دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۲، شماره ۲، صفحه ۲۰۲-۱۸۹ (۱۳۹۵)

# بررسی تنوع اسانس ۲۱ جمعیت گونه انحصاری ایرانی *Nepeta kotschyi* Boiss.

**نجمه هادی[۱]، فاطمه سفیدکن[۲*]، عبدالعلی شجاعیان[۳] و علی‌اشرف جعفری[۴]**

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، پست الکترونیک: sefidkon@rifr-ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴- استاد، بخش تحقیقات بانک ژن، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۳ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۳

## چکیده

جنس پونه‌سا (*Nepeta*) از بزرگترین جنس‌های خانواده نعنا و ایران از خواستگاه‌های اصلی آن است. نپتالاکتون‌ها و فلاونوئیدها، متابولیت‌های ثانویه اصلی گونه‌های پونه‌سا و عامل اصلی ارزش دارویی و فعالیت‌های بیولوژیک آنها می‌باشند. در مورد بررسی فعالیت‌های زیستی متابولیت‌های ثانویه جنس پونه‌سا گزارشهای متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده اهمیت این جنس است. در این تحقیق، تنوع اسانس ۲۱ جمعیت وحشی گونه *Nepeta kotschyi* Boiss.، از گونه‌های انحصاری ایران ارزیابی شد. به‌منظور حذف اثر محیط، بذر جمعیت‌ها در یک محل کشت و نگهداری گردید. اندام‌های گیاهی در مرحله گلدهی کامل برداشت شدند و پس از خشک شدن در سایه، به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. بررسی کمّی و کیفی اجزای اسانس به‌ترتیب با استفاده از GC و GC/MS انجام شد. بعد از بررسی‌های گیاه‌شناسی و تجزیه اسانس مشخص شد که جمعیت‌ها از دو واریته مختلف هستند. دو جمعیت بویراحمد۱ و بویراحمد۲ متعلق به *N. kotschyi* var. *kotschyi* و بقیه جمعیت‌ها به *N. kotschyi* var. *persica* تعلق داشتند. ۲۳ ترکیب در اسانس گونه *N. kotschyi* شناسایی شد. بیشترین بازده اسانس (وزنی/وزنی) در جمعیت‌های واریته *kotschyi* (۰/۷-۰/۵٪) بدست آمد. در میان جمعیت‌های واریته *persica* بر اساس ترکیب(های) غالب اسانس سه کموتایپ اصلی **a** حاوی نپتالاکتون I (۴a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-آلفا نپتالاکتون)، **b** حاوی نپتالاکتون II (۴a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-بتا نپتالاکتون) و کوبنول و **c** حاوی ژرانیل استات و کوبنول شناسایی شدند. جمعیت‌های سمیرم و تفت۵ در کموتایپ b، تفت۴ در کموتایپ c و بقیه جمعیت‌ها ازجمله جمعیت‌های واریته *kotschyi* در کموتایپ a قرار گرفتند. در کموتایپ a میزان نپتالاکتون I از ۵۳/۹٪ (چلگرد) تا ۸۴/۸٪ (بویراحمد۲) و نپتالاکتون II از ۱٪ (تفت۱) تا ۱۳/۷٪ (چلگرد) متغیر بودند. در کموتایپ b میزان نپتالاکتون I از ۰/۳٪ (تفت۵) تا ۴/۹٪ (سمیرم) و نپتالاکتون II از ۱۳/۴٪ (تفت۵) تا ۴۴/۷٪ (سمیرم) اندازه‌گیری شد. نپتالاکتون III (۴a-آلفا، ۷-بتا، ۷a-آلفا نپتالاکتون) (۳/۳-۱/۳٪) منحصراً در اسانس جمعیت‌های واریته *persica* شناسایی شد.

**واژه‌های کلیدی:** *Nepeta kotschyi* var. *kotschyi*، *Nepeta kotschyi* var. *persica*، اسانس، نپتالاکتون، کموتایپ.

## مقدمه

پونه سا (*Nepeta*) یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های خانواده نعنا (Lamiaceae) است که در آن به‌طور تقریبی ۳۰۰ گونه گزارش شده‌است. در ایران، که یکی از خواستگاه‌های اصلی این جنس محسوب می شود، ۷۵ گونه از آن وجود داشته (Formisano *et al*., 2011) که حدود ۸۱٪ آنها انحصاری هستند (Mozaffarian, 1996; 2013). گونه *Nepeta kotschyi* Boiss. از گونه‌های انحصاری ایران با نام فارسی پونه‌سای کوه‌دلو است (Mozaffarian, 1996).

نپتالاکتون‌ها و ترکیب های ایریدوئیدی و گلوکوزیدی مشتق شده از آنها، دی‌ترپن‌ها، تری‌ترپن‌ها و فلاونوئیدها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه اصلی گونه‌های پونه‌سا گزارش شده‌اند (Formisano *et al*., 2011). نپتالاکتون‌ها از مونوترپنوئیدهای سیکلوپنتانوئید هستند، که در مقادیر مختلف، به‌طور انحصاری به‌عنوان اجزای اسانس گونه‌های مختلف پونه‌سا یافت می‌شوند (Javidnia *et al*., 2002). گزارشهای متعدد در مورد فعالیت‌های زیستی متابولیت‌های ثانویه جنس پونه سا نشان‌دهنده اهمیت این جنس می باشد. ازجمله این فعالیت‌ها می‌توان فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی (Mahboubi *et al*., 2011؛ Zomorodian *et al*., 2013)، ضدویروسی (Monavari *et al*., 2011)، ضددرد (Aydin *et al*., 1999)، ضدالتهاب و ضدتورم (Miceli *et al*., 2005)، آنتی‌اکسیدانی (Tepe *et al*., 2007؛ Kraujalis *et al*., 2011)، سیتوتوکسیک (Hussain *et al*., 2009؛ Kahkeshani *et al*., 2014)، فیتوتوکسیک (Hussain *et al*., 2009؛ Mutlu & Atici, 2009)، آرام‌بخشی اعصاب (Rabbani *et al*., 2008)، تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی (Akbay *et al*., 2002؛ Hussain *et al*., 2010)، ضدلختگی خون (Hussain *et al*., 2009) و دورکنندگی حشرات (Gkinis *et al*., 2003؛ Schultz *et al*., 2004؛ Zhu *et al*., 2011) را نام برد.

ترکیب اسانس به عوامل گوناگون بستگی دارد، ازجمله می‌توان به واریته، محل رشد، شرایط اقلیم، روش استخراج و تجزیه اسانس اشاره کرد (Formisano *et al*., 2011). پژوهش‌های انجام شده در ایران بر روی ترکیب اسانس گونه‌های مختلف جنس پونه سا نشان می‌دهد که گونه‌ها را می‌توان بر اساس ترکیب غالب اسانس گروه‌بندی کرد. ازجمله این پژوهش‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۸،۱-سینئول در گونه‌های *N. ispahanica*، *N. binaludensis* و *N. involucrata* (Nadjafi *et al*., 2009؛ Sefidkon *et al*., 2006؛ Sonboli *et al*., 2005؛ Rustaiyan & Nadji, 1999)، *N. heliotropifolia* (Rustaiyan *et al*., 2006)، *N. rivularis* (Sefidkon *et al*., 2006) و *N. crispa* (Mojab *et al*., 2009)، نپتالاکتون و ۸،۱-سینئول در گونه‌های *N. crispa* (Sonboli *et al*., 2004؛ Sefidkon *et al*., 2006)، *N. mahanensis* و *N. eremophila* (Sefidkon *et al*., 2006) و نپتالاکتون در گونه‌های *N. cephalotes*، *N. bornmuelleri* و *N. mirzayanii* (Sefidkon & Jamzad, 2007) ترکیب(های) عمده اسانس مشاهده شدند. عدم حضور نپتالاکتون در اسانس گونه‌های *N. macrosiphon* و *N. involucrata* (Sonboli *et al*., 2005؛ Ghannadi *et al*., 2003)، *N. heliotropifolia* (Rustaiyan *et al*., 2006) و *N. bracteata* (Sefidkon & Jamzad, 2007) گزارش شد. ترکیب‌هایی مانند بتا-کاریوفیلن، کاریوفیلن اکسید، اسپاتولنول، جرماکرین D و بی سیکلو جرماکرین از ترکیب‌های عمده اسانس در گونه‌هایی مانند *N. fissa* (Sefidkon *et al*., 2002)، *N. macrosiphon* (Ghannadi *et al*., 2003) و *N. bracteata* (Sefidkon & Jamzad, 2007) معرفی شدند. البته گونه‌هایی از پونه سا که ترکیب عمده اسانس آنها نپتالاکتون است از اهمیت به‌نژادی بیشتری برخوردارند. گونه‌های مختلف پونه‌سا از نظر حضور

نپتالاکتون در اسانس و مقدار کلی آن، حضور ایزومرهای مختلف نپتالاکتون در اسانس و مقادیر آنها و ترکیب همراه نپتالاکتون در اسانس، با توجه به تأثیر بر خواص بیولوژیک و کاربرد آن حائز اهمیت می‌باشند.

ضرورت بهره‌برداری پایدار و حفاظت از ذخائر ژنتیک گونه‌های دارویی، به‌ویژه از سوی کشت و صنعت‌های گیاهان دارویی احساس می‌شود، که باید نسبت به اهلی‌سازی و معرفی گونه‌های مذکور به سیستم‌های کشاورزی اقدام کرد. اولین، مهمترین و البته پرهزینه‌ترین راهبرد اهلی کردن شامل بررسی دقیق جنبه‌های شیمیایی، ژنتیک، اکوفیزیولوژیک و همچنین مشخص کردن پتانسیل متفاوت تولید متابولیت ثانویه تیپ‌های گوناگون گونه گیاهی مورد نظر می‌باشد. اهلی کردن یک گیاه دارویی، فرایندی طولانی است. اگر از همان آغاز، ژنوتیپ مناسبی از گیاه انتخاب شود، زمان فرایند مذکور کوتاه‌تر خواهد شد (Bernath, 2002؛ Nemeth *et al*., 2000). در این مقاله برای اولین بار تنوع اسانس جمعیت‌های وحشی مختلف گونه *N. kotschyi* که در یک محل کشت شده‌اند (با حذف اثر محیط در ارزیابی‌ها)، طی دو سال اول استقرار در مزرعه واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس گزارش می‌شود.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی و استخراج اسانس

ژرم‌پلاسم مورد استفاده در این پژوهش شامل ۲۱ جمعیت وحشی از گونه *N. kotschyi* بود. بذر جمعیت‌ها از بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور (جدول ۱) تهیه شد. به‌منظور حذف اثر محیط در ارزیابی‌ها، دانهال‌های گلخانه‌ای تولید، و پس از سازگارسازی آنها به شرایط آب و هوایی بیرون گلخانه، در مزرعه کشت و نگهداری شدند. اندام‌های هوایی گیاه در مرحله گلدهی (تقریباً ۷۰٪ گلدهی کامل) جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. برداشت اندام‌های گیاهی در سال اول استقرار در مزرعه (۱۳۹۱)، طی یک دوره ۴۵ روزه از اواخر تیر تا اواسط شهریورماه انجام شد. در سال دوم (۱۳۹۲) برداشت طی یک دوره ۸ روزه در هفته دوم اردیبهشت‌ماه انجام شد. استخراج اسانس از ۸۰ گرم ماده گیاهی برای هر نمونه، به وسیله روش تقطیر با آب (دستگاه کلونجر) و رطوبت گیری با سولفات سدیم انجام گردید. برای هر نمونه، اسانس‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین بازده اسانس بدست آمد. در هر مرحله اسانس‌گیری، برای تعیین بازده اسانس بر اساس وزن خشک گیاه، درصد رطوبت گیاه محاسبه شد. اسانس‌گیری و ارزیابی کمّیت و کیفیت اسانس طی دو سال متوالی انجام شد.

### شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، برای دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌ها با دی‌کلرومتان رقیق و به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق شدند. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کواتس (با تزریق هیدروکربن های نرمال C9-C25 به GC در شرایط حرارتی ستون مشابه با نمونه) و مقایسه با شاخص‌های بازداری در منابع معتبر (Adams, 2004)، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها مورد شناسایی کمّی و کیفی قرار گرفتند. کتابخانه‌های Wiley version 1996 و TR version 2002 برای شناسایی ترکیب‌های مورد استفاده قرار گرفتند.

### مشخصات دستگاه‌های GC و GC/MS

GC مدل Thermo-UFM مجهز به ستون Ph-5 به طول ۱۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر مورد استفاده قرار گرفت.

برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از ۳ دقیقه ماندگاری در همان دما، به تدریج با سرعت ۸۰ درجه در دقیقه افزایش یافت تا به ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای محفظه تزریق و دتکتور (نوع FID) ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. هلیم به‌عنوان گاز حامل و با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد.

GC/MS مدل واریان ۳۴۰۰ مجهز به ستون DB-5 به‌طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بالاتر از دمای نهایی ستون در نظر گرفته شد. هلیم به عنوان گاز حامل و با سرعت جریان ۳۱/۵ سانتی‌متر در ثانیه مورد استفاده قرار گرفت. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۰۰ بود.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تعیین نقش هر یک از ترکیب های اسانس در تنوع بین جمعیت‌ها از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد. گروه‌بندی جمعیت‌ها از نظر ترکیب های اسانس به‌وسیله تجزیه خوشه‌ای به روش گروه‌های جفتی وزن نشده (UPGMA) و ماتریس فاصله تشابه گوور (Gower) انجام شد. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم‌افزار PAST (Hammer *et al*., 2001) انجام شد. توانمندی خوشه‌ها با استفاده از آزمون بوت‌استرپ با ۱۰۰۰ نمونه مدل محاسبه گردید.

## نتایج

بررسی‌های گیاه‌شناسی و همچنین تجزیه اسانس نشان داد که جمعیت‌ها از دو واریته مختلف هستند. دو جمعیت بویراحمد۱ و بویراحمد۲ متعلق به *N. kotschyi* var. *kotschyi* و بقیه جمعیت‌ها به *N. kotschyi* var. *persica* تعلق گرفتند. با توجه به داده‌های دو ساله حاصل از ارزیابی گیاهان، به‌طور کلی ۲۳ ترکیب در اسانس گونه *N. kotschyi* شناسایی شد. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در جمعیت‌های گوناگون این گونه براساس داده‌های سال دوم استقرار گیاهان در مزرعه، بین ۹ و ۱۳ ترکیب متغیر بود. بازده اسانس (وزنی/وزنی)، تعداد و درصد ترکیب های شناسایی شده در اسانس، به‌همراه شاخص بازداری ترکیب‌ها در جدول ۱ نشان داده شده‌است. بیشترین بازده اسانس در جمعیت‌های واریته *kotschyi* بدست آمد. همچنین، از جمعیت‌های واریته *persica*، دو جمعیت اردکان۳ و بهاباد از بازده اسانس قابل توجهی برخوردار بودند.

تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌ها را در دو دسته کلی ۱ و ۲ و دو زیر دسته ۲ الف و ۲ ب گروه بندی کرد (شکل ۱) و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صحت این گروه‌بندی را تأیید کرد (شکل ۲).

جدول ۱- بازده اسانس (وزنی/وزنی)، تعداد و درصد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس ۲۱ جمعیت گونه ***Nepeta kotschyi*** طی دو سال ارزیابی، به‌همراه شاخص بازداری ترکیب‌ها

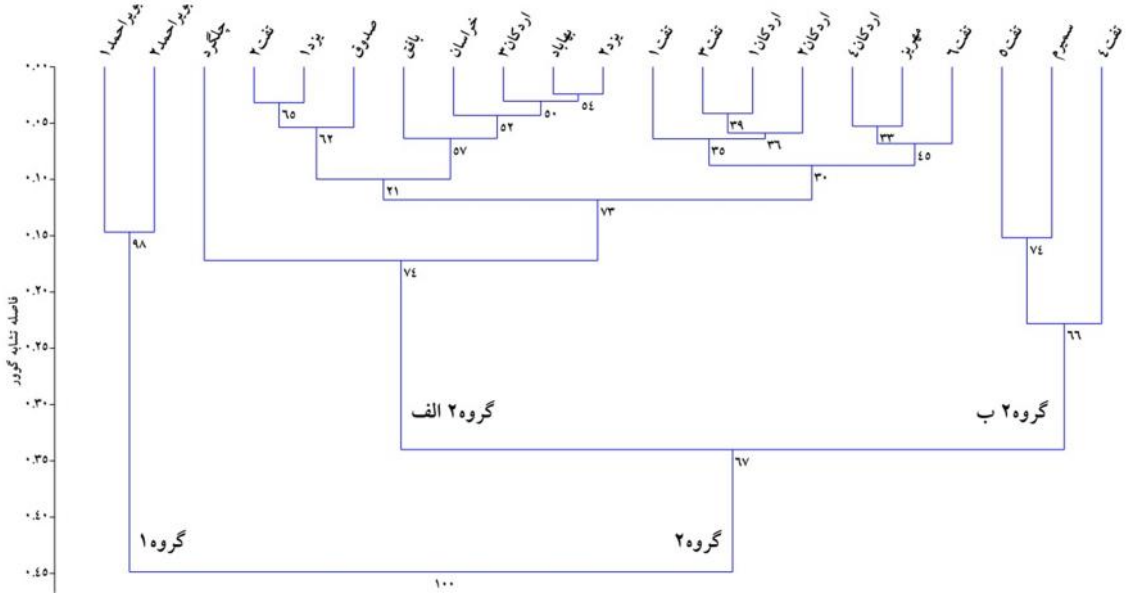
| | **sabinene** | | **β-pinene** | | **Myrcene** | | ***p*-cymene** | | **limonene** | | **1,8-cineole** | | ***γ*-terpinene** | | **linalool** | | **terpinene-4-ol** | | ***α*-terpineol** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاخص بازداری | ۹۷۴ | | ۹۷۸ | | ۹۹۱ | | ۱۰۲۵ | | ۱۰۲۹ | | ۱۰۳۱ | | ۱۰۵۸ | | ۱۰۹۸ | | ۱۱۷۶ | | ۱۱۸۸ | |
| جمعیت | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ |
| بویراحمد۱ | ۰/۵ | ۰/۳ | – | – | ۰/۲ | – | – | – | – | – | ۰/۴ | ۰/۴ | ۰/۳ | ۰/۲ | – | – | – | – | – | – |
| بویراحمد۲ | – | ۰/۲ | – | – | – | ۰/۱ | – | – | – | – | – | ۰/۴ | – | ۰/۲ | – | – | – | – | – | – |
| چلگرد | – | – | ۱/۵ | ۰/۸ | ۰/۷ | ۰/۴ | – | – | ۱/۶ | ۱/۴ | – | – | ۱/۰ | ۰/۶ | ۰/۴ | ۰/۸ | ۰/۶ | – | ۰/۳ | – |
| تفت۲ | – | – | ۱/۱ | ۰/۵ | ۰/۳ | ۰/۲ | – | – | ۱/۰ | ۰/۸ | – | – | ۰/۵ | ۰/۳ | ۰/۲ | ۰/۲ | – | – | – | – |
| یزد۱ | – | – | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۷ | – | – | ۱/۱ | – | – | ۰/۴ | ۰/۴ | ۰/۱ | ۰/۲ | – | – | – | – |
| صدوق | – | – | ۰/۶ | ۰/۵ | ۰/۲ | ۰/۲ | – | – | ۰/۹ | ۱/۳ | – | – | ۰/۴ | ۰/۷ | ۰/۱ | ۰/۳ | – | – | – | – |
| بافق | – | – | ۱/۲ | ۰/۸ | ۰/۳ | ۰/۲ | – | – | ۰/۸ | ۰/۵ | – | – | ۰/۵ | ۰/۳ | – | – | – | – | – | – |
| خراسان | – | – | ۰/۳ | ۰/۳ | ۰/۱ | ۰/۲ | ۰/۴ | – | – | ۰/۹ | – | – | ۰/۲ | ۰/۴ | ۰/۱ | ۰/۳ | – | – | – | – |
| اردکان۳ | – | – | ۰/۵ | ۰/۴ | ۰/۲ | ۰/۲ | – | – | ۰/۵ | ۰/۹ | – | – | ۰/۴ | ۰/۳ | – | ۰/۲ | – | – | – | – |
| بهاباد | – | – | ۰/۵ | ۰/۳ | ۰/۱ | ۰/۱ | ۰/۴ | – | – | ۰/۹ | – | – | ۰/۲ | ۰/۴ | – | ۰/۱ | – | – | – | – |
| یزد۲ | – | – | ۰/۶ | ۰/۴ | ۰/۲ | ۰/۱ | ۰/۵ | – | – | ۰/۹ | – | – | ۰/۳ | ۰/۳ | – | ۰/۲ | – | – | – | – |
| تفت۱ | – | – | ۰/۵ | ۰/۷ | ۰/۲ | ۰/۳ | – | – | ۰/۷ | ۱/۶ | – | – | ۰/۶ | ۰/۸ | – | ۰/۳ | ۰/۱ | – | – | – |
| تفت۳ | – | – | ۰/۸ | ۰/۹ | ۰/۳ | ۰/۳ | – | – | ۱/۲ | ۱/۱ | – | – | ۰/۷ | ۰/۷ | ۰/۲ | ۰/۳ | ۰/۱ | – | – | – |
| اردکان۱ | – | – | ۱/۱ | ۱/۰ | – | ۰/۴ | – | – | ۱/۰ | ۱/۲ | – | – | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۲ | ۰/۲ | – | – | ۰/۱ | – |
| اردکان۲ | – | – | ۰/۶ | ۱/۰ | ۰/۲ | ۰/۴ | – | – | ۰/۳ | ۱/۶ | – | – | ۰/۴ | ۰/۶ | ۰/۱ | ۰/۳ | ۰/۱ | – | – | – |
| اردکان۴ | – | – | ۰/۷ | ۰/۸ | ۰/۲ | ۰/۳ | – | – | ۰/۶ | ۱/۳ | – | – | ۰/۳ | ۰/۷ | ۰/۱ | ۰/۴ | – | – | – | – |
| مهریز | – | – | ۰/۷ | ۰/۸ | ۰/۲ | ۰/۳ | – | – | ۰/۹ | ۱/۱ | – | – | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۲ | ۰/۳ | – | – | – | – |
| تفت۶ | – | – | ۰/۸ | ۰/۶ | ۰/۲ | ۰/۳ | – | – | ۰/۷ | ۰/۷ | – | – | ۰/۵ | ۰/۴ | ۰/۲ | ۰/۲ | – | – | – | – |
| تفت۵ | ۰/۳ | – | ۳/۵ | ۱/۳ | ۱/۷ | ۱/۱ | ۱/۶ | – | – | ۱/۸ | – | – | – | ۰/۷ | ۰/۶ | ۰/۹ | – | – | – | ۳/۰ |
| سمیرم | – | – | ۰/۳ | ۰/۶ | ۰/۴ | ۰/۷ | – | – | ۰/۶ | ۱/۷ | – | – | – | ۰/۷ | ۰/۳ | ۱/۰ | ۱/۱ | – | – | ۲/۳ |
| تفت۴ | ۰/۳ | – | ۳/۴ | ۱/۱ | ۱/۹ | ۱/۹ | ۱/۹ | – | – | ۳/۲ | – | – | ۰/۰ | ۱/۳ | ۰/۷ | ۱/۱ | – | – | – | ۴/۴ |

ادامه جدول ۱-

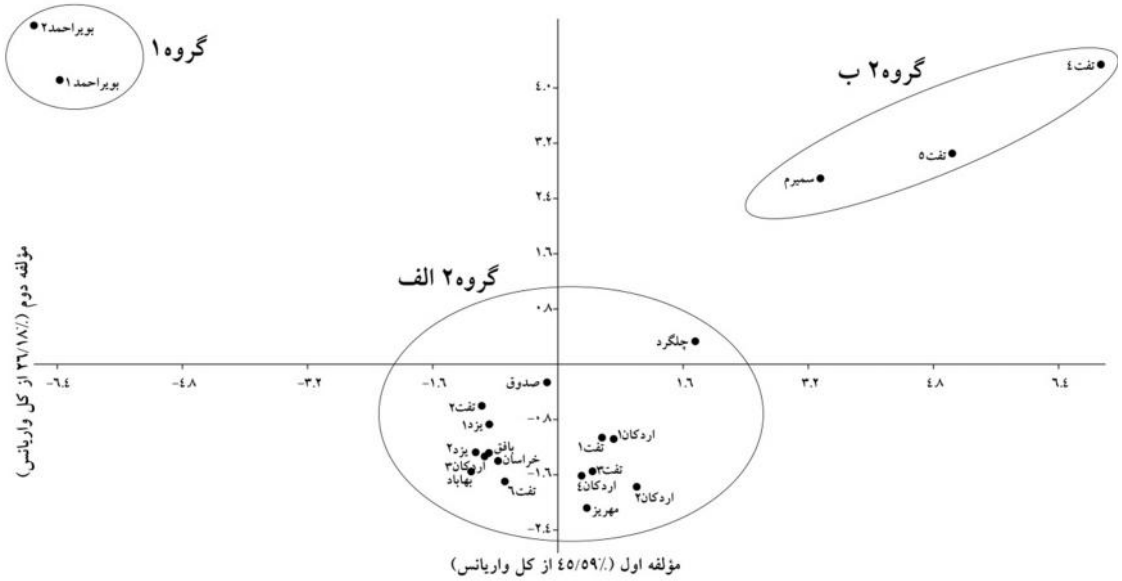
| | citronellol | | neral | | carvone | | 4aα,7α,7aα-nepetalactone | | neryl acetate | | geranyl acetate | | 4aα,7α,7aβ-nepetalactone | | 4aα,7β,7aα-nepetalactone | | E-β-farnesene | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاخص بازداری | ۱۲۲۶ | | ۱۲۳۸ | | ۱۲۴۳ | | ۱۳۶۰ | | ۱۳۶۲ | | ۱۳۸۱ | | ۱۳۸۷ | | ۱۳۹۲ | | ۱۴۵۷ | |
| جمعیت | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ |
| بویراحمد۱ | ۲/۲ | ۱/۹ | – | – | – | – | ۷۹/۰ | ۸۴/۰ | – | – | ۲/۲ | – | ۵/۰ | ۷/۰ | ۱/۹ | ۳/۳ | ۱/۷ | – |
| بویراحمد۲ | ۳/۷ | ۲/۳ | – | – | – | – | ۷۴/۶ | ۸۴/۸ | ۴/۲ | – | ۰/۷ | – | ۴/۴ | ۷/۴ | ۱/۶ | ۱/۳ | – | ۰/۳ |
| چلگرد | ۸/۰ | ۱۲/۳ | ۰/۸ | – | – | – | ۴۸/۴ | ۵۳/۹ | ۳/۴ | ۶/۸ | ۲/۱ | – | ۴/۱ | ۱۳/۷ | – | – | – | – |
| تفت۲ | ۴/۳ | ۴/۵ | – | ۰/۷ | ۰/۶ | – | ۷۱/۲ | ۷۹/۶ | ۳/۴ | – | ۱/۶ | – | ۳/۷ | ۸/۳ | – | – | – | – |
| یزد۱ | ۳/۳ | ۴/۵ | ۰/۴ | ۰/۷ | – | – | ۷۸/۰ | ۸۲/۴ | ۲/۶ | – | ۱/۲ | – | ۲/۲ | ۴/۷ | – | – | – | – |
| صدوق | ۳/۴ | ۵/۷ | ۰/۵ | ۰/۸ | – | – | ۶۸/۷ | ۷۸/۲ | ۳/۶ | – | ۱/۱ | – | ۱/۳ | ۵/۱ | – | – | – | – |
| بافق | ۴/۲ | ۳/۴ | ۰/۶ | ۰/۶ | – | – | ۶۲/۸ | ۶۷/۹ | ۳/۱ | ۶/۲ | ۱/۱ | ۲/۲ | ۴/۲ | ۱۱/۸ | – | – | – | – |
| خراسان | ۱/۵ | ۵/۰ | – | ۰/۷ | – | – | ۸۵/۹ | ۷۱/۲ | ۲/۰ | ۶/۱ | ۱/۷ | ۳/۲ | ۱/۶ | ۶/۱ | – | – | – | – |
| اردکان۳ | ۳/۵ | ۴/۱ | – | ۰/۶ | ۰/۴ | – | ۷۳/۵ | ۷۶/۱ | ۴/۰ | ۷/۱ | ۱/۵ | – | ۴/۰ | ۶/۸ | – | – | – | – |
| بهاباد | ۲/۴ | ۳/۵ | ۰/۳ | ۰/۵ | – | – | ۸۳/۶ | ۷۸/۴ | ۲/۱ | ۶/۹ | ۱/۰ | ۲/۱ | ۱/۸ | ۲/۳ | – | – | – | – |
| یزد۲ | ۳/۰ | ۳/۹ | ۰/۳ | ۰/۶ | – | – | ۸۰/۱ | ۷۸/۸ | ۲/۸ | ۶/۵ | ۱/۳ | ۲/۳ | ۲/۲ | ۲/۲ | – | – | – | – |
| تفت۱ | ۳/۰ | ۶/۵ | ۰/۴ | ۱/۱ | – | – | ۷۶/۰ | ۷۵/۰ | ۲/۷ | ۴/۸ | ۱/۴ | – | ۳/۷ | ۱/۰ | – | – | – | – |
| تفت۳ | ۴/۸ | ۶/۹ | ۰/۶ | ۱/۲ | – | – | ۶۶/۶ | ۷۰/۹ | ۳/۵ | ۶/۰ | ۱/۴ | – | ۲/۷ | ۰/۹ | – | – | – | – |
| اردکان۱ | ۴/۴ | ۶/۶ | – | ۱/۰ | ۰/۵ | – | ۶۷/۹ | ۶۰/۶ | ۳/۹ | ۵/۹ | ۱/۵ | – | ۳/۹ | ۷/۹ | – | – | – | – |
| اردکان۲ | ۳/۰ | ۹/۳ | – | ۱/۹ | ۰/۵ | – | ۶۵/۷ | ۶۵/۹ | ۴/۲ | ۵/۵ | ۱/۷ | – | ۳/۸ | ۱/۴ | – | – | – | – |
| اردکان۴ | ۳/۱ | ۵/۲ | – | ۱/۰ | ۰/۴ | – | ۷۰/۷ | ۷۲/۹ | ۲/۹ | ۵/۰ | ۱/۴ | – | ۴/۵ | ۱/۵ | – | – | – | – |
| مهریز | ۴/۳ | ۸/۲ | ۰/۵ | ۱/۳ | – | – | ۶۵/۷ | ۷۰/۰ | ۲/۷ | ۵/۳ | ۱/۳ | – | ۲/۶ | ۱/۳ | – | – | – | – |
| تفت۶ | ۳/۸ | ۵/۱ | ۰/۵ | ۰/۹ | – | – | ۷۶/۳ | ۷۴/۸ | ۲/۷ | ۳/۷ | ۱/۴ | – | ۲/۸ | ۴/۵ | – | – | – | – |
| تفت۵ | ۵/۰ | ۹/۶ | – | – | – | – | ۰/۵ | ۰/۳ | ۲/۰ | ۳/۵ | ۴/۳ | ۱۲/۹ | ۴/۵ | ۱۳/۴ | – | – | – | – |
| سمیرم | ۳/۵ | ۸/۳ | – | – | – | – | ۷/۹ | ۴/۹ | ۱/۱ | ۲/۵ | ۱/۴ | – | ۳/۶ | ۴۴/۷ | – | – | – | – |
| تفت۴ | ۵/۴ | ۹/۸ | – | – | – | – | ۱/۲ | ۴/۷ | ۱/۹ | ۱/۶ | ۵/۷ | ۴۶/۳ | ۴/۰ | – | – | – | – | – |

**ادامه جدول ۱-**

| | germacrene D | | γ-muurolene | | cubenol | | viridiflorol | | مجموع درصد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس | | تعداد ترکیب‌های اسانس | | درصد بازده اسانس (جزئی= کمتر از ۰/۰۵٪) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاخص بازداری | ۱۴۸۵ | | ۱۴۸۷ | | ۱۵۱۵ | | ۱۵۹۳ | | | | | | | |
| **جمعیت** | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ | سال۱ | سال۲ |
| **بویراحمد۱** | – | – | ۳/۰ | ۰/۲ | – | – | ۲/۱ | ۰/۹ | ۹۸/۵ | ۹۸/۱ | ۱۲ | ۹ | ۰/۴ | ۰/۵ |
| **بویراحمد۲** | – | – | – | ۰/۷ | – | – | – | ۰/۸ | ۸۹/۲ | ۹۸/۹ | ۶ | ۱۱ | ۰/۱ | ۰/۷ |
| **چلگرد** | ۰/۵ | – | – | – | ۱۷/۸ | ۴/۹ | – | – | ۹۱/۲ | ۹۵/۵ | ۱۵ | ۱۰ | ۰/۱ | ۰/۱ |
| **تفت۲** | ۲/۱ | ۰/۳ | – | – | ۶/۰ | ۲/۹ | – | – | ۹۶/۰ | ۹۸/۳ | ۱۳ | ۱۱ | ۰/۳ | ۰/۲ |
| **یزد۱** | ۳/۱ | ۰/۷ | – | – | ۴/۳ | ۳/۳ | – | – | ۹۷/۰ | ۹۸/۷ | ۱۳ | ۱۱ | ۰/۴ | ۰/۴ |
| **صدوق** | – | – | – | – | ۱۲/۰ | ۴/۳ | – | – | ۹۲/۸ | ۹۷/۱ | ۱۲ | ۱۰ | ۰/۲ | ۰/۲ |
| **بافق** | ۵/۱ | ۰/۵ | – | – | ۷/۳ | ۲/۲ | – | – | ۹۱/۱ | ۹۶/۷ | ۱۲ | ۱۲ | ۰/۲ | ۰/۲ |
| **خراسان** | ۱/۹ | ۰/۹ | – | – | ۲/۹ | ۲/۳ | – | – | ۹۸/۴ | ۹۷/۴ | ۱۲ | ۱۳ | ۰/۶ | ۰/۳ |
| **اردکان۳** | ۱/۶ | ۰/۴ | – | – | ۴/۲ | ۱/۴ | – | – | ۹۴/۳ | ۹۸/۶ | ۱۲ | ۱۲ | ۰/۴ | ۰/۴ |
| **بهاباد** | ۱/۸ | ۰/۸ | – | – | ۴/۰ | ۲/۳ | – | – | ۹۸/۳ | ۹۸/۷ | ۱۲ | ۱۳ | ۰/۵ | ۰/۵ |
| **یزد۲** | ۱/۸ | ۰/۴ | – | – | ۴/۶ | ۲/۴ | – | – | ۹۷/۶ | ۹۸/۹ | ۱۲ | ۱۳ | ۰/۴ | ۰/۴ |
| **تفت۱** | ۳/۰ | ۰/۳ | – | – | ۳/۴ | ۴/۷ | – | – | ۹۵/۸ | ۹۷/۰ | ۱۳ | ۱۲ | ۰/۵ | ۰/۲ |
| **تفت۳** | ۴/۴ | ۰/۶ | – | – | ۶/۱ | ۵/۴ | – | – | ۹۳/۵ | ۹۵/۱ | ۱۴ | ۱۲ | ۰/۳ | ۰/۲ |
| **اردکان۱** | ۱/۲ | ۰/۵ | – | – | ۹/۰ | ۷/۹ | – | – | ۹۵/۵ | ۹۳/۸ | ۱۳ | ۱۲ | ۰/۳ | ۰/۲ |
| **اردکان۲** | ۲/۷ | ۰/۵ | – | – | ۷/۲ | ۵/۱ | – | – | ۹۰/۶ | ۹۳/۴ | ۱۴ | ۱۲ | ۰/۳ | ۰/۲ |
| **اردکان۴** | ۲/۹ | ۱/۳ | – | – | ۷/۵ | ۶/۳ | – | – | ۹۵/۳ | ۹۶/۶ | ۱۳ | ۱۲ | ۰/۴ | ۰/۲ |
| **مهریز** | – | ۱/۶ | – | – | ۶/۶ | ۴/۹ | – | – | ۸۶/۲ | ۹۵/۶ | ۱۲ | ۱۲ | ۰/۴ | ۰/۲ |
| **تفت۶** | ۰/۹ | ۱/۴ | – | – | ۷/۱ | ۵/۲ | – | – | ۹۷/۹ | ۹۷/۷ | ۱۳ | ۱۲ | ۰/۳ | ۰/۳ |
| **تفت۵** | – | – | – | – | ۵۷/۱ | ۳۴/۲ | – | – | ۸۱/۰ | ۸۲/۷ | ۱۱ | ۱۲ | ۰/۱ | جزئی |
| **سمیرم** | – | ۰/۲ | – | – | ۴۲/۵ | ۱۸/۵ | – | – | ۶۲/۶ | ۸۶/۱ | ۱۱ | ۱۲ | ۰/۱ | جزئی |
| **تفت۴** | – | – | – | – | ۵۳/۶ | ۱۲/۶ | – | – | ۸۰/۱ | ۸۸/۰ | ۱۱ | ۱۱ | ۰/۱ | ۰/۲ |




شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای و روابط بین جمعیت‌های گونه ***Nepeta kotschyi***
براساس ترکیب‌های اسانس (ضریب کوفنتیک= ۰/۹۴)




شکل ۲- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و پراکنش جمعیت‌های گونه ***Nepeta kotschyi***
براساس مؤلفه‌های اصلی اول و دوم

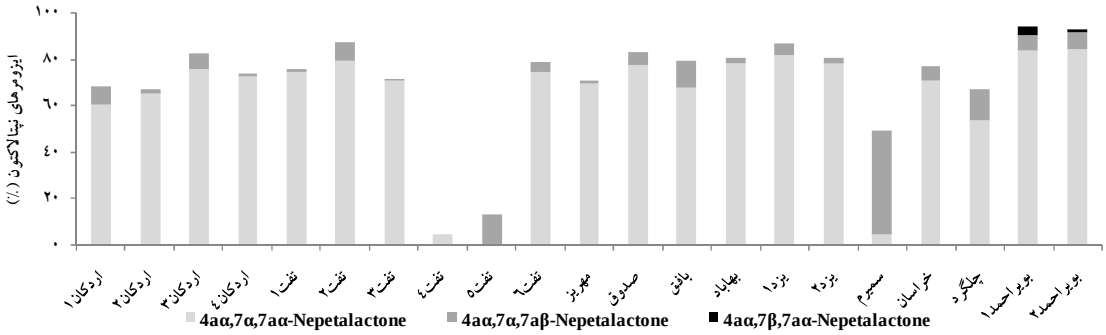
## بحث

ترکیب‌های شناسایی شده اسانس در دو سال اول استقرار گیاهان، به زمان‌های مختلف برداشت اندام‌های گیاهی ارتباط دارد. برداشت اندام‌های گیاهی برای سال اول در تابستان و برای سال دوم در بهار انجام شد. سال اول، دانهال‌های گلخانه‌ای در بهار به مزرعه منتقل و در تابستان برای برداشت آماده شدند، اما در سال دوم، گیاهان از اواخر اسفندماه شروع به رشد کرده و با قدرت رشدی قابل توجه،

در بهار برای برداشت آماده شدند. بنابراین تغییرات در برخی اجزای اسانس یا تعداد اجزای شناسایی شده اسانس و همچنین تغییرات در بازده اسانس طی دو سال، می‌تواند حکایت از زمان‌های مختلف برداشت داشته باشد. آنچه در این تحقیق حائز اهمیت است تمرکز بر روی داده‌های حاصل از ارزیابی های سال دوم استقرار گیاهان، به‌عنوان سال اصلی می‌باشد.

بررسی ترکیب‌های اسانس در سال دوم استقرار جمعیت‌های مورد مطالعه در مزرعه، حضور سه کموتایپ اصلی بر اساس ترکیب(های) غالب اسانس را در بین جمعیت‌های واریته *persica* نشان داد. کموتایپ‌ها شامل **a** حاوی نپتالاکتون I (۴a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-آلفا نپتالاکتون)، **b** حاوی نپتالاکتون II (۴a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-بتا نپتالاکتون) و کوبنول و **c** حاوی ژرانیل استات و کوبنول بودند. بجز جمعیت‌های سمیرم و تفت۵ (کموتایپ b) و تفت۴ (کموتایپ c)، بقیه جمعیت‌ها در کموتایپ a قرار گرفتند. جمعیت‌های واریته *kotschyi* نیز بر اساس ترکیب غالب اسانس در کموتایپ a جای گرفتند. در کموتایپ a میزان نپتالاکتون I از ۵۳/۹٪ (چلگرد) تا ۸۴/۸٪ (بویراحمد۲) و نپتالاکتون II از ۱٪ (تفت۱) تا ۱۳/۷٪ (چلگرد) متغیر بودند. در کموتایپ b میزان نپتالاکتون I از ۰/۳٪ (تفت۵) تا ۴/۹٪ (سمیرم) و نپتالاکتون II از ۱۳/۴٪ (تفت۵) تا ۴۴/۷٪ (سمیرم) اندازه‌گیری شدند. نپتالاکتون III (۴a-آلفا، ۷-بتا، ۷a-آلفا نپتالاکتون) (۳/۳٪-۱/۳) فقط در اسانس جمعیت‌های واریته *kotschyi* شناسایی شد. نتایج هر دو سال، با وجود متفاوت بودن زمان برداشت اندام‌های گیاهی، گروه‌بندی کموتایپ‌ها را مطابق آنچه ذکر شد در بین جمعیت‌های مورد مطالعه تأیید کرد.

شکل ۳ نشان می‌دهد که هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق در مقایسه با یکدیگر از نظر میزان کلی نپتالاکتون و ایزومرهای شناسایی شده آن به‌تفکیک، در چه وضعیتی قرار دارند.




**شکل ۳- مجموع درصد ایزومرهای نپتالاکتون در اسانس ۲۱ جمعیت گونه *Nepeta kotschyi***

ترکیب‌هایی مانند نپتالاکتون III، ویریدیفلورول، گاما-مورولن، E-بتا-فارنزن و ۸،۱-سینئول منحصراً در اسانس جمعیت‌های واریته *kotschyi* شناسایی شدند. در حالیکه ترکیب‌هایی مانند بتا-پینن، لیمونن، لینالول، نرال، ترپینن-۴-اُل، پارا-سیمن، آلفا-ترپینئول، کوبنول و جرماکرینD فقط در اسانس جمعیت‌های واریته *persica* مورد شناسایی قرار گرفتند.

در تجزیه خوشه‌ای (شکل ۱)، دو گروه اصلی اول شامل جمعیت‌های واریته *kotschyi* و گروه دوم شامل جمعیت‌های واریته *persica* بدست آمد. علاوه‌بر این، گروه دوم به دو زیرگروه الف و ب تفکیک شد. جمعیت‌های زیرگروه الف به کموتایپ a و جمعیت‌های زیرگروه ب به دو کموتایپ دیگر (تفت۵ و سمیرم در کموتایپ b و تفت۴ در کموتایپ c) تعلق گرفتند. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس

همبستگی بین اجزای اسانس (شکل ۱)، دو مؤلفه اول و دوم در مجموع ۷۱/۷۷٪ از تنوع موجود را بین جمعیت‌های مورد بررسی توجیه کرد. مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در مؤلفه اول نشان داد که ترکیب‌های لیمونن، گاما-ترپینن، لینالول، بتا-پینن و میرسن بیشترین سهم از تنوع بین جمعیت‌ها را داشتند. همچنین، ترکیب‌های نرال، جرماکرینD، ۸،۱-سینئول، ویریدیفلورول و سابینن، بیشترین سهم از تنوع مرتبط با مؤلفه دوم را دارا بودند. البته تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تأیید کرد.

با توجه به غالب بودن جزء نپتالاکتون اسانس در جمعیت‌های کموتایپ a و همچنین بالا بودن مقادیر آن، این جمعیت‌ها از اهمیت به‌نژادی خاصی برخوردارند. پژوهش‌های انجام شده در ایران بر روی ترکیب اسانس گونه‌های مختلف جنس پونه‌سا، حضور نپتالاکتون I در گونه‌های *N. persica* (Mahboubi *et al*., 2011)، *N. racemosa* (Dabiri & Sefidkon, 2003b؛ Rustaiyan *et al*., 2000a)، *N. cataria* (Safaei-Ghomi *et al*., 2009)، *N. cephalotes* (Sefidkon & Jamzad, 2007؛ Rustaiyan *et al*., 2000b)، *N. mirzayanii* (Sefidkon & Jamzad, 2007)، *N. crassifolia* (Morteza-Semnani & Saeedi, 2004؛ Dabiri & Sefidkon, 2003a؛ Matloubi Moghaddam & Hosseini, 1996)، *N. mahanensis* (Sefidkon *et al*., 2006)، *N. crispa* (Sefidkon *et al*., 2006؛ Sonboli *et al*., 2004)، *N. eremophila* و *N. rivularis* (Sefidkon & Rustaiyan & Nadji, 2006)، *N. binaludensis* (Sonboli *et al*., 2009)، *N. menthoides* (Esmaeili *et al*., 2006)، *N. meyeri* (Sefidkon & Shaabani, 2004) و *N. heliotropifolia* (Rustaiyan *et al*., 2006) را نشان می‌دهد. طبق گزارش Dabiri و Sefidkon (۲۰۰۳a)، بیشترین مقدار این نوع ایزومر نپتالاکتون، در گونه *N. crassifolia* (۹۲/۶٪) و طبق گزارش Sonboli و همکاران (۲۰۰۴)، کمترین مقدار آن، در گونه *N. crispa* (۰/۱٪) مشاهده شده است.

همچنین، حضور نپتالاکتون II در گونه‌های *N. persica* (Dabiri & Sefidkon, 2003b؛ Rustaiyan *et al*., 2000a)، *N. racemosa* (Sefidkon & Akbarinia, 2003)، *N. pogonosperma* (Safaei-Ghomi *et al*., 2009)، *N. cataria* (Matloubi Moghaddam & Hosseini, 1996)، *N. crassifolia* (Sefidkon *et al*., 2006)، *N. crispa* (Sonboli *et al*., 2004)، *N. meyeri* (Esmaeili *et al*., 2006؛ Sefidkon & Shaabani, 2004)، *N. heliotropifolia* (Rustaiyan *et al*., 2006) و *N. sintenisii* (Sajjadi, 2005) بیان شده‌است. طبق گزارش Esmaeili و همکاران (۲۰۰۶)، بیشترین مقدار این نوع ایزومر نپتالاکتون، در گونه *N. meyeri* (۶۸/۱٪) و طبق گزارش Sajjadi (۲۰۰۵)، کمترین مقدار آن، در گونه *N. sintenisii* (۱/۶٪) مشاهده شده‌است.

میزان نپتالاکتون III در گونه‌های *N. cataria* و *N. crassifolia* (Morteza-Semnani & Saeedi, 2004) و *N. betonicifolia* (Salehi *et al*., 2012)، به‌ترتیب ۱۱/۹٪، ۸۱/۱٪ و ۴۲٪ گزارش شد. در پژوهش حاضر بر روی گونه *N. kotschyi*، این نوع ایزومر نپتالاکتون فقط در جمعیت‌های بویراحمد۱ و بویراحمد۲ از واریته *kotschyi* (به‌ترتیب ۳/۲۶٪ و ۱/۲۷٪) شناسایی شد.

مقایسه نتایج بدست‌آمده با گزارش قبلی ترکیب اسانس این گیاه (Nori-Shargh *et al*., 2006)، نشان‌دهنده تفاوت‌هایی است که می‌تواند ناشی از شرایط محیطی رویشگاه، تفاوت در روش استخراج اسانس و سایر عوامل باشد. طبق گزارش Nori-Shargh و همکاران (۲۰۰۶)، ترکیب عمده اسانس گونه *N. kotschyi* (با منشأ لرستان) a۴-بتا، ۷-آلفا و a۷-آلفا نپتالاکتون (۹۲٪) ذکر شده است. در حالیکه در پژوهش حاضر، نه‌تنها این ایزومر مشاهده نشد، بلکه نپتالاکتون I به‌عنوان جزء غالب اسانس در گونه یادشده مورد شناسایی قرار گرفت.

با توجه به اینکه در گزارشهای موجود در مورد ترکیب اسانس گونه‌های مختلف پونه‌سا در ایران، از اندام‌های گیاهی جمع‌آوری شده از طبیعت استفاده شده، از این‌رو نتایج حاصل، همواره متأثر از عوامل طبیعی رویشگاه بوده‌است. به‌منظور استفاده از گیاه در صنایع گوناگون به‌ویژه صنایع دارویی، کمّیت و کیفیت اسانس باید مشخص و ثابت باشد. از این‌رو، باید پس از طی کردن مراحل به‌نژادی به کشت گیاه مورد نظر در شرایط اقلیمی خاص پرداخت و بدین‌ترتیب از وضعیت تولید و ترکیب اسانس در شرایط اقلیمی مورد نظر به میزان زیادی اطمینان حاصل کرد. نتایج این تحقیق در مورد گونه *N. kotschyi*، در حالی بدست آمد که جمعیت‌های مورد بررسی در یک محل کشت شدند. بنابراین با حذف یا کم اثر کردن عوامل محیطی از آزمایش، می‌توان داده‌های حاصل را ناشی از قابلیت ژنتیک جمعیت‌های گونه مورد بررسی در شرایط اقلیمی محل کشت‌شان دانست. از این‌رو با توجه به داده‌های دو سال اول استقرار گیاهان در مزرعه، در همین زمان هم می‌توان تا میزان قابل ملاحظه‌ای به وضعیت تولید و ترکیب اسانس آنها اطمینان داشت.

## سپاسگزاری

از سرکار خانم دکتر زیبا جم‌زاد به‌دلیل تأیید گیاه‌شناسی گونه و واریته‌های موجود در بین جمعیت‌های مورد مطالعه قدردانی می‌شود.

## منابع مورد استفاده

- Adams, R.P., 2004. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corp., Carol Stream, USA, 456p.
- Akbay, P., Calis, I., Ündeger, Ü., Basaran, N. and Basaran, A.A., 2002. In vitro immunomodulatory activity of verbascoside from *Nepeta ucrainica* L. Phytotherapy Research, 16(6): 593-595.
- Aydin, S., Demir, T., Ozturk, Y. and C. Baser, K.H., 1999. Analgesic activity of *Nepeta italica* L. Phytotherapy Research, 13: 20-23.
- Bernath, J., 2002. Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. Acta Horticulture, 576: 233-238.
- Dabiri, M. and Sefidkon, F., 2003a. Chemical composition of *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse oil from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 18(3): 225-227.
- Dabiri, M. and Sefidkon, F., 2003b. Chemical composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 18(2): 157-158.
- Esmaeili, A., Rustaiyan, A., Masoudi, S. and Nadji, K., 2006. Composition of the essential oils of *Mentha aquatica* L. and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(3): 263-265.
- Formisano, C., Rigano, D. and Senatore, F., 2011. Chemical constituents and biological activities of *Nepeta* species. Chemistry and Biodiversity, 8(10): 1783-1818.
- Ghannadi, A., Aghazari, F., Mehrabani, M., Mohagheghzadeh, A. and Mehregan, I., 2003. Quantity and composition of the SDE prepared essential oil of *Nepeta macrosiphon* Boiss. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2(2): 103-105.
- Gkinis, G., Tzakou, O., Iliopoulou, D. and Roussis, V., 2003. Chemical composition and biological activity of *Nepeta parnassica* oils and isolated nepetalactones. Zeitschrift für Naturforschung, 58(-10): 681-686.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. and Ryan, P.D., 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica, 4(1): 1-9.
- Hussain, J., Jamila, N., Gilani, A., Abbas, G. and Ahmed, S., 2009. Platelet aggregation, antiglycation, cytotoxic, phytotoxic and antimicrobial activities of extracts of *Nepeta juncea*. African Journal of Biotechnology, 8(6): 935-940.
- Hussain, J., Ullah Khana, F., Ullah Khan, I., Ullah, R., Muhammad, Z., Khan, N., Hussain, T., Ullah, M., Rahim, H. and Ullah Khan, A., 2010. Antifungal and immunomodulatory potential of *Nepeta suavis*. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 7(6): 689-692.
- Javidnia, K., Miri, R., Safavi, F., Azarpira, A. and Shafiee, A., 2002. Composition of the essential oil of *Nepeta persica* Boiss. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 17(1): 20-22.
- Kahkeshani, N., Razzaghirad, Y., Ostad, S.N., Hadjiakhoondi, A., Shams Ardekani, M.R.,

- Nemeth, E., Bernath, J. and Hethelyi, E., 2000. Chemotypes and their stability in *Achillea crithmifolia* populations. Journal of Essential Oil Research, 12: 53-58.
- Nori-Shargh, D., Baharvand, B. and Deyhimi, F., 2006. The volatile constituents analysis of *Nepeta kotschyi* Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(3): 237-238.
- Rabbani, M., Sajjadi, S.E. and Mohammadi, A., 2008. Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (eCAM), 5(2): 181-186.
- Rustaiyan, A., Jamzad, M., Masoudi, S. and Ameri, N., 2006. Volatile constituents of *Nepeta heliotropifolia* Lam., *Mentha mozaffarianii* Jamzad and *Ziziphora persica* Bunge. three Labiatae herbs growing wild in Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(3): 348-351.
- Rustaiyan, A., Khosravi, M., Larijany, K. and Masoudi, S., 2000a. Composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 12(2): 151-152.
- Rustaiyan, A., Komeilizadeh, H., Monfared, A., Nadji, K., Masoudi, S. and Yari, M., 2000b. Volatile constituents of *Nepeta denudata* Benth. and *N. cephalotes* Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 12(4): 459-461.
- Rustaiyan, A. and Nadji, K., 1999. Composition of the essential oils of *Nepeta ispahanica* Boiss. and *Nepeta binaludensis* Jamzad from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 14(1): 35-37.
- Safaei-Ghomi, J., Djafari-Bidgoli, Z. and Batooli, H., 2009. Volatile constituents analysis of *Nepeta cataria* from central Iran. Chemistry of Natural Compounds, 45(6): 913-915.
- Sajjadi, E., 2005. Analysis of the essential oil of *Nepeta sintenisii* Bornm. from Iran. Daru, 13(2): 61-64.
- Salehi, P., Sonboli, A., Khaligh, P. and Mirzajani, F., 2012. Essential oil composition and antioxidant activity of different extracts of *Nepeta betonicifolia* C.A. Meyer and *Nepeta saccharata* Bunge. Flavour and Fragrance Journal, 26(8): 736-743.
- Schultz, G., Simbro, E., Belden, J., Zhu, J. and Coats, J., 2004. Catnip, *Nepeta cataria* (Lamiales: Lamiaceae)- a closer look: seasonal occurrence of nepetalactone isomers and comparative repellency of three terpenoids to insects. Environmental Entomology, 33(6): 1562-1569.
- Sefidkon, F. and Akbarinia, A., 2003. Essential oil composition of *Nepeta pogonosperma* Jamzad et assadi from Iran. Journal of Essential Oil Research, 15(5): 327-328.
Hajimehdipoor, H., Attar, H., Samadi, M., Jovel, E. and Khanavi, M., 2014. Cytotoxic, acetylcholinesterase inhibitor and antioxidant activity of *Nepeta menthoides* Boiss & Buhse essential oil. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17(4): 544-552.
- Kraujalis, P., Venskutonis, P.R. and Ragazinskiene, O., 2011. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from *Nepeta* plant species. Foodbalt, 79-83.
- Mahboubi, M., Kazempour, N., Ghazian, F. and Taghizadeh, M., 2011. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Nepeta persica* Boiss. essential oil. Herbapolonica, 57(1): 62-71.
- Matloubi Moghaddam, F. and Hosseini, M., 1996. Composition of the essential oil from *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse. Flavour and Fragrance Journal, 11(2): 113-115.
- Miceli, N., Taviano, M.F., Giuffrida, D., Trovato, A., Tzakou, O. and Galati, E.M., 2005. Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Bentham. Journal of Ethnopharmacology, 97(2): 261-266.
- Mojab, F., Nickavar, B. and Hooshdar Tehrani, H., 2009. Essential oil analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 5(1): 43-46.
- Monavari, S.H.R., Shamsi Shahrabadi, M., Vahabpour, R. and Azizi, M., 2011. The effects of the anti-viral of *Nepeta pungens* on measles virus in laboratory environment. Ofogh-e-Danesh, 17(1): 27-33.
- Morteza-Semnani, K. and Saeedi, M., 2004. Essential oils composition of *Nepeta cataria* L. and *Nepeta crassifolia* Boiss. and Buhse from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 7(2): 120-124.
- Mozaffarian, V., 1996. Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, 740p.
- Mozaffarian, V., 2013. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser, Tehran, 1444p.
- Mutlu, S. and Atici, O., 2009. Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. Acta Physiologiae Plantarum, 31: 89-93.
- Nadjafi, F., Koocheki, A., Honermeier, B. and Asili, J., 2009. Autecology, ethnomedicinal and phytochemical studies of *Nepeta binaludensis* Jamzad a highly endangered medicinal plant of Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 12(1): 97-110.

- Sefidkon, F., Dabiri, M. and Alamshahi, A., 2002. Analysis of the essential oil of *Nepeta fissa* C.A. Mey from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 17(2): 89-90.
- Sefidkon, F. and Jamzad, Z., 2007. Essential oil composition of four Iranian *Nepeta* species (*N. cephalotes*, *N. bornmuelleri*, *N. mirzayanii* and *N. bracteata*). Journal of Essential Oil Research, 19(3): 262-265.
- Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Mirza, M., 2006. Chemical composition of the essential oil of five Iranian *Nepeta* species (*N. crispa*, *N. mahanensis*, *N. ispahanica*, *N. eremophila* and *N. rivularis*). Flavour and Fragrance Journal, 21(5): 764-767.
- Sefidkon, F. and Shaabani, A., 2004. Essential oil composition of *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 19(3): 236-238.
- Sonboli, A., Gholipour, A., Yousefzadi, M. and Mojarrad, M., 2009. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Nepeta menthoides* from Iran. Natural Product Communications, 4(2): 283-286.
- Sonboli, A., Salehi, P. and Allahyari, L., 2005. Essential oil composition of *Nepeta involucrata* from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 41(6): 683-685.
- Sonboli, A., Salehi, P. and Yousefzadi, M., 2004. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. from Iran. Zeitschrift fur Naturforschung C, 59c: 653-656.
- Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A.S., Polissiou, M. and Sokmen, A., 2007. Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. Food Chemistry, 103: 1358-1364.
- Zhu, J.J., Berkebile, D.R., Dunlap, C.A., Zhang, A., Boxler, D., Tangtrakulwanich, K., Behle, R.W., Baxendale, F. and Brewer, G., 2011. Nepetalactones from essential oil of *Nepeta cataria* represent a stable fly feeding and oviposition repellent. Medical and Veterinary Entomology, 26: 131-138.
- Zomorodian, K., Saharkhiz, M.J., Rahimi, M.J., Shariatifard, S., Pakshir, K. and Khashei, R., 2013. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil of *Nepeta cataria* L. against common causes of oral infections. Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, 10(4): 329-337.

# Essential oil diversity of 21 populations from Iranian endemic species *Nepeta kotschyi* Boiss.

**N. Hadi[1], F. Sefidkon[2*], A. Shojaeiyan[3] and A.A. Jafari[4]**

1- Ph.D. Student, Agriculture College, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2*- Corresponding Author, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: sefidkon@rifr-ac.ir
3- Horticulture Department, Agriculture College, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
4- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: November 2014 Revised: January 2015 Accepted: January 2015

## Abstract

The genus *Nepeta* is one of the largest genera of the Lamiaceae family, and Iran, particularly, is one of the main centers of origin of this genus. Nepetalactones and flavonoids were reported as major constituents of *Nepeta* species, and the main cause of their medicinal value and biological properties. There are lots of reports related to biological activities of secondary metabolites of genus *Nepeta* showing the importance of this genus. In this work, the essential oil (EO) diversity of 21 wild populations from *Nepeta kotschyi* Boiss., Iranian endemic species, was investigated. For removing the environmental effect, the seeds of populations were planted in one place. Plant aerial parts were harvested at full flowering stage, and after shade-drying, their EO was extracted by hydrodistillation method. EO was quantitatively and qualitatively analyzed by GC and GC/MS. After botanical study and EO analysis, it was revealed that the populations were from two different varieties. Two populations including buyer-ahmad1 and Buyer-Ahmad2, were from *N. kotschyi* var. *kotschyi*, and others were stood in *N. kotschyi* var. *persica*. Twenty-four components were characterized in the EO of *N. kotschyi*. The highest amount of EO yield (w/w) was obtained in populations of var. kotschyi (0.5-0.7%). Three main chemotypes were identified among populations of var. persica based on the main component(s) of EO, including **a** containing NepI (4a$\alpha$,7$\alpha$,7a$\alpha$-nepetalactone), **b** containing NepII (4a$\alpha$,7$\alpha$,7a$\beta$-nepetalactone) and cubenol, and **c** containing geranyl acetate and cubenol. Except of semirom and Taft5 which were stood in b-chemotype, and Taft4 which was placed in c-chemotype, other populations of var. persica, also populations of var. kotschyi, were stood in a-chemotype. In addition, based on the main component of EO, the populations of var. kotschyi were put in a-chemotype. In a-chemotype, the amount of NepI was obtained between %53.9 (Chelgard) and %84.8 (Buyer-Ahmad2), and NepII was measured between %1 (Taft1) and %13.7 (Chelgard). In b-chemotype, the amount of NepI was measured between %0.3 (Taft5) and %4.9 (Semirom), and NepII was obtained between %13.4 (Taft5) and 44.7% (Semirom). NepIII (4a$\alpha$,7$\beta$,7a$\alpha$-nepetalactone) (1.3-3.3%) was characterized only in the EO of var. *Kotschyi* populations.

**Keywords:** *Nepeta kotschyi* var. *kotschyi*, *Nepeta kotschyi* var. *persica*, essential oil, nepetalactone, chemotype.