویه انسان، چرای مفرط دام و هم‌چنین تبدیل شدن مراتع به بوم‌نظام‌های زراعی از جمله دلایلی است که مریم نخودی را در معرض انقراض قرار داده است. بنابراین تجهیزات لازم برای حفظ این گیاه در عرصه‌های طبیعی و راهکارهایی برای تکثیر کردن آن ضروری است (۸). این گیاه در طب سنتی در درمان بیماری‌های مزمن و نیز به عنوان ضد فشارخون، ضد باکتری، ضد نفخ، ضد دیابت و ضد تشنج استفاده می‌شود (۹). عصاره این گیاه در کاهش قند خون و در درمان سرطان پروستات اهمیت دارد (۱۰).

بررسی‌ها روی خواص دارویی این گیاه نشان داده است که عصاره آن خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی بالایی دارد. از این‌رو در صنعت داروسازی و تغذیه کاربرد وسیعی دارد (۱۱). در پژوهشی اسماعیلی و همکاران (۲۰۰۹) اثر محافظتی و آنتی اکسیدانی فلاونوئیدهای گیاه مریم نخودی را بررسی کردند. آزمایش‌ها نشان داد که فلاونوئیدهای موجود در عصاره مریم نخودی به طور چشم‌گیری ترشح انسولین را افزایش می‌دهند و هم‌چنین به طور

واضحی از سلول‌های پانکراس در برابر فعالیت تخریبی محافظت می‌کنند و این اثر به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (۱۲). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل چهار دسته پلی‌فنول‌های فلاونوئیدی، پلی‌فنول‌های غیرفلاونوئیدی، اسیدهای فنولی و ترکیبات آلی گوگرددار هستند (۱۳). آنتی‌اکسیدان‌ها بر اساس عملکرد به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های اولیه و ثانویه. آنتی‌اکسیدان‌های اولیه به عنوان دهنده الکترون یا هیدروژن به رادیکال‌ها عمل می‌کنند. در حالی که آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه به عنوان یک عامل کمک‌کننده هیدروژن را تامین کرده و آنتی‌اکسیدان‌های اولیه را بازیابی می‌کنند (۱۴).

فلاونوئیدها دسته‌ای از متابولیت‌های فنولی هستند که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و کلاته کردن معنی‌داری دارند. این ترکیبات به دلیل ساختار شیمیایی خاصی که دارند از فعالیت رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند (۱۵). فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولی هستند که در گیاهان دارویی به وفور وجود دارند. این ترکیبات دارای ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد دیابتی و ضدالتهابی هستند. تحقیقات مختلف نشان داده است که فلاونوئیدهای مختلف قادرند قند خون را کاهش دهند و ترشح انسولین و حساسیت به آن را افزایش دهند. مصرف خوراکی فلاونوئیدها یکی از موثرترین راه‌ها برای اثرگذاری بر روی پانکراس و سلول‌های بتای آن در درمان دیابت است. این ترکیبات با اثر آنتی‌اکسیدانی خود توانایی مهار تنش اکسیداتیو و دیابت ناشی از آن را دارند (۱۶). فلاونوئیدها قادرند رادیکال‌های آزاد را حذف کنند و در برابر پراکسیداسیون لیپیدها اثر محافظتی داشته باشند (۱۷). خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از گیاهان ممکن است به حضور ترکیبات فنولی شامل اسیدهای فنولی (هیدروکسی بنزوئیک اسید و هیدروکسی سینامیک اسید)، تانن‌ها و فلاونوئیدها نسبت داده شود (۱۸).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که عصاره مریم نخودی منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و ترکیبات فنولی می‌باشد (۱۹). ویودا-مارتوس و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش کردند که ترکیبات فنولی می‌توانند به عنوان شاخصی مهم از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مورد استفاده قرار گیرد و نمایش اولیه‌ای از محصول باشد آن هم زمانی که آن محصول جهت منابع آنتی‌اکسیدانی قرار است مورد استفاده قرار گیرد (۲۰). ترکیبات فنولی دارای یک یا تعداد بیش‌تری حلقه آروماتیک هستند که می‌توانند سیستم آروماتیک مزدوج را گسترش داده و یک الکترون جفت‌نشده را جابجا کنند و داشتن یک یا تعداد بیش‌تری گروه هیدروکسیل، این ترکیبات را مستعد اهدای اتم هیدروژن یا یک الکترون به رادیکال آزاد کرده است. بنابراین آن‌ها ساختار شیمیایی ایده‌آلی برای مهار رادیکال‌های آزاد دارند (۲۱).

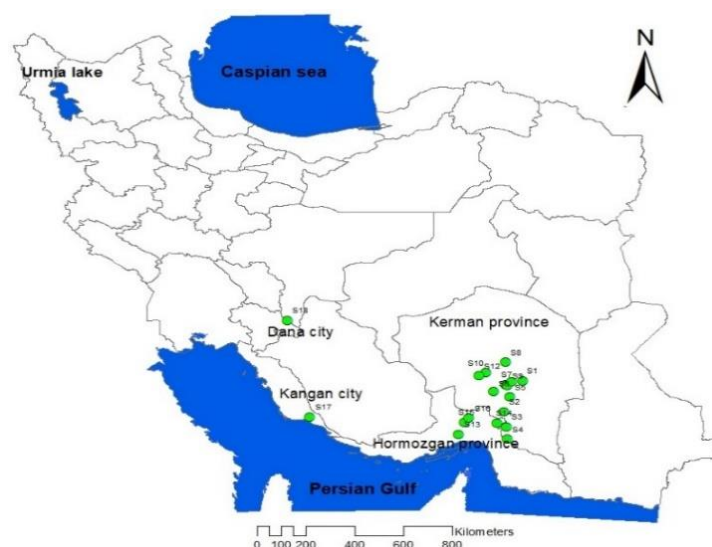
تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی از جمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، تحت‌تأثیر ترکیبی از عوامل ژنتیکی و شرایط اکولوژیکی قرار دارد. عواملی هم‌چون ارتفاع از سطح دریا، اقلیم (دما، نور، رطوبت) و ویژگی‌های خاک می‌توانند کمیت و کیفیت این مواد مؤثره را به طور چشمگیری تغییر دهند (۲۲، ۲۳). این تغییرپذیری محیطی منجر به تشکیل اکوتیپ‌های متنوع با پروفایل‌های فیتوشیمیایی متمایز می‌شود که نشان‌دهنده تأثیر مستقیم زیستگاه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان مواد مؤثره است. بنابراین، در نظر گرفتن موقعیت جغرافیایی و شرایط رویشگاه برای ارزیابی دقیق پتانسیل دارویی گیاهان امری ضروری است (۲۴). محققان در مطالعه‌ای با بررسی ترکیبات ثانویه در گیاه مریم نخودی به این نتیجه رسیدند که نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از مناطق گرم ترکیبات ثانویه بیش‌تری نسبت به مناطق سردتر داشتند (۲۵). در آزمایش زرگوش و همکاران (۲۰۱۹)، اثر افزایش ارتفاع

شناسایی و حفاظت از ژرم‌پلاس‌های برتر این گونه را برجسته می‌کند. این پژوهش با هدف ارزیابی محتوای فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی در سرشاخه‌های گل‌دار ۱۸ اکوتیپ مریم نخودی جمع‌آوری شده از زیستگاه‌های بکر جنوب ایران انجام شد تا ارتباط این ویژگی‌ها با عوامل رویشگاهی بررسی و اکوتیپ‌های برتر برای کاربردهای دارویی و برنامه‌های حفاظتی شناسایی شوند.

مواد و روش‌ها

معرفی مناطق مورد مطالعه: در این پژوهش گیاه مریم نخودی از ۱۸ رویشگاه طبیعی شامل استان هرمزگان (سیاهو، زیارتعلی، گنو، هماگ)، استان کرمان (ساردوئیه، مهرئیه، دهبکری، انجرك، ردور، نراب، رمون، راین، کندر، اسفندقه، چاه‌شاهی، جنت‌آباد)، استان بوشهر (کنگان) و استان کهگیلویه و بویراحمد (دنا) در مرحله تمام گل، جمع‌آوری گردید (جدول ۱). پس از جمع‌آوری سرشاخه‌های گلدار، نمونه‌ها در سایه و دمای اتاق خشک شدند. موقعیت رویشگاه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ آورده شده است.

بر میزان مواد آنتی اکسیدانی گیاه دارویی *Scrophularia striata* Boiss. معنی‌دار بود (۲۶). تحقیقات روی گیاه دارویی گلپر (*Heracleum* sp.) و هواچوبه (*Onosma dichroanthum* Boiss.) نیز حاکی از ارتباط مستقیم بین ارتفاع و اثر تنش‌های محیطی بر مقدار ترکیبات فعال و از همه مهم‌تر افزایش ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره این گیاهان بوده است (۲۷، ۲۸). گیاه مریم نخودی به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ثانویه غنی، به‌ویژه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با خواص آنتی اکسیدانی، در طب سنتی و صنایع دارویی و غذایی جایگاه ویژه‌ای دارد. با وجود مطالعات پراکنده درباره خواص فیتوشیمیایی این گیاه، اطلاعات محدودی درباره تنوع این ترکیبات در اکوتیپ‌های جنوب ایران، به‌عنوان منطقه‌ای با شرایط اکولوژیکی منحصربه‌فرد، وجود دارد. تنوع جغرافیایی و عوامل محیطی مانند ارتفاع و بارندگی می‌توانند به‌طور قابل توجهی بر تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه تأثیر بگذارند؛ اما این موضوع در مریم نخودی کم‌تر بررسی شده است. علاوه بر این، تهدیدات زیست‌محیطی مانند تخریب زیستگاه و برداشت بیش‌ازحد، ضرورت



شکل ۱- موقعیت ۱۸ رویشگاه مورد مطالعه در جنوب ایران.

Fig. 1. Location of 18 studied habitats in southern Iran.

جدول ۱- ارتفاع از سطح دریا و اطلاعات اقلیمی هر یک از رویشگاه‌های مورد مطالعه.

Table 1. Height above sea level and climatic information of each of the studied habitats.

ردیف No.	رویشگاه Habitat	استان Province	طول جغرافیایی شرقی Longitude (E)	عرض جغرافیایی شمالی Latitude (N)	ارتفاع از سطح دریا (متر) height above sea level (meters)	دمای حداقل (درجه سلسیوس) minimum temperature (°C)	دمای حداکثر (درجه سلسیوس) maximum temperature (°C)	میانگین دمای سالانه (درجه سلسیوس) average annual temperature (°C)	میانگین بارش سالانه (میلی متر) average annual precipitation (mm)
1	ده‌بکری Dehbakri	کرمان Kerman	"44 '54 57°	"48 '02 29°	900	-9.5	36.9	14.2	390
2	مهرویه Mehroueye	کرمان Kerman	"56 '24 57°	"13 '05 28°	716	9.2	47	20.3	250
3	کندر Kondar	کرمان Kerman	"28 '28 57°	"10 '37 27°	2220	3.8	47.9	28.4	150
4	چاهشاهی Chahshahi	کرمان Kerman	"45 '30 57°	"06 '14 27°	733	2.6	48.5	28.9	125
5	جنت‌آباد JanatAbad	کرمان Kerman	"56 '34 57°	"34 '32 28°	1124	-1.2	41.6	22.3	162
6	اسفندقه Esfandoghe	کرمان Kerman	"23 '07 57°	"51 '42 28°	1816	-7.4	37.9	16.5	272
7	رائن Ramon	کرمان Kerman	"15 '26 57°	"24 '55 28°	1503	-5.1	39.5	16.7	257
8	راین Rayen	کرمان Kerman	"22 '26 57°	"14 '36 29°	1134	-8.3	37.3	16.2	194
9	نراب Narrab	کرمان Kerman	"52 '30 57°	"19 '53 28°	1724	-6.5	38.3	15.5	310
10	رودار Roudar	کرمان Kerman	"47 '54 56°	"25 '17 29°	1123	-7.9	39.4	15.8	350
11	ساردویه Sardouiyeh	کرمان Kerman	"51 '37 57°	"14 '01 29°	1672	-10.2	38.5	15.1	312
12	انجرک Anjerak	کرمان Kerman	"38' 43 56 °	"03 '11 29°	1987	-6.5	39.5	15.2	347
13	گنو Geno	هرمزگان Hormozgan	"11 '10 56°	"52 '23 27°	1557	2.5	41.6	19.6	236
14	زیارت‌علی ZiaratAli	هرمزگان Hormozgan	"41 '13 57°	"34 '44 27°	1100	8.9	44.5	19.3	195
15	سیاهو Siyahoo	هرمزگان Hormozgan	"01 '20 56°	"32 '54 27°	2120	9.7	47.5	25.4	120
16	هماگ Homag	هرمزگان Hormozgan	"08 '27 57°	"54 '53 27°	1225	7.2	44.5	25.1	214
17	کنگان Kangan	بوشهر Bushehr	"00 '07 52°	"34 '55 27°	1265	10.2	42.6	24.4	198
18	دنا Dena	کهگیلویه و بویراحمد Kohkiluyeh and Boyer Ahmad	"17 '30 51°	"33 '54 30°	1610	-11.5	36.8	13.2	700

باشد، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر است. درصد مهار رادیکال‌ها (IP) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$IP = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) * 100$$

که، IP درصد مهار رادیکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی اکسیدان در برابر رادیکال آزاد)، $A_{control}$ جذب کنترل (شاهد) که حاوی یک میلی‌لیتر از متانول در یک میلی‌لیتر از محلول DPPH می‌باشد، A_{sample} جذب نمونه که حاوی حجم‌های مختلفی از عصاره گیاهی (در حجم‌های ثابت نهایی)، آنتی اکسیدان، متانول و محلول حاوی DPPH است.

برای تعیین و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها، از پارامتر IC_{50} استفاده گردید. IC_{50} به غلظتی از عصاره (بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) گفته می‌شود که موجب مهار ۵۰ درصدی رادیکال DPPH گردد. مقدار IC_{50} برای هر عصاره از منحنی درصد بازداری در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره، با استفاده از تحلیل رگرسیونی تعیین شد. شایان توجه است که مقدار پایین‌تر IC_{50} نشان‌دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر، و مقدار IC_{50} بالاتر معادل فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیف‌تر نمونه می‌باشد.

اندازه‌گیری فنول کل: برای اندازه‌گیری فنول کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کرنات سدیم ۲ درصد، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو (Folin-ciocalteu) ۵۰ درصد اضافه شد. سپس به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد و جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر نسبت به شاهد با استفاده از دستگاه micro plate reader مدل Epoch 2 ساخت کشور آمریکا ثبت گردید. برای تهیه نمونه بلانک، کلیه ترکیبات شرکت کننده به میزان‌های فوق الذکر بدون حضور عصاره گیاهی جهت صفر کردن دستگاه استفاده شد. به منظور تهیه منحنی استاندارد از

آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت تهیه عصاره متانولی: خشک کردن و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده تحت شرایط استاندارد برای انجام آزمایش صورت گرفت. به منظور تهیه عصاره از روش عصاره‌گیری خیساندن استفاده شد. در طی این مرحله از حلال متانول ۸۰ درصد به میزان ۵ میلی‌لیتر به ۰/۵ گرم پودر خشک گیاه اضافه گردید و در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۵ درجه قرار گرفت. بعد از طی مدت زمان ۴۸ ساعت مخلوط فوق با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و عصاره برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی، فنول و فلاونوئید جدا گردید.

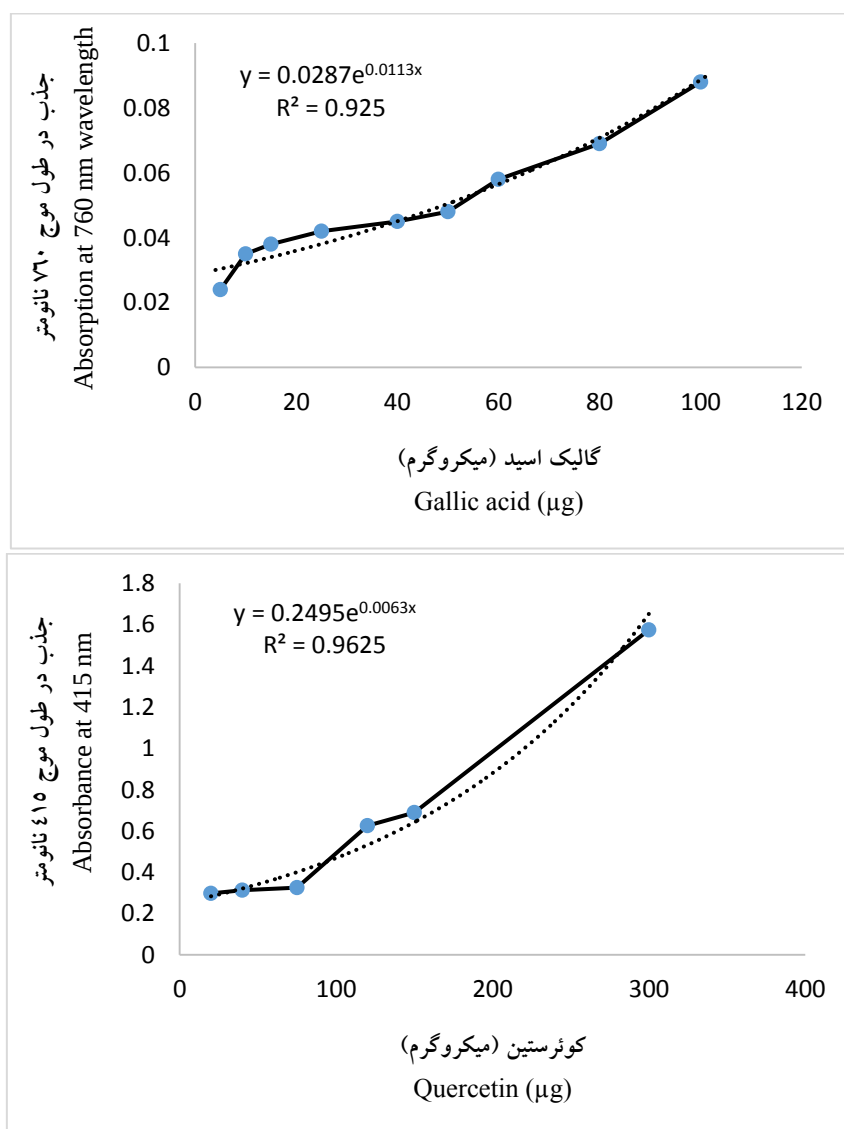
اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH: برای انجام آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH، محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار تهیه شد. بدین منظور ۰/۰۰۷۹ گرم از ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (وزن مولکولی: ۳۹۴/۳۲ گرم بر مول) در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول حل گردید. برای هر آزمون، محلولی از عصاره با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شده و به نسبت‌های به محلول DPPH اضافه شد به‌طوری‌که حجم نهایی واکنش ۲ میلی‌لیتر شامل ۱ میلی‌لیتر عصاره و ۱ میلی‌لیتر DPPH بود. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نوری مخلوط‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه Micro Plate Reader (Epoch 2, BioTeck, USA) اندازه‌گیری شد. به عنوان کنترل مثبت، از BHT و آسکوربیک اسید استفاده گردید (۲۹). طبق پروتکل استاندارد آزمون DPPH، شاهد ($A_{control}$) شامل ترکیب ۱ میلی‌لیتر متانول و ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار است و هیچ عصاره یا آنتی اکسیدانی به آن اضافه نمی‌شود. شاخص فعالیت آنتی اکسیدانی هر نمونه بر اساس مقدار IC_{50} تعریف شد؛ یعنی غلظتی از عصاره (بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) که قادر است ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار کند. هرچه مقدار IC_{50} پایین‌تر

موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک با استفاده از دستگاه Epoch 2 micro plate reader ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد.

بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما به جای عصاره، همان حجم متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد (شکل ۲). با به‌دست آوردن معادله منحنی استاندارد، غلظت فلاونوئید موجود در نمونه‌های گیاهی بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاهی محاسبه شد (۳۱).

غلظت‌های مختلف گالیک اسید استفاده شد و مقدار فنول کل عصاره با استفاده از معادله منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک بافت گیاه بیان گردید (۳۰).

روش سنجش میزان فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول



شکل ۲- منحنی‌های کالیبراسیون استانداردهای گالیک اسید و کوئرستین جهت اندازه‌گیری مقادیر فنول و فلاونوئید.

Fig. 2. Standard curves of gallic acid and quercetin to measure phenol and flavonoid amounts.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از صفات اندازه‌گیری شده جهت تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین صفات به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ver. 9 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تحلیل همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی (بر اساس مقدار IC_{50})، میزان کل فلاونوئید و فنول گیاه مریم نخودی در جدول ۲ ارائه شده است. طبق این نتایج، بین مقدار IC_{50} و فنول کل ($p < 0.01$).

($r = -0.4378$) و همچنین بین IC_{50} و فلاونوئید کل ($r = -0.3453$, $p < 0.05$) رابطه منفی و معنی‌داری مشاهده شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که با افزایش میزان فنول‌ها و فلاونوئیدها، مقدار IC_{50} کاهش می‌یابد، که بیانگر افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌هاست. همچنین، بین مقدار کل فنول و فلاونوئید نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد ($r = 0.3430$, $p < 0.05$) که نشان‌دهنده هم‌زمانی افزایش این دو گروه ترکیبات زیست‌فعال در اکوتیپ‌های مختلف است. به‌طور کلی، این نتایج حاکی از نقش مؤثر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در ارتقای قدرت آنتی اکسیدانی گیاه مریم نخودی هستند.

جدول ۲- ماتریس همبستگی بین ظرفیت آنتی اکسیدانی (بر اساس IC_{50})، فلاونوئید کل و فنول کل گیاه مریم نخودی (*T. polium*).
Table 2. Correlation matrix among antioxidant capacity (IC_{50}), total phenolic compound, and total flavonoids of *T. polium*.

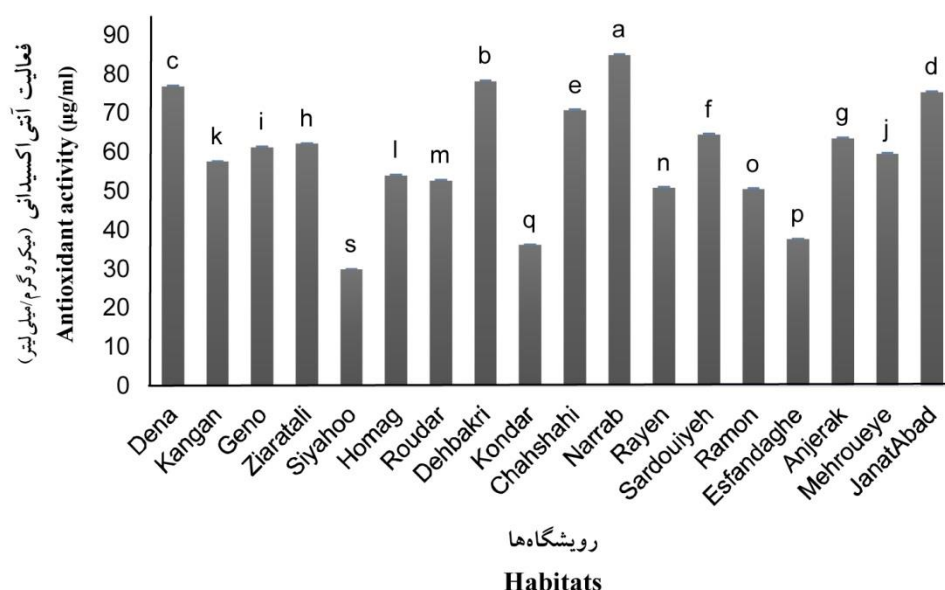
ویژگی Trait	ظرفیت آنتی اکسیدانی Antioxidant Capacity (IC_{50})	فلاونوئیدهای کل Total Flavonoids	ترکیبات فنولی کل Total Phenolic Compound
ظرفیت آنتی اکسیدانی Antioxidant Capacity (IC_{50})	1.00	-0.34*	-0.43**
مجموع فلاونوئیدها Total Flavonoids	-0.34*	1.00	0.34*
مجموع ترکیبات فنولی Total Phenolic Compound	-0.43**	0.34*	1.00

علامت‌های * و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری همبستگی در سطح ۵ درصد و ۱ درصد هستند

The signs * and ** indicate significant correlation at the levels of 5% and 1%, respectively

مقایسه میانگین مقادیر IC_{50} و میزان ترکیب‌های فنول کل و فلاونوئید کل در عصاره گیاه مریم نخودی در ۱۸ ایستگاه مورد بررسی در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ نمایش داده شده است. همان‌طور که در شکل ۳ مشخص است، مقایسه مقادیر IC_{50} عصاره متانولی مریم نخودی در رویشگاه‌های مختلف نشان داد که بین رویشگاه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. پایین‌ترین مقدار IC_{50} ، که بیانگر بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی است، به ترتیب در اکوتیپ‌های

سیاهو، کندر و اسفندقه به ترتیب به میزان ۲۹/۹۸، ۳۶/۱۹ و ۳۷/۵۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در مقابل، رویشگاه‌های نراب، دهبکری، دنا و جنت‌آباد به ترتیب با مقادیر ۷۸/۲۶، ۸۵/۰۲ و ۷۶/۹۵ و ۷۵/۴۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بالاترین مقدار IC_{50} را نشان دادند که بیانگر کم‌ترین فعالیت آنتی اکسیدانی در میان رویشگاه‌های مورد مطالعه است. سایر رویشگاه‌ها دارای مقادیر میانی بودند و در گروه‌های آماری متفاوت طبقه‌بندی شدند.

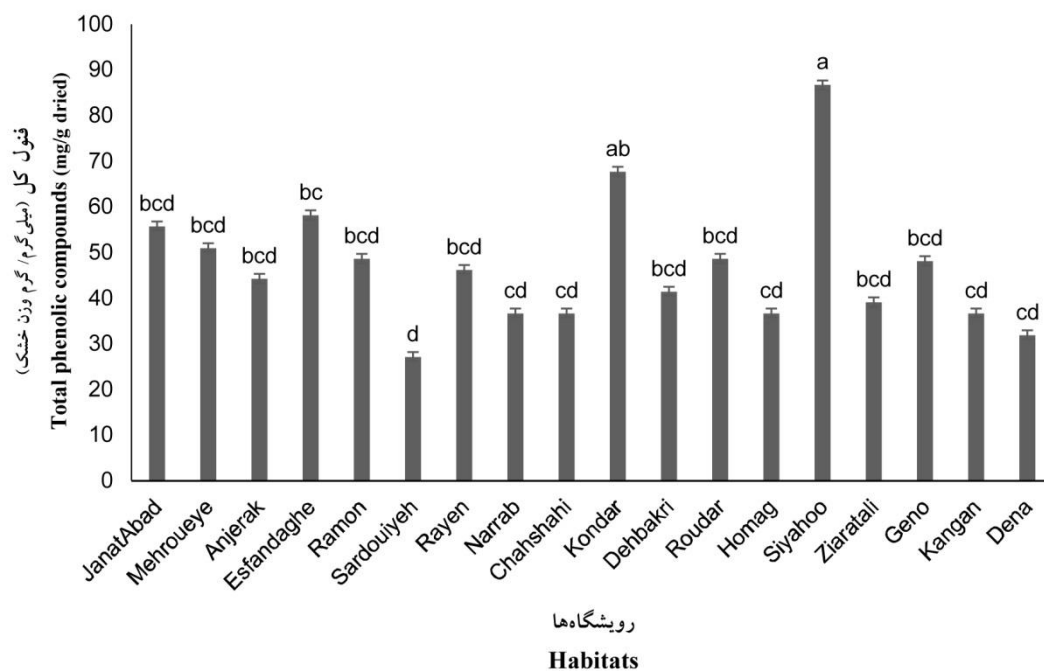


شکل ۳- مقایسه مقادیر IC_{50} (غلظت مهارکننده ۵۰ درصد) عصاره متانولی گیاه مریم نخودی (*T. polium*) در رویشگاه‌های هجده‌گانه.

Fig. 3. Comparison of IC_{50} values (the concentration required to inhibit 50% of DPPH radicals) of the methanolic extract of *T. polium* in 18 different habitats.

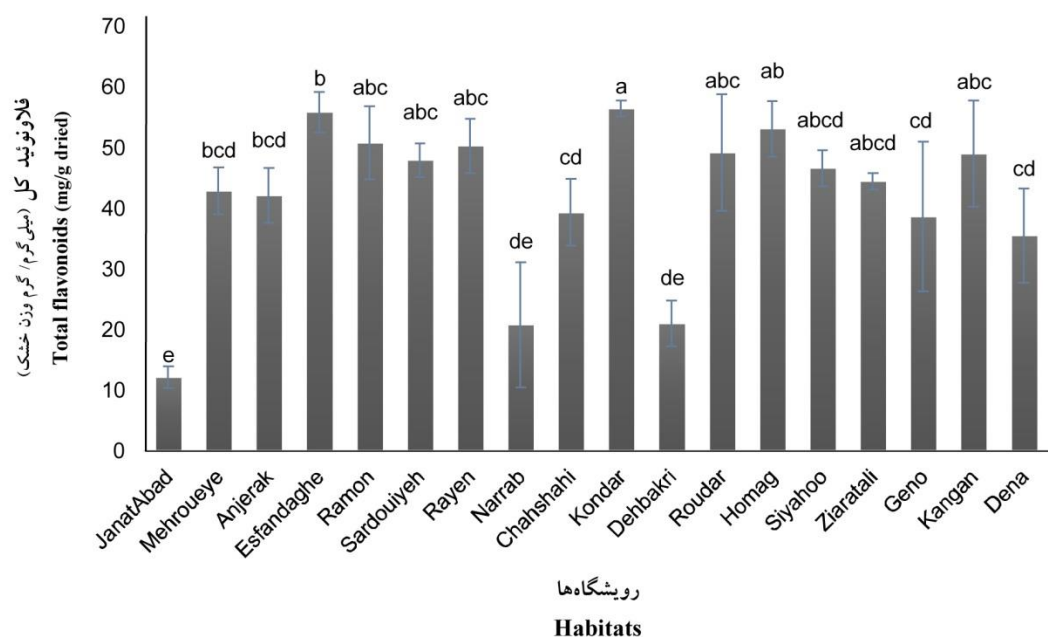
نتایج مقایسه میانگین محتوای فلاونوئید کل در اکوتیپ‌های مختلف مریم نخودی نشان داد که بین رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل در رویشگاه‌های کندر و اسفندقه به ترتیب به میزان ۵۶/۴۵ و ۵۵/۸۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک مشاهده شد که در گروه‌های آماری برتر قرار گرفتند (شکل ۵). این رویشگاه‌ها نه تنها از نظر کمی دارای بالاترین غلظت فلاونوئید بودند، بلکه هم‌زمان در نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) پایین‌تر نیز عملکرد مطلوبی داشتند که بیانگر نقش کلیدی فلاونوئیدها در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه است. در مقابل، رویشگاه‌های جنت‌آباد، نراب و دهبکری دارای کم‌ترین مقدار فلاونوئید کل به ترتیب به میزان ۱۲/۱۵، ۲۰/۷۷ و ۲۱/۰۰ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک بودند و در گروه‌های آماری پایین‌تر قرار گرفت. سایر رویشگاه‌ها سطوح متوسطی از فلاونوئیدها را نشان دادند.

بررسی میزان فنول کل در عصاره متانولی مریم نخودی در ۱۸ رویشگاه نشان داد که بین اکوتیپ‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیش‌ترین مقدار فنول کل در رویشگاه‌های سیاهو، کندر و اسفندقه به ترتیب به میزان ۸۶/۶۶، ۶۷/۶۲ و ۵۸/۰۹ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک به‌دست آمد که در گروه‌های آماری برتر قرار گرفتند (شکل ۴). این سه منطقه به‌طور مشخص بالاترین سطح ترکیبات فنولی را در میان رویشگاه‌های مورد بررسی دارا بودند. در مقابل، کم‌ترین مقادیر فنول کل مربوط به رویشگاه‌های ساردوئیه، دنا، نراب و چاهشاهی به ترتیب به میزان ۲۷/۱۴، ۳۱/۹۰، ۳۶/۶۶ و ۳۶/۶۶ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک بود که اختلاف قابل‌توجهی با گروه‌های برتر نشان دادند. سایر رویشگاه‌ها دارای مقادیر متوسط بودند و در گروه‌های آماری میانی طبقه‌بندی شدند.



شکل ۴- مقایسه محتوای فنول کل عصاره متانولی گیاه مریم نخودی (*T. polium*) در هجده رویشگاه مختلف.

Fig. 4. Comparison of the total phenolic content of the methanolic extract of *T. polium* in 18 different habitats.



شکل ۵- مقایسه محتوای فلاونوئید کل عصاره متانولی گیاه مریم نخودی (*T. polium*) در هجده رویشگاه مختلف.

Fig. 5. Comparison of the total flavonoid content of the methanolic extract of *T. polium* in 18 different habitats.

همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۵ وجود داشت. دلیل منفی بودن ضریب همبستگی میان IC_{50} و ترکیبات فنولی یا فلاونوئیدی این است که مقدار IC_{50} برعکس فعالیت آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند؛ یعنی هرچه مقدار ترکیبات فنولی یا فلاونوئیدی بیش‌تر باشد، مقدار IC_{50} پایین‌تر خواهد بود و این بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر است. در نتیجه، ضریب همبستگی بین این صفات منفی می‌شود.

نتایج همبستگی: ارزیابی همبستگی بین صفات مورد مطالعه در این تحقیق با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج آنالیز همبستگی نشان داد که بین برخی صفات رابطه منفی و بین برخی دیگر رابطه مثبت معنادار وجود دارد. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان همبستگی (از نظر قدر مطلق) بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (بر اساس مقدار IC_{50}) و ترکیبات فنولی در سطح ۰/۰۱ مشاهده شد. همچنین بین مقادیر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نیز

جدول ۳- ضریب همبستگی پیرسون بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید کل و فنول کل در عصاره متانولی گیاه مریم نخودی.

Table 3. Pearson correlation coefficients among antioxidant capacity, total flavonoids, and total phenolic compound in the methanolic extract of *T. polium*.

ویژگی Trait	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant Capacity (IC_{50})	مجموع فلاونوئیدها Total Flavonoids	مجموع ترکیبات فنولی Total Phenolic Compounds
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant Capacity (IC_{50})	1.00		
مجموع فلاونوئیدها Total Flavonoids	-0.52*	1.00	
مجموع ترکیبات فنولی Total Phenolic Compounds	-0.62**	0.49*	1.00

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد هستند

* and ** indicate significance at the 5% and 1% levels, respectively

بیش‌تر بود. به نظر می‌رسد تفاوت در میزان ترکیبات ثانویه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده اثر ارتفاع رویشگاه بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره مریم نخودی می‌باشد. این نتایج با نتایج محققان دیگر که بیان کردند میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاهان در مناطق مختلف تحت تأثیر فاکتورهای مانند اختلافات آب و هوایی و جغرافیایی (ارتفاع) در مناطق مختلف است مشابهت دارد (۳۵). نتایج یافته‌های این تحقیق و دیگران مؤید این مطلب است که متابولیسم‌های ثانویه در اکوسیستم‌ها، تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی است اما روشن شدن این نکته از اهمیت نقش عوامل ژنتیکی کم نمی‌کند.

با توجه به نتایج به دست آمده، فعالیت و مکانیسم عمل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های گیاهی به شدت به ترکیب و شرایط رویشگاه بستگی دارد، زیرا این شرایط بر سنتز مواد شیمیایی گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند مؤثر هستند (۳۲). مطالعات نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنولی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی عصاره‌های گیاهی می‌باشد، زیرا بر اساس شواهد موجود، ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد که از طریق عصاره‌های گیاهی آن‌ها قابل استخراج می‌باشد (۳۳، ۳۴). رویشگاه‌های کندر، اسفندقه و سیاهو از بیش‌ترین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برخوردار بودند و به تبع آن عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نیز

یکی از عوامل اقلیمی، ارتفاع از سطح دریا می‌باشد که نقش اساسی در رشد و تولید گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلفی ایفا می‌نماید و از جمله عوامل مهم در تعیین کمیت و کیفیت گیاهان محسوب می‌شود (۳۶). تغییرات دمایی در اثر تغییر ارتفاع از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار بر تغییر صفات بیوشیمیایی گیاهان در رویشگاه است. با تغییر ارتفاع، عواملی هم‌چون دما، سرعت باد، رطوبت نسبی، میزان آب قابل دسترس و میزان تابش دریافتی تغییر پیدا می‌کنند (۳۷). کلروفیل نقش مهمی در دریافت نور در گیاهان بازی می‌کند. با افزایش ارتفاع از سطح دریا کاهش محتوای قابل توجه کلروفیل a و b مشاهده می‌شود. کاهش کلروفیل در ارتفاعات بالاتر به دلیل سطح تنش اکسیداتیو بالاتر در این نواحی است (۳۸). با توجه به تنش‌های غیرزیستی در ارتفاعات بالاتر، افزایش کمی و کیفی قابل‌توجهی در بسیاری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی مشاهده می‌شود (۳۹). از جمله تنش‌های محیطی که با افزایش ارتفاع رویشگاه‌ها بروز می‌کند کاهش دما و افزایش میزان اشعه U-V است (۴۰). در مطالعه حاضر فنول کل با افزایش ارتفاع به طور قابل‌توجهی در سه منطقه سیاهو (۸۶/۶۶ میلی‌گرم گالیک اسید معادل بر گرم وزن خشک)، کندر (۶۷/۶۲ میلی‌گرم گالیک اسید معادل بر گرم وزن خشک) و اسفندقه (۵۸/۰۹ میلی‌گرم گالیک اسید معادل بر گرم وزن خشک) افزایش یافت. ترکیبات فنولی به عنوان یک کلاس بسیار مهم از آنتی‌اکسیدان‌ها در نظر گرفته می‌شوند و بیش‌تر با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مرتبط هستند، زیرا با از بین بردن رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می‌کنند. بنابراین ترکیبات فنولی، سازگاری با تنش اکسیداتیو را افزایش می‌دهند (۴۱). گیاهان با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به تنش‌های غیرزیستی مختلف پاسخ می‌دهند. تحقیق حاضر نشان داد که تغییرات قابل‌توجهی در فعالیت

آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه در ارتفاعات مختلف نشان داده شد. نتایج نشان داد انباشت و افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در ارتفاعات بالاتر به عنوان یک استراتژی بقا در این ارتفاعات در نظر گرفته می‌شود. فعالیت و مکانیسم عمل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های گیاهی به ترکیب مواد مؤثره و شرایط رویشگاه بستگی دارد. هرچه میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بالاتر باشد، به‌طور معمول قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بیش‌تر خواهد بود. در پژوهش حاضر نیز بیش‌ترین مقدار این ترکیبات و بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در رویشگاه‌های سیاهو، کندر و اسفندقه مشاهده شد.

بررسی داده‌های اقلیمی نشان داد که ارتفاع به تنهایی عامل تعیین‌کننده مطلق نبود، بلکه ترکیب عوامل دمایی و بارشی نیز نقش اساسی در تفاوت مشاهده‌شده بین اکوتیپ‌ها داشت. به‌عنوان نمونه، رویشگاه کندر با ارتفاع ۲۲۲۰ متر و میانگین دمای سالانه ۲۸/۴ درجه سانتی‌گراد، بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت فنول و فلاونوئید را داشت. در مقابل، رویشگاه دنا با ارتفاع ۱۶۱۰ متر و بارندگی بسیار بالاتر (۷۰۰ میلی‌متر) ولی میانگین دمای پایین‌تر (۱۳/۲ درجه سانتی‌گراد) فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تری نشان داد. این امر تأیید می‌کند که علاوه‌بر ارتفاع، توزیع بارندگی و شرایط دمایی خاص منطقه در سنتز ترکیبات ثانویه نقش‌آفرینی دارند (۲۴). متابولیت‌های ثانویه گیاهی علاوه بر این که مجموعه‌ای ارزشمند از محصولات گیاهی هستند با فعال‌سازی و تقویت مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی زیستی و غیرزیستی مرتبط هستند (۴۲). به همین ترتیب متغیرهای محیطی مانند میکروارگانیزم‌های خاک، در دسترس بودن آب، pH خاک، ارتفاع، خشکسالی و شرایط نور بر شدت و کیفیت تولید این متابولیت‌ها در جمعیت‌های گیاهی تأثیرگذار است (۴۳). این متابولیت‌ها در واقع به

ارتفاعات بالاتر به دست آمد (۴۹، ۵۰). چورلی و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی صفات بیوشیمیایی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) در مناطق مختلف به این نتیجه رسیدند که بیش‌ترین میزان فنول کل در منطقه شاهرود با ارتفاع ۲۰۷۱ متر از سطح دریا و کم‌ترین میزان فنول کل در منطقه مشهد با ارتفاع ۱۴۶۴ متر از سطح دریا حاصل شد. البته عوامل دیگری غیر از ارتفاع از سطح دریا مانند تفاوت توپوگرافی منطقه، دما و رطوبت تأثیرگذار هستند (۵۱).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، یافته‌های این تحقیق به وضوح نشان داد که شرایط اکولوژیک خاص مناطق مرتفع، شامل افزایش تابش، نوسانات دمایی و کاهش بارندگی، نقش تعیین‌کننده‌ای در تجمع ترکیبات زیست‌فعال گیاه مریم نخودی دارند؛ به‌طوری‌که این عوامل منجر به افزایش معنادار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و در نتیجه، تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در اکوتیپ‌های مورد مطالعه شد. از منظر کاربردی، این نتایج بر ضرورت انتخاب هوشمندانه ژرمپلاسماها با در نظرگیری همزمان متغیرهای ارتفاع، دما و بارش تأکید می‌کند. معرفی اکوتیپ‌های برتر شناسایی شده در این پژوهش، نظیر کندر، سیاهو و اسفندقه، می‌تواند پایه علمی مستحکمی برای توسعه کشت‌های دارویی پایدار، کاهش فشار بر رویشگاه‌های طبیعی و در نهایت، تضمین کیفیت و کمیت مواد مؤثره در صنایع داروسازی و فرآورده‌های گیاهی فراهم آورد. بنابراین، این مطالعه نه تنها در غنای دانش اکولوژیک-فیزیولوژیک این گیاه دارویی ارزشمند نقش دارد، بلکه دارای پیامدهای عملی مستقیم در حوزه‌های کشاورزی پایدار، صنعت داروسازی و طب سنتی است.

گیاهان در حفظ عملکردهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی کمک می‌کنند. به عنوان مثال مقدار فنول‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان در شرایط خشکسالی افزایش می‌یابد و از طریق تنظیم پتاسیل نگهداری آب، پروتئین محلول و قندهای محلول از اثرات سوء کم‌آبی جلوگیری می‌کند. از سوی دیگر تولید گونه‌های فعال اکسیژن شامل اکسیژن منفرد، رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید در نتیجه تنش‌های محیطی در ارتفاعات بالا افزایش می‌یابد و احتمال آسیب اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (۴۴).

در تحقیقی از پولاکشی خشک‌رودی و همکاران (۲۰۲۳) در مورد تأثیر ارتفاع بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنول و فلاونوئید در گیاه دارویی آقطی (*Sambucus ebulus*)، نتایج نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش ارتفاع از سطح دریا بیش‌تر بود و بیش‌ترین همبستگی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید بود (۴۵). سپهری‌فر و حسنلو (۲۰۱۰) هم گزارش کردند که بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فلاونوئید رابطه معنی‌دار مستقیمی وجود دارد (۴۶). همبستگی مثبت بین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل و فلاونوئید در مریم نخودی در آزمایش محمدزاده و همکاران (۲۰۲۱) نیز بسیار قوی و معنی‌دار بود (۴۷). مطالعات دیگری نیز از همبستگی مستقیم بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول کل خبر داده‌اند. در آزمایشی از زرگوش و همکاران (۲۰۱۹) هم بین میزان مواد فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه اسکروفولاریا استریاتا (*Scrophularia striata*) همبستگی مثبت معنی‌داری ملاحظه شد (۴۸).

قنبری و همکاران (۲۰۲۰) و نجار فیروزجایی و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثر ارتفاع رویشگاه‌ها بر مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاهان علف مار (*Capparis spinosa*) و گزنه (*Urtica dioica*) بیان کردند بیش‌ترین میزان این متابولیت‌ها در

منابع

1. Kashfi, A. (2010). Economic comparative advantage and trade cultivation of medicinal plants in Iran and its value on world markets. *Journal of Agriculture and animal husbandry*, 2, 36. [In Persian]
2. Borneo, R., León, A. E., Aguirre, A., Ribotta, P., & Cantero, J. J. (2009). Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Córdoba (Argentina) and their *in vitro* testing in a model food system. *Food Chemistry*, 112(3), 664-670.
3. Kordi, T. E., Jafar, V., & Moharam, V. (2014). *In vitro* production of secondary metabolites in *Cicer spiroceras* using elicitors. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 3(2), 48.
4. Jaakola, L., Määttä-Riihinen, K., Kärenlampi, S., & Hohtola, A. (2004). Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. *Planta*, 218(5), 721-728.
5. Alok, S., Jain, S. K., Verma, A., Kumar, M., Mahor, A., & Sabharwal, M. (2014). Herbal antioxidant in clinical practice: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1), 78-84.
6. Hauskrecht, M. (2000). Value-function approximations for partially observable Markov decision processes. *Journal of Artificial Intelligence Research*, 13, 33-94.
7. Rabba'a, M. M., Shibli, R. A., & Shatnawi, M. A. (2012). Cryopreservation of *Teucrium polium* L. shoot-tips by vitrification and encapsulation-dehydration. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 110(3), 371-382.
8. Albadr, Y., Crowe, A., & Caccetta, R. (2022). *Teucrium polium*: Potential drug source for type 2 diabetes mellitus. *Biology*, 11(1), 128.
9. Bahramikia, S., Gavyar, P. H. H., & Yazdanparast, R. (2022). *Teucrium polium* L.: An updated review of phytochemicals and biological activities. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 12(3), 224.
10. Chabane, S., Boudjelal, A., Napoli, E., Benkhaled, A., & Ruberto, G. (2021). Phytochemical composition, antioxidant and wound healing activities of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 33(2), 143-151.
11. Goulas, V., Gomez-Caravaca, A. M., Exarchou, V., Gerothanassis, I. P., Segura-Carretero, A., & Gutiérrez, A. F. (2012). Exploring the antioxidant potential of *Teucrium polium* extracts by HPLC-SPE-NMR and on-line radical-scavenging activity detection. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 104-109.
12. Esmaeili, M.A., Zohari, F., & Sadeghi, H. (2009). Antioxidant and protective effects of major flavonoids from *Teucrium polium* on β -cell destruction in a model of streptozotocin-induced diabetes. *Planta Med*, 75(13), 1418-1420.
13. Nouri, S., Kiasat, A. R., Kolahi, M., Mirzajani, R., & Seyednejad, S. M. (2016). Phytochemical studies, antioxidants and various optimization methods in order to determine the best method of extracting curcumin extract ethanol from the plant *Curcuma longa* L. *Eco-Phytochem. Journal of Medicinal Plants*, 11(3), 1-11. [In Persian]
14. Gordon, M. H. (1990). The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In *Food antioxidants* (pp. 1-18). Dordrecht: Springer Netherlands.
15. Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D., Rastija, V., Lucic, B., & Trinajstić, N. (2007). SAR and QSAR of the antioxidant activity of flavonoids. *Current medicinal chemistry*, 14(7), 827-845.
16. Cozzani, S., Muselli, A., Desjobert, J. M., Bernardini, A. F., Tomi, F., & Casanova, J. (2005). Chemical composition of essential oil of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(4), 436-441.

17. Carvalho, S., Macel, M., Schlerf, M., Moghaddam, F. E., Mulder, P. P., Skidmore, A. K., & van der Putten, W. H. (2013). Changes in plant defense chemistry (pyrrolizidine alkaloids) revealed through high-resolution spectroscopy. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 80, 51-60.
18. Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302.
19. Stankovic, M. S., Niciforovic, N., Mihailovic, V., Topuzovic, M., & Solujic, S. (2012). Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of different plant parts of *Teucrium polium* L. subsp. *polium*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81(2).
20. Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Spices as functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(1), 13-28.
21. Nagavci, B., Loci, A., Mehmeti, A. B., Mehmeti, M., Rugova, A., Latifi-Pupovci, H., & Daci, A. (2022). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of some medicinal plants. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 6(2), 14-22.
22. Falahi, Z., Moradi, S., Moradi, R., Ghanbari, B., Sazegari, S., Hashemi, M., & Jorfi, M. (2020). Determination of phenolic content and antioxidant activity of *Achillea millefolium* and *Teucrium polium* extracts. *Journal of Food Hygiene*, 10(1), 59-73. [In Persian]
23. Sedigheh, D., Abbas, A., Emad, M., Hojjat, A., & Ghader, M. (2012). Antioxidant capacity and total phenolic content of methanolic extract of *Teucrium polium*. *Journal of Food Technology Nutrition*, 9(4), 1-12.
24. Naghdi Badi, H., Yazdani, D., Ali Akbari, A., & Nazari, F. (2004). Effects of environmental factors on variation of active substances in medicinal herbs. *Res. Constr. Natural Resources*, 64, 59-64.
25. Dorman, H. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4563-4569.
26. Pyo, Y. H., Lee, T. C., Logendra, L., & Rosen, R. T. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of selected New Jersey herbs. *J. Agric. Food Chem.* 52(9): 2779-2786.
27. Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
28. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
29. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3).
30. Ghorbani, A., Alizadeh, M., Shafaghi, A. H., & Abasi, M. (2011). Antioxidant activity and total phenolic content in extracts from aerial parts of *Teucrium orientale*. *J. Med. Plants*, 10(40), 38-44.
31. Barron, D., & Ibrahim, R. K. (1996). Isoprenylated flavonoids: A survey. *Phytochemistry*, 43(4), 921-982.
32. Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.

33. Becker, E. M., Nissen, L. R., & Skibsted, L. H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 219(6), 561-571.
34. Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S., & Aruoma, O. I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(1-2), 7-20.
35. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
36. Shahidi, F., & Naczk, M. (2003). *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC press.
37. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press.
38. Tsao, R., & Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, 812(1-2), 85-99.
39. Frankel, E. N., & Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925-1941.
40. Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012). Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148-173.
41. Tohma, H., Gülçin, İ., Bursal, E., Gören, A. C., Alwasel, S. H., & Köksal, E. (2017). Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 556-566.
42. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
43. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
44. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
45. Polaki Khoshkrodi, R., Bagheri, N., & Babaeian Jelodar, N. (2023). Effect of altitude on some secondary metabolites of the medicinal plant (*Sambucus ebulus* L.) in three different habitats of Mazandaran province. *Journal of Plant Process and Function*, 12(56), 1-16.
46. Sepehrifar, R., & Hasanloo, T. (2010). Polyphenolics, flavonoids and anthocyanins content and antioxidant activity of Qare-Qat (*Vaccinium arctostaphylos* L.) from different areas of Iran.
47. Mohammadzadeh, Z., Cheniany, M., & Samiei, L. (2021). Effect of methyl jasmonate, IAA and BAP on callogenesis potential, content of some phenolic compounds and antioxidant capacity of *Teucrium polium* L. *Journal of Plant Process and Function*, 10(45), 267-284.
48. Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G., & Tavili, A. (2019). Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. *Scientific reports*, 9(1), 16021.
49. Ghanbari, A., Azimi, M., Rafiei, A., Biparva, P., & Ebrahimzadeh, M. A. (2020). Changes in the phytochemical content of the Cappers Collected from of different microclimates. *Journal of Plant Process and Function*, 9(39), 165-178.
50. Najjarfirozjaee, M., Hemmati, K., Khorasaninejhad, S., Daraei, G. A., & Bagherifard, A. (2014). Effect of

- altitude on morphological and biochemical characteristics of nettle (*Urtica dioica* L.) plant in mazandaran and golesan provinces. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 9(3), 1-11.
51. Choorli, S., Khorasani Nejad, S., Hemati, Kh., & Kashefi, B., (2016). The evaluation of morphological, antioxidant and essential oil content in medicinal plant *Stachys lavandulifolia* Vahl. in the habitats of Semnan, Shomali and Razavi Khorasan provinces. *Journal of Vegetative Environmental and Physiology*, 41, 41-52.