مقاله پژوهشی

Research Article

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۹، شماره ۲، صفحه ۱۸۷-۱۷۵ (۱۴۰۲)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2021.354805.3002
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1402.39.2.2.9

بررسی کمّی وکیفی اسانس *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse در رویشگاه‌های طبیعی و شرایط مزرعه در استان آذربایجان‌شرقی

آذر رفعتی[1]، نگار ولی‌زاده[2]*، فاطمه سفیدکن[3]، یوسف ایمانی[4] و فرید نورمند مؤید[5]

۱- کارشناس ارشد، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان‌شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان‌شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، پست الکترونیک: n.valizadeh@rifr-ac.ir

۳- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- مربی، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان‌شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران

۵- استادیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان‌شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۰ تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۰

چکیده

پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse) از خانواده Lamiaceae، گونه‌ای معطر با خاصیت دارویی بوده که بومی و انحصاری ایران است. برای اجرای این تحقیق، بذرها و اندام‌های هوایی این گیاه از شش منطقه مختلف در استان آذربایجان‌شرقی جمع‌آوری گردید. اندام‌های هوایی پس از خشک شدن به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شده و ترکیب‌های موجود در آنها توسط دستگاه‌های GC و GC/MS شناسایی شدند. همچنین در سال بعد، بذرهای جمع‌آوری شده، پس از نشاء در گلخانه، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه کشت شدند. در سال دوم سرشاخه‌های گلدار برداشت و پس از خشک شدن، اسانس‌گیری شدند. بررسی کمّی اسانس نمونه‌های رویشگاه‌های طبیعی و مزرعه نشان داد که درصد اسانس در نمونه‌های رویشگاه طبیعی با همدیگر اختلاف معنی‌داری داشته و بیشترین مقدار اسانس متعلق به منطقه مرند بود، در حالی که اسانس‌های بدست آمده از نمونه‌های کشت‌شده در مزرعه با همدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. نتایج ارزیابی‌ها بیانگر این بود که ترکیب‌های نپتالاکتون I (4aα, 7α, 7aα) و II (4aα, 7α, 7aβ)، گلوبولول، جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید و ۸،۱-سینئول اجزای اصلی اسانس *N. crassifolia* را تشکیل داده و بیشترین مقدار نپتالاکتون های I و II در شرایط رویشگاه طبیعی (به‌ترتیب ۶۹٪ و ۲۱/۷٪) و مزرعه (به‌ترتیب ۲۷/۳٪ و ۵۱/۵٪)، متعلق به منطقه میشو در مرند بوده‌است. گیاهان منطقه سراب نیز در شرایط رویشگاه طبیعی و مزرعه در مقایسه با سایر نمونه‌ها بیشترین میزان نپتالاکتون II را به خود اختصاص داده و بالاترین مقدار ترکیب ۸،۱-سینئول (۲۱/۸٪) در اسانس نیز از نمونه گیاهی رویشگاه طبیعی منطقه خریل بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse)، اسانس، نپتالاکتون، کاریوفیلن اکساید، ۸،۱-سینئول.

مقدمه

انعطاف‌پذیری ژنتیکی گونه‌های گیاهی سبب تنوع و تغییر تدریجی آنها از نظر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و در نهایت ژنتیکی در مناطق مختلف جغرافیایی شده و

Copyright: © 2023 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

جمعیت‌های یک گونه را به‌وجود آورده است. ازاین‌رو اولین قدم در اهلی‌سازی گیاهان دارویی، تحقیق و بررسی ویژگی‌های مختلف ژنتیکی، شیمیایی و تولیدی است که در نهایت منجر به شناسایی جمعیت‌های برتر می‌گردد (Bernath, 2002). گونه *Nepeta crassifolia* یا پونه‌سای البرزی گیاهیست چند ساله که جزء گونه‌های انحصاری جنس *Nepeta* در ایران می‌باشد (Jamzad, 2013). خواص دارویی گونه‌های نپتا معمولاً به اسانس و فلاونوئیدهای موجود در آنها مربوط بوده و در داروهای سنتی بسیاری از کشورها به‌عنوان مدر، معرق، بهبوددهنده زخم، ضد سرفه، ضد تشنج و اسپاسم، نیروبخش، تب‌بر، مسکن و ضدعفونی کننده استفاده می‌شوند (Ghannadi *et al.*, 2003؛ Adiguzal *et al.*, 2009؛ Sarikurkcu *et al.*, 2019). در گیاهان دارویی و معطر، اسانس‌ها مخلوطی از ترکیب‌های فرّار و روغن‌های اسانسی هستند که به‌عنوان یک متابولیت ثانویه در آنها تولید شده و ساختار شیمیایی اسانس‌ها با توجه به ژنتیک گیاه، تنوع جغرافیایی، محل رشد گیاه، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، آب و هوا، ارتفاع از سطح دریا و میزان بارندگی تغییر می‌یابد (Karimian *et al.*, 2017). بنابراین کمّیت و کیفیت مواد مؤثره یک گیاه در رویشگاه‌های مختلف متفاوت است و همبستگی بالایی بین منشأ جغرافیایی گیاهان و مواد مؤثره وجود دارد (Omidbaigi, 2000؛ Bertome *et al.*, 2007؛ Andrade *et al.*, 2011). تجزیه فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف جنس نپتا، حضور نپتالاکتون‌ها، فلاونوئیدها (Formisano *et al.*, 2011) و اسیدهای فنولیک (Mišić *et al.*, 2015) را نشان می‌دهد. ترکیب‌های ترپنی مانند ۸،۱-سینئول، سیترونلول و لینالول نیز در اسانس برخی گونه‌ها مشاهده شده‌است (Karaman & Comlekciogolu, 2007). در اسانس *N. crassifolia* ترکیب نپتالاکتون I (4aα, 7α, 7aα) به مقدار ۹۲/۶٪ گزارش شده‌است (Dabiri & Sefidkon, 2003).

نتایج پژوهش Hadi و همکاران (۲۰۱۶a)، بر روی ۲۱ جمعیت وحشی گونه *N. kotschyi* Boiss. بیانگر تنوع فیتوشیمیایی قابل ملاحظه‌ای بین جمعیت‌ها بوده و نپتالاکتون‌های I و II با مقادیر متفاوت در بیشتر جمعیت‌ها جزء غالب اسانس تشخیص داده شدند، اما نپتالاکتون III (4aα, 7β, 7aα) منحصراً در *N. kotschyi* var. *persica* مشاهده شد. در گزارشی ترکیب عمده اسانس گونه *N. kotschyi* با منشأ لرستان، نپتالاکتون I ذکر شده است (Nori-Shargh *et al.*, 2006). در پژوهشی دیگر، کمّیت و کیفیت اسانس ۱۲ توده از گونه‌های ایرانی پونه‌سا (*N. crassifolia*، *N. menthoides* و *N. cataria*)، کشت شده در مزرعه مطالعه شد. بیشترین بازده اسانس (۵/۲٪) به توده مرکزی از *N. cataria* تعلق گرفت و بیشترین مقدار نپتالاکتون I نیز به گونه *N. crassifolia* متعلق بود. همچنین در گونه *N. crassifolia*، سه ترکیب نپتالاکتون I، ۸،۱-سینئول و نپتالاکتون II به‌عنوان ترکیب‌های غالب اسانس گزارش شدند (Hadi *et al.*, 2016b).

این تفاوت‌ها در کمّیت و کیفیت اسانس گونه‌های جنس نپتا نشان‌دهنده تأثیر شرایط رویشگاه، موقعیت گیاه و سایر عوامل اقلیمی می‌باشد. با توجه به اینکه بسیاری از تحقیقات موجود در مورد ترکیب اسانس گونه‌های مختلف پونه‌سا در شرایط رویشگاه طبیعی بوده است، ازاین‌رو نتایج حاصل، همواره متأثر از عوامل طبیعی در رویشگاه بوده و هر گونه تغییر در این عوامل موجب تغییر عملکرد کمّی و کیفی گیاه می‌شود. بنابراین بررسی دقیق جنبه‌های شیمیایی، ژنتیک، اکوفیزیولوژیک و مشخص کردن ظرفیت متفاوت تولید متابولیت ثانویه ژنوتیپ‌های گوناگون گونه گیاهی مورد نظر در مناطق مختلف بسیار حائز اهمیت است. این تحقیق با بررسی‌های کمّی و کیفی اسانس گیاه پونه‌سای البرزی در شرایط رویشگاه طبیعی و مزرعه، به منظور انتخاب ژنوتیپ مناسب برای ورود به عرصه کشت و اهلی‌سازی و در نهایت معرفی گونه مذکور به سیستم‌های کشاورزی برای تولید منابع اولیه مورد اطمینان برای صنایع تبدیلی همانند داروسازی، بهداشتی و غذایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

مراحل اجرای این تحقیق به‌منظور شناسایی ژنوتیپ برتر

پونه‌سای البرزی (*N. crassifolia*) به شرح زیر بود.

جمع‌آوری و پرورش نمونه‌های گیاهی

بیشترین پراکنش گیاه *N. crassifolia* در استان آذربایجان‌شرقی، در منطقه ارسباران بوده و به‌غیر از ارسباران در چندین منطقه از استان نیز پراکنش دارد. در فصل رویش و گلدهی که از نیمه دوم اردیبهشت تا نیمه دوم خرداد است، اندام هوایی گیاه از تمامی رویشگاه‌های آن در استان یعنی شش منطقه در سه تکرار جمع‌آوری و سپس در محل سایه و به دور از آفتاب خشک شد (جدول ۱ و شکل ۱).

شکل ۱- موقعیت جغرافیایی رویشگاه‌های مختلف پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***) واقع در استان آذربایجان شرقی

Figure 1. Geographical location of different *Nepeta crassifolia* habitats located in East Azarbaijan province

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مختلف پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***) واقع در استان آذربایجان شرقی

Table 1. Characteristics of different *Nepeta crassifolia* habitats located in East Azerbaijan province

Habitat	Altitude (m)	Longitude	Latitude
Marand, Misho Daghi, after Yam village	2036-2050	38° 19′ 33″ N	45° 37′ 14″ E
Arsbaran, Abbas Abad intersection	1875	38° 33′ 0″ N	46° 29′ 24″ E
Arsbaran, Agh dash to Mazgar	2600	38° 51′ 58″ N	46° 51′ 27″ E
Arsbaran, Mahmoud Abad towards Makidi	2211	38° 54′ 29″ N	46° 51′ 54″ E
Sarab	1992-2011	37° 52′ 23″ N	47° 46′ 38″ E
Arsbaran, Kharil village towards Kalasour	1600-1682	38° 48′ 49″ N	46° 46′ 19″ E

در آزمایشی دیگر بذرهایی که از شش رویشگاه اصلی جمع‌آوری شده بودند، برای تهیه گیاهچه در گلخانه در نیمه دوم اسفندماه در گلدان‌ها کشت شدند. پس از حدود یک ماه گیاهچه‌ها به رشد نهایی رسیده و برای سازگاری به بیرون از گلخانه منتقل شدند تا برای انتقال به مزرعه آماده شوند. در اوایل خردادماه گیاهچه‌ها در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی مرکز آموزش جهاد کشاورزی سعیدآباد واقع در ارتفاع ۱۸۵۰ متر از سطح دریا و طول جغرافیایی ″۳۴ و °۳۶ طول شرقی و عرض جغرافیایی ″۵۶ و °۳۷ عرض شمالی کشت شدند. فاصله تکرارها از همدیگر یک متر، تعداد کرت‌ها در هر بلوک شش و فاصله کرت‌ها از همدیگر در یک بلوک ۰/۵ متر، ابعاد کرت‌ها ۲×۳/۵ مترمربع، تعداد ردیف‌ها در هر کرت ۴ و در هر ردیف ۱۳ گیاه کشت شد. گیاهان بلافاصله پس از انتقال به زمین آبیاری و سپس با توجه به شرایط آب و هوایی هر هفته یک یا دو بار آبیاری شدند. در سال دوم در

اواخر خردادماه زمانی که بوته‌ها به ۵۰٪ گلدهی رسیدند، سرشاخه‌های گلدار برداشت شده و در محیط سایه خشک شدند.

اسانس‌گیری از گیاهان و شناسایی اجزای آنها

از نمونه‌های گیاهی هر رویشگاه و مزرعه در سه تکرار، ۸۰ گرم ماده خشک وزن شد و اسانس‌گیری توسط دستگاه تقطیر با آب بعمل آمد، سپس درصد وزنی برای هر یک محاسبه گردید. برای تفکیک و شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. با استفاده از شاخص‌های بازداری (Retention indices) و بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و مراجع معتبر، نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها اقدام گردید. درصد کمّی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد (Adams, 2011؛ Askari *et al.*, 2019؛ Sefidkon & Rahimi Bidgoli, 2002). پس از تجزیه اسانس‌ها با دستگاه‌های ذکرشده نوع ترکیب‌ها در هر اسانس و درصد آنها مشخص گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SPSS انجام شد. مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده به شرح زیر بود.

دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) فوق سریع 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 استفاده گردید. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از ۳ دقیقه ماندگاری در همان دما، به‌تدریج با سرعت ۸۰ درجه در دقیقه افزایش یافته 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 (Sefidkon & Rahimi Bidgoli, 2002).

دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

شناسایی ترکیب‌ها توسط دستگاه کروماتوگراف گازی Varian-3400 متصل شده به طیف‌سنج جرمی (Saturn II)، ستون DB-5 نیمه‌قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون انجام شد. دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای نهایی ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۴ درجه بر دقیقه و درجه حرارت محفظه تزریق نیز ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل، گاز هلیم با سرعت خطی ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه بود. همچنین سرعت جریان۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن ۱ ثانیه و محدوده جرمی ۳۰۰–۴۰ amu قرار داده شد.

نتایج

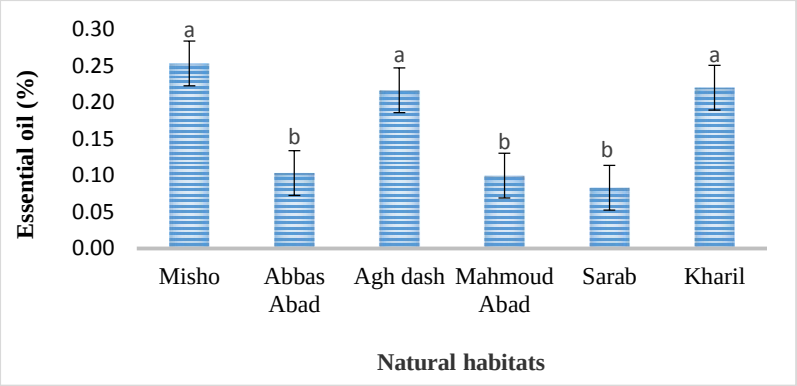
نتایج تجزیه واریانس درصد اسانس‌های بدست آمده در سه تکرار از نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف در شرایط طبیعی و شرایط مزرعه نشان داد که بین درصد اسانس بدست آمده از نمونه‌های موجود در رویشگاه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ دارد، ولی بین درصد اسانس بدست آمده از نمونه‌ها در شرایط مزرعه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. بیشترین مقدار اسانس با میانگین ۰/۲۵٪، ۰/۲۲٪ و ۰/۲۱٪ به‌ترتیب مربوط به منطقه میشوداغی (مرند)، خریل (ارسباران) و آغداش (ارسباران) و کمترین مقدار اسانس با میانگین ۰/۱٪ مربوط به مناطق محمودآباد (ارسباران) و عباس‌آباد (ارسباران) و میانگین ۰/۰۸ ٪ مربوط به منطقه سراب است (جدول ۲، شکل‌های ۲ و ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد اسانس پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia*) رویشگاه‌های مختلف در شرایط طبیعی و مزرعه

Table 2. ANOVA of different *Nepeta crassifolia* habitats essential oil percentage under natural habitat and farm conditions

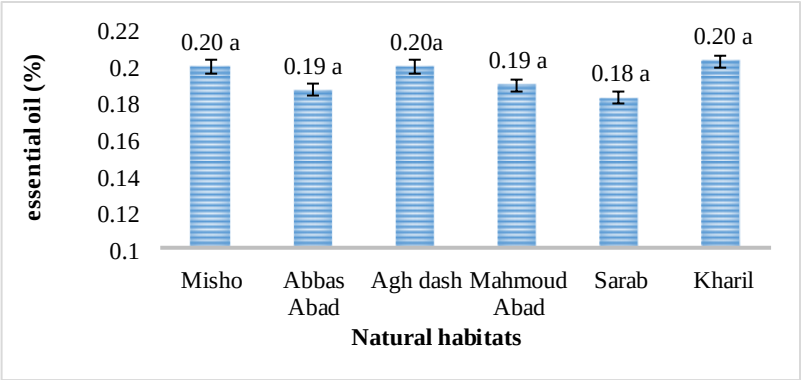
S.O.V.	d.f.	M.S.	
		Natural habitat conditions	Farm conditions
Repetition	2	0.002	0.001
Treatment	5	0.015**	0.002 ns
Experimental error	10	0.001	0.001

n.s and **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively.



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد اسانس پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia*) در رویشگاه های مختلف طبیعی

Figure 2. Means comparison of *Nepeta crassifolia* essential oil percentage under different natural habitats conditions



شکل ۳- میانگین درصد اسانس *Nepeta crassifolia* در شرایط مزرعه

Figure 3- The average percentage of essential oil of *Nepeta crassifolia* in field conditions

نتایج تجزیه کیفی اسانس

تجزیه کیفی اسانس‌ها نشان داد، تعداد و نوع ترکیب‌های هر منطقه، چه در شرایط طبیعی و چه در شرایط کشت شده با همدیگر متفاوت است (جدول های ۳ و ۴). به‌طور کلی تنوع ترکیب های اسانس در نمونه‌هایی که از منطقه ارسباران جمع‌آوری شده بودند بیشتر از دو منطقه میشوداغی و سراب بود. اما ترکیب های اسانس بدست آمده از مناطق ارسباران درصد نپتالاکتون پایینی داشته و ایزومر نپتالاکتون III (4aα, 7β, 7aα) در آنها وجود نداشت و درصد دو ایزومر دیگر نپتالاکتون نیز کم

بود. اما سایر ترکیب ها مانند ۸،۱-سینئول، جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید، گلوبولول، ترانس-کاریوفیلن و جرماکرن D در تمام ۴ منطقه ارسباران با درصد بالاتری نسبت به نپتالاکتون‌ها مشاهده شدند (جدول ۳). به‌طور کلی با بررسی نوع ترکیب ها مشاهده می کنیم که نپتالاکتون و ایزومرهای آن که جزو ترکیب های اصلی اسانس برخی گونه های جنس نپتا می‌باشند، در دو منطقه میشوداغی و سراب با درصد بالایی وجود دارند. منطقه میشوداغی با وجود اینکه از نظر تعداد ترکیب‌ها دارای کمترین تعداد (رویشگاه طبیعی و مزرعه) است، اما هر سه ایزومر نپتالاکتون ازجمله: نپتالاکتون I (4aα, 7α, 7aα)، نپتالاکتون II (4aα, 7α, 7aβ) و نپتالاکتون III (4aα, 7β, 7aα) در اسانس نمونه ها با درصد بالایی حضور دارند. درصد ترکیب نپتالاکتون I در رویشگاه طبیعی این گیاه در میشوداغی ۶۹٪ و در شرایط مزرعه ۲۷/۳٪ بوده و درصد ترکیب نپتالاکتون II نیز در همین رویشگاه و مزرعه به ترتیب ۲۱/۷٪ و ۵۱/۵٪ ارزیابی گردید. بعد از منطقه میشوداغی مرند، منطقه سراب درصد بالایی از ایزومرهای نپتالاکتون را به خود اختصاص داده و درصد ترکیب نپتالاکتون II در رویشگاه ۵۷/۵٪ و مزرعه ۴۶/۶٪ بود. در نمونه‌های جمع‌آوری شده از ارسباران نپتالاکتون‌ها با درصد ناچیزی شناسایی شدند، به غیر از یک منطقه که عباس آباد ارسباران می‌باشد و فقط ایزومر نپتالاکتون II که از اجزای اصلی اسانس بود با مقدار ۱۵/۸٪ در شرایط مزرعه شناسایی شد.

در مورد سایر ترکیب های اسانس، نمونه‌های جمع‌آوری شده از تمامی مناطق ارسباران، ترکیب‌های گلوبولول و جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید و ۸،۱-سینئول، بالاترین درصد را یا در رویشگاه، یا در مزرعه نسبت به دو منطقه میشوداغی و سراب داشتند و بیشترین درصد گلوبولول (۲۳/۶٪) و جرماکرن B (۲۱/۱٪) به‌ترتیب از دو منطقه خریل و آغ داش ارسباران در شرایط مزرعه بدست آمد. بالاترین مقدار کاریوفیلن اکساید (۱۷/۶٪ و ۱۲/۸٪) نیز به‌ترتیب در رویشگاه‌های طبیعی روستای محمودآباد و آغداش شناسایی شد.

همچنین نمونه‌های منطقه آغداش ارسباران هم در رویشگاه و هم در شرایط مزرعه مقدار بالایی از کاریوفیلن اکساید نسبت به سایر مناطق داشتند. بیشترین مقدار ۸،۱-سینئول (۲۱/۸٪) نیز از نمونه اسانس رویشگاه خریل و از نمونه اسانس مزرعه محمودآباد (۱۲/۷٪) و رویشگاه عباس‌آباد (۸/۲٪) بدست آمد. تعداد ترکیب‌های اسانس نمونه‌ها از ۱۰ ترکیب در رویشگاه طبیعی تا ۲۶ ترکیب در مزرعه متغیر بود. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس نمونه منطقه میشوداغی ۱۰ و در شرایط مزرعه ۱۹ بود. در اسانس نمونه منطقه سراب ۱۴ ترکیب بوده و در نمونه کشت شده در مزرعه ۲۴ ترکیب شناسایی شد. در اسانس نمونه‌های روستای آغداش به‌طور میانگین ۲۴ ترکیب در مزرعه و ۲۰ ترکیب در نمونه رویشگاه طبیعی شناسایی شد. در نمونه عباس‌آباد ۲۷ ترکیب از اسانس نمونه مزرعه و ۱۶ ترکیب از رویشگاه طبیعی، در روستای محمودآباد ۲۶ ترکیب از اسانس نمونه مزرعه و ۱۸ ترکیب از رویشگاه طبیعی شناسایی شد. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس نمونه روستای خریل ۲۱ ترکیب در مزرعه و ۲۱ ترکیب در رویشگاه طبیعی بود (جدول‌های ۳ و ۴).

جدول ۳- درصد ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***) در رویشگاه‌های مختلف طبیعی

Table 3. *Nepeta crassifolia* essential oil composition under different natural habitats conditions

Compounds	RI	Marand (Misho)	Arsbaran (Abbas Abad)	Arsbaran (Agh dash)	Arsbaran (Mahmoud abad)	Sarab	Arsbaran (Kharil)
3-octanone	1005	0.7	-	-	-	-	-
ρ-cymene	1039	1.1	-	-	-	-	-
1,8-cineole	1068	-	8.2	-	-	-	21.8
camphor	1172	-	2.1	1.1	0.4	-	5.1
pinocarvone	1205	-	2.3	-	-	-	1.6
borneol	1210	-	-	-	-	0.7	-
terpinen-4-ol	1221	-	1.3	0.43	0.32	-	1.7
α-terpineol	1232	0.6	2.4	0.8	0.32	-	1.9
myrtenol	1237	-	1.2	0.4	-	-	0.6
verbenone	1243	-	0.9	0.4	-	0.3	1.4
ρ-cymen-9-ol	1259	-	-	0.6	-	5.1	-
carvone	1284	-	1.6	1.0	0.7	-	1.9
nepetalactone I	1431	69.0	2.8	1.6	0.9	1.24	0.8
α-copaene	1438	0.5	1.8	0.7	1.0	-	0.7
γ-nonalactone	1469	-	-	6.6	-	-	1.1
nepetalactone II	1475	21.7	-	0.8	0.8	57.5	0.8
nepetalactone III	1477	1.4	-	-	-	0.5	-
E-caryophyllene	1493	-	4.8	3.2	4.2	-	2.0
γ-muurolene	1523	-	0.7	0.4	1.0	1.0	-
germacrene D	1528	4.1	-	-	-	-	-
β-selinene	1535	-	1.2	1.3	2.0	2.0	0.7
γ-cadinene	1559	-	-	-	0.5	0.5	-
germacrene B	1620	-	17.3	14.5	17.6	-	11.57
spathulenol	1647	0.6	1.9	1.8	2.2	0.4	1.6
caryophyllene oxide	1673	0.3	8.2	12.8	12.2	4.2	6.9
globulol	1686	-	-	17.8	18.7	2.2	12.0
γ-eudesmol	1706	-	-	1.5	1.5	0.7	0.7
β-eudesmol	1725	-	-	-	0.6	0.3	1.0
α-eudesmol	1732	-	-	3.7	1.8	-	0.8
Total		100	58.6	71.3	66.5	76.7	76.6

nepetalactone I = 4aα, 7α, 7aα isomer
nepetalactone II = 4aα, 7α, 7aβ isomer
nepetalactone III = 4aα, 7β, 7aα isomer

جدول ۴- درصد ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***) رویشگاه‌های مختلف در شرایط مزرعه

Table 4. *Nepeta crassifolia* essential oil composition from different natural habitats under farm conditions

Compounds	RI	Marand (Misho)	Arsbaran (Abbas Abad)	Arsbaran (Agh dash)	Arsbaran (Mahmoud abad)	Sarab	Arsbaran (Kharil)
β-pinene	977	0.1	-	-	-	0.1	-
sabinene	981	-	-	-	0.1	-	-
3-octanone	1005	0.3	-	-	-	0.1	-
α-phellandrene	1015	-	-	-	0.4	-	-
ρ-cymene	1039	0.1	-	-	-	0.03	-
limonene	1058	-	-	-	0.2	-	-
1,8-cineole	1068	1.6	2.8	2.1	12.7	0.9	5.9
camphor	1172	-	1.8	0.6	1.4	0.6	1.2
pinocarvone	1205	-	0.2	0.2	0.1	-	-
borneol	1210	-	0.4	-	-	-	-
terpinen-4-ol	1221	7.2	0.5	0.6	0.9	0.3	0.5
α-terpineol	1232	2.0	1.3	1.4	-	1.4	0.5
myrtenol	1237	-	0.5	0.5	0.8	0.2	0.6
verbenone	1243	0.4	0.7	0.2	0.2	0.2	0.2
ρ-cymen-9-ol	1259	0.5	0.5	-	-	0.4	-
carvone	1284	-	0.7	1.0	0.4	0.3	1.2
nepetalactone I	1431	27.3	2.1	0.9	1.5	19.4	1.0
α-copaene	1438	1.1	1.5	0.8	1.2	0.6	1.0
γ-nonalactone	1469	-	0.5	0.2	2.9	-	0.3
nepetalactone II	1475	51.5	15.8	0.7	1.2	46.6	0.6
nepetalactone III	1477	0.9	0.1	-	-	0.3	-
E-caryophyllene	1493	-	3.4	8.0	5.5	0.2	4.2
γ-muurolene	1523	1.4	0.3	0.8	0.3	-	0.4
germacrene D	1528	0.3	2.9	0.3	1.4	1.3	-
β-selinene	1535	0.3	2.1	0.8	0.5	-	0.3
γ-cadinene	1559	1.7	1.4	1.5	-	2.2	-
germacrene B	1620	-	8.2	21.1	8.0	3.2	17.3
spathulenol	1647	1.5	1.6	1.3	3.0	1.5	2.1
caryophyllene oxide	1673	1.4	10.2	12.1	7.0	5.6	11.1
globulol	1686	0.4	20.4	19.2	20.5	8.6	23.6
γ-eudesmol	1706	-	1.4	2.0	10.0	0.7	1.9
β-eudesmol	1725	-	0.3	1.9	1.1	0.5	1.7
α-eudesmol	1732	-	1.6	3.3	1.9	-	3.0
Total		100	83.3	81.5	84.3	95.1	78.3

nepetalactone I = 4aα, 7α, 7aα isomer
nepetalactone II = 4aα, 7α, 7aβ isomer
nepetalactone III = 4aα, 7β, 7aα isomer

بحث

بررسی‌ها نشان داد که نپتالاکتون I (4aα, 7α, 7aα)، نپتالاکتون II (4aα, 7α, 7aβ)، گلوبولول، جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید و ۸،۱-سینئول به عنوان اجزای اصلی اسانس *N. crassifolia* هستند. بیشترین مقدار اسانس در رویشگاه مربوط به منطقه مرند بوده و نپتالاکتون II و

نپتالاکتون I هم در رویشگاه طبیعی و هم در شرایط مزرعه ترکیب غالب اسانس می‌باشند. ارزیابی نمونه‌های جمع‌آوری شده از سه‌راهی عباس‌آباد در منطقه ارسباران بیانگر این بود که سه ترکیب جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید و ۸،۱-سینئول در رویشگاه طبیعی و نپتالاکتون II، گلوبولول و جرماکرن B به‌عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس در شرایط مزرعه هستند. آنچه جالب توجه است دو ترکیب نپتالاکتون II و گلوبولول در رویشگاه طبیعی عباس آباد در گیاه اصلاً وجود نداشتند. در منطقه آغ‌داش (ارسباران) در شرایط مزرعه و رویشگاه اصلی نیز گلوبولول، جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید از اجزاء غالب اسانس بودند. نتایج تجزیه اسانس نمونه‌های منطقه محمودآباد ارسباران بیانگر این بود که سه ترکیب گلوبولول، جرماکرن B و کاریوفیلن اکساید در شرایط رویشگاه و مزرعه از اجزای اصلی اسانس هستند، با این تفاوت که ترکیب ۸،۱-سینئول نیز با درصد بالایی فقط در شرایط مزرعه وجود داشت. همچنین درصد حضور ایزومرهای نپتالاکتون در مناطق آغ‌داش، خریل و عباس‌آباد ارسباران هم در رویشگاه و هم در مزرعه بسیار پایین بود. در منطقه سراب نپتالاکتون II ترکیب اصلی اسانس در رویشگاه و نپتالاکتون I و نپتالاکتون II از اجزای اصلی اسانس در مزرعه بودند. با بررسی تمامی نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مذکور و نمونه های بدست آمده از مزرعه، مشاهده شد که بیشترین مقدار نپتالاکتون I در نمونه های جمع آوری شده از رویشگاه طبیعی در مرند بدست آمده و همین منطقه در شرایط مزرعه حاوی بیشترین میزان نپتالاکتون II است. منطقه سراب نیز در شرایط رویشگاه طبیعی و مزرعه در مقایسه با سایر نمونه ها دارای بالاترین مقدار نپتالاکتون II بوده و بیشترین میزان ترکیب ۸،۱-سینئول نیز از رویشگاه طبیعی منطقه خریل بدست آمد. نتایج بدست آمده از تجزیه کمّی و کیفی اسانس در شرایط رویشگاه و مزرعه حکایت از تأثیر ارتباط عوامل اکولوژیک با تنوع و مقدار اجزای اسانس گیاه داشته و قابلیت بالای *N. crassifolia* برای اهلی سازی و سازگاری با شرایط مزرعه را دارد. مقایسه ترکیب های اصلی و عمده شناسایی شده در این تحقیق با نتایج تحقیقات قبلی سایر پژوهشگران شباهت دارد. در مطالعه‌ای که بر روی *N. crassifolia* جمع‌آوری شده از شمال تهران انجام شد، ۲۱ ترکیب در اسانس گیاه شناسایی شد که ترکیب اصلی نپتالاکتون I به مقدار ۹۲/۶٪ بوده است، به‌غیر از نپتالاکتون، دیگر ترکیب های عمده شناسایی شده ۸،۱-سینئول، لینالیل استات، جرماکرن D و ترانس-کاریوفیلن بودند (Dabiri & Sefidkon, 2003). در پژوهشی دیگر ترکیب‌های غالب اسانس *N. crassifolia*، نپتالاکتون III (4aα, 7β, 7aα) به میزان ۸۱/۱٪ و نپتالاکتون I (4aα, 7α, 7aα) ۵/۹٪ گزارش شد (Morteza-Semnani & Saeedi, 2004). Babaei و همکاران (۲۰۲۱) به منظور بررسی کمّی و کیفی اسانس دو گونه از جنس نپتا (*Nepeta cataria* L. و *Nepeta bracteata* Benth.) در حالت زراعی، بذر هشت جمعیت از این دو گونه را از رویشگاه های طبیعی جمع آوری و در مزرعه کشت کردند. ترکیب غالب در تمام جمعیت‌های *N. cataria* L. ایزومرهای نپتالاکتون بود اما در جمعیت‌های *N. bracteata* ترکیب‌های عمده ۸،۱-سینئول و ژرانیل استات بودند.

اگر میانگین اسانس‌ها را در نظر بگیریم، رویشگاه نمونه‌ها را از لحاظ درصد اسانس می‌توان به دو گروه تقسیم کرد. گروه اول شامل میشوداغی مرند، مناطق خریل و آغ‌داش در ارسباران که گیاهان دارای مقدار اسانس قابل توجهی هستند و گروه دوم شامل مناطق محمودآباد و عباس‌آباد واقع در ارسباران و سراب که از میانگین اسانس کمتری برخوردار می‌باشند. وقتی این مناطق را از لحاظ ارتفاع بررسی می‌کنیم مشاهده می‌شود که منطقه میشوداغی در ارتفاع ۲۰۵۰-۲۰۳۶ متر که بالاترین مقدار اسانس را نشان داد دارای ارتفاع نسبتاً بالایی در بین ارتفاع مناطق جمع‌آوری شده است، اما از سوی دیگر بالاترین ارتفاع (۲۶۰۰ متر) که مربوط به آغ‌داش می‌باشد، در مقایسه با منطقه میشوداغی آن دارای میانگین اسانس کمتر و پایین‌ترین ارتفاع (۱۶۰۰ متر) مربوط به روستای خریل دارای میانگین اسانس همانند منطقه میشوداغی است. به‌طوری که هم کمترین ارتفاع و هم بیشترین ارتفاع از لحاظ درصد اسانس در گروه اول یعنی دارای میانگین

اسانس بالا قرار دارند. بنابراین در این گیاه و در منطقه مورد مطالعه ارتفاع محل جمع‌آوری اثر معنی‌داری در کاهش یا افزایش مقدار اسانس نشان نمی‌دهد. Najafi و همکاران (۲۰۱۳) نیز در تحقیقی، اثرهای آت‌اکولوژی بر گونه *Nepeta binaludensis* را بررسی کردند و به این نتایج دست یافتند که اختلاف ارتفاع حدود ۳۰۰ متر تغییر معنی داری در میزان اسانس این گیاه ایجاد نکرد و تنها ترکیب عمده آن را که ۸،۱-سینئول بود به میزان جزئی تغییر داد. از سوی دیگر، زمانی که این مناطق علاوه بر ارتفاع از جنبه‌های دیگر اکولوژیکی مانند شیب یا رطوبت نسبی هوا بررسی شدند، مشاهده شد مناطقی که دارای درصد اسانس بالا یا پایین هستند، در شیب‌های مختلف قرار دارند، و دارای رطوبت نسبی متفاوت می‌باشند، مانند نمونه‌هایی که از ارسباران جمع‌آوری شدند (که دارای رطوبت نسبی بالاتر از دیگر مناطق بود). همچنین تجزیه کیفی اسانس‌ها نشان داد که تعداد و تنوع ترکیب های بدست آمده از نمونه‌های جمع‌آوری شده از ارسباران بیشتر می باشد. با توجه به اینکه منطقه ارسباران از رطوبت نسبی بالایی برخوردار است و دو منطقه میشوداغی و سراب جزو مناطق نیمه‌خشک محسوب می‌شوند، می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً رطوبت باعث افزایش تعداد ترکیب‌های اسانس می‌گردد. ولی بررسی نوع ترکیب‌ها نشان داد که نپتالاکتون و ایزومرهای آن که جزو ترکیب های اصلی اسانس جنس نپتا می‌باشند، در دو منطقه میشوداغی و سراب با درصد بالایی وجود دارند. در مورد سایر ترکیب های اسانس، نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق ارسباران بالاترین درصد ترکیب هایی مانند گلوبولول، جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید و ۸،۱-سینئول را در رویشگاه طبیعی یا در مزرعه داشتند. با توجه به تحقیقاتی که روی گونه *N. crassifolia* در مناطق مختلف انجام شده است، مشخص می‌شود که تعداد ترکیب‌ها و نوع ترکیب ها می‌تواند متفاوت باشد. در تحقیق دیگری ۳۵ ترکیب از اسانس *N. crassifolia* گزارش شده که ترکیب‌های عمده استروایزومرهای نپتالاکتون (۷۲/۸٪) و ۸،۱-سینئول (۹٪) بودند (Matloubi Moghadam & Hosseini, 1996). در سایر گونه‌های جنس نپتا، برای مثال در اسانس *N. cataria* جمع‌آوری شده از استان اصفهان منطقه کاشان ۹ ترکیب شناسایی شده است که از ۹۸٪ کل اسانس استخراج شده ۷۱/۸٪ شامل نپتالاکتون I بوده، از دیگر ترکیب‌های با درصد بالا نپتالاکتون II، ترانس-کاریوفیلن و بتا-پینن بوده‌اند (Safaei-Ghomi *et al.*, 2009). در بررسی ترکیب‌های اسانس ۵ گونه از گیاهان جنس نپتا مشخص شد، در اسانس گونه های *N. melissifolia* و *N. sibirica* ترکیب ۸،۱-سینئول و در گونه‌های *N.cataria*، *N. nuda* و *N. transcaucasica* مشتقات نپتالاکتون دارای بالاترین مقدار هستند (Baranauskienė *et al.*, 2019). Karami و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که ترکیب‌های شناسایی شده در نمونه‌های رویشگاه طبیعی گیاه *N. crispa* Willd. در نمونه کشت شده آن هم حضور دارد. اما درصد اسانس نمونه کشت شده در مزرعه نسبت به نمونه‌های خودرو کمتر است. همچنین نتایج آنالیز ترکیب‌های اسانس *N. crispa* Willd در نمونه‌های برداشت شده از ارتفاعات ارزان‌فود و منطقه گشانی مشخص کرد که قسمت اعظم ترکیب های اسانس را سه ترکیب ۸،۱-سینئول، نپتالاکتون III (4aα, 7β, 7aα) و بتا-پینن تشکیل می‌دهد. اما در شرایط کشت شده در مزرعه درصد اسانس و مقدار ۸،۱-سینئول در نمونه کشت شده در تهران کاهش یافت، بااین‌حال میزان ترکیب نپتالاکتون در این نمونه ها افزایش یافت، با توجه به نتایج بدست آمده تغییر شرایط محیطی نقش مهمی در تغییر کمّیت و کیفیت اسانس این گیاه داشته است، ولی کشت در محلی با اختلاف ارتفاع بیش از ۱۲۰۰ متر پایین‌تر نسبت به محل رویش اصلی، نشانی امیدبخش برای ظرفیت اهلی کردن *N. crispa* است. در تحقیقی، بذر ۲۱ جمعیت وحشی گونه *N. kotschyi* Boiss. که از گونه های انحصاری ایران است جمع‌آوری شده و پس از کاشت تنوع اسانس ها در شرایط مزرعه ارزیابی شد. ۲۳ ترکیب در اسانس شناسایی شد که ایزومرهای نپتالاکتون، ژرانیل استات و کوبنول از اجزاء اصلی اسانس جمعیت ها بودند (Hadi *et al.*, 2016a). در پژوهشی دیگر، کمّیت و کیفیت اسانس ۱۲ توده از گونه‌های ایرانی پونه‌سا (*N. crassifolia*، *N. menthoides* و *N. cataria*)، کشت شده در مزرعه مطالعه

شد. بیشترین بازده اسانس (۲/۵٪) به توده مرکزی از *N. cataria* تعلق گرفت. در گونه *N. crassifolia*، سه جزء نپتالاکتون I، ۸،۱-سینئول و نپتالاکتون II ترکیب های غالب اسانس را تشکیل دادند (Hadi *et al.*, 2016b). در بررسی دیگر، ترکیب‌های اسانس *N. pogonosperma* یک پونه‌سای دیگر انحصاری ایران را در شرایط کشت شده و خودرو مقایسه کردند. محل کشت در نزدیکی محل برداشت نمونه ولی با ارتفاع پایین تری بوده است. در این پژوهش، درصد اسانس نمونه ها تفاوت چندانی نداشته است اما درصد ترکیب های ۸،۱-سینئول و نپتالاکتون در شرایط مختلف تغییر کرده بود (Akbarinia *et al.*, 2003). بنابراین با توجه به تحقیقات ذکرشده می‌توان گفت که تعداد و نوع ترکیب های اسانس گونه‌های مختلف جنس نپتا و حتی در یک گونه در شرایط مختلف محیطی و ارتفاعات مختلف متفاوت است. گونه های این جنس عموماً به دلیل دو دسته ترکیب مشتقات نپتالاکتونی و ۸،۱-سینئول شناخته می‌شوند.

از آن‌جا که کشت و اهلی کردن گونه‌های ارزشمند دارویی و حفظ مواد مؤثره گیاه در حالت زراعی در دستورکار پژوهشگران و تولیدکننده‌های گیاهان دارویی در کشور قرار دارد، در این تحقیق با بررسی تنوع فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف در رویشگاه و بعد مزرعه می‌توان نتیجه گرفت که ایزومرهای نپتالاکتون، گلوبولول، جرماکرن B، کاریوفیلن اکساید و ۸،۱-سینئول به‌عنوان اجزای اصلی اسانس هستند. همچنین حضور درصد بالایی از این ترکیب‌های مهم، نشان از سازگاری بالای این گیاه در شرایط مزرعه دارد. اگرچه تفاوت در میزان بازده اسانس و کمّیت و کیفیت مواد مؤثره اسانس‌ها به‌دلیل جمع‌آوری بذرها از رویشگاه‌های مختلف می‌باشد ولی می‌توان پیشنهاد کرد که اگر هدف از کشت گونه *N. crassifolia* تولید نپتالاکتون و استفاده از خواص درمانی آن باشد، برای کشت بذرها بهتر است از دو منطقه میشوداغ و سراب جمع‌آوری شود تا نپتالاکتون با درصد بالایی تهیه گردد اما اگر هدف استفاده از ترکیب ۸،۱-سینئول که یک ترکیب مونوترپن اکسیژن‌دار است و در فرمولاسیون بسیاری از داروها مورد استفاده قرار می‌گیرد باشد، بهره‌برداری از بذرهای منطقه ارسباران توصیه می‌شود. همچنین با بهینه‌سازی عواملی مانند کشت در منطقه‌ای نزدیک رویشگاه اصلی، یا تیمارهای تغذیه‌ای، تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌توان کیفیت گیاه را نسبت به نمونه خودرو بهبود بخشید و گامی در جهت اهلی‌سازی و تولید گیاهی با کمّیت و کیفیت برتر اسانس برداشت.

References

- Adams, R.P., 2011. Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy. Academic Press, New York, 302p.
- Adiguzal, A., Ozar, H., Sokmen, M. and Gulluce, M., 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepeta cataria*. Polish Journal of Microbiology, 58(1): 69-76.
- Akbarinia, A., Sefidkon, F., Rezaei, M.B. and Bakhshi Khaniki, G.R., 2003. Investigation of essential oil composition of *Nepeta pogonosperma* on wild catnip and cultivation. Pajouhesh-VA-Sazandegi, 16(1): 14-19.
- Andrade, E.H.A., Alves, C.N., Guimarães, E.F., Carreira, L.M.M. and Maia, J.G.S., 2011. Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* LC Rich. Biochemical Systematics and Ecology, 39(4): 669-75.
- Askari, F., Mirza, M., Golipour, M. and Fekri Qomi, S., 2019. Essential oil compositions of wild and cultivated *Achillea millefolium* L. subsp. *elbursensis*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 35(1): 1-11.
- Babaei, M., Sefidkon, F. and Nasiri, M., 2021. Study on the quantity and quality of two *Nepeta* species (*Nepeta cataria* L. and *N. bracteata* Benth.) essential oil under agricultural conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(1): 113-126.
- Baranauskienė, R., Bendžiuvienė, V., Ragažinskienė, O. and Venskutonis, P.R., 2019. Essential oil composition of five *Nepeta* species cultivated in Lithuania and evaluation of their bioactivities, toxicity and antioxidant potential of hydrodistillation residues. Food and Chemical Toxicology, 129: 269-280.
-Bernath, J., 2002. Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. Acta Horticulture, 576(19): 115-128.
- Bertome, J., Isabel Arrillage, M. and Segura, J., 2007. Essential oil variation within and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to

7: 183-194.
- Matloubi Moghadam, F. and Hosseini, M., 1996. Composition of the essential oil from *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse. Flavour and Fragrance Journal, 11: 113-115.
- Mišić, D., Šiler, B., Gašić, U., Avramov, S., Živković, S., Nestorović Živković, J., Milutinović, M. and Tešić, Ž., 2015. Simultaneous UHPLC/DAD/±HESI-MS/MS analysis of phenolic acids and nepetalactones in methanol extracts of *Nepeta* species: a possible application in chemotaxonomic studies. Phytochemical Analysis, 26: 72-85.
- 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.
- Najafi, F., Koocheki, A., Honermeier, B. and Asili, J., 2013. Autecology, ethno medicinal and phytochemical studies of *Nepeta binaludensis* Jamzad a highly endangered medicinal plant of Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 12(1): 97-110.
- Nori-Shargh, D., Baharvand, B. and Deyhimi, F., 2006. The volatile constituent's analysis of *Nepeta kotschyi* Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(3): 237-238.
- Omidbaigi, R., 2000. Production and Processing of Medicinal Plants. Vol. 3. Astan-e Ghods-e Razavi Publication, Mashhad, Iran, 438p.
- Safaei-Ghomi, J., Djafari-Bidgoli, Z. and Batooli, H., 2009. Volatile constituent's analysis of *Nepeta cataria* from central Iran. Chemistry of Natural compounds, 45(6): 913-915.
- Sarikurkcu, C., Eskici, M., Karanfil, A. and Tepe, B., 2019. Phenolic profile, and antioxidant activities of two endemic *Nepeta* species: *Nepeta nuda* subsp. *glandulifera* and N. *cadmea*. South African Journal of Botany, 120: 298-301.
- Sefidkon, F. and Rahimi Bidgoli, A., 2002. Quantitative and qualitative variation assessment of *Thymus kotschyanus* essence in plant growth duration and using several instillation methods. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 15: 1-22.
their ecological areas. Biochemical systematics and Ecology, 35: 479-488.
- Dabiri, M. and Sefidkon, F., 2003. Chemical composition of *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse oil from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 18: 225-227.
- Formisano, C., Rigano, D. and Senatore, F., 2011. Chemical constituents and biological activities of *Nepeta* species. Chemistry & Biodiversity, 8(10): 1783-1818.
- Ghannadi, A., Aghazari, F., Mehrabian, M. and Mohagheghzade, A., 2003. Quantity and composition of the SDE prepared Essential oil of *Nepeta macrosiphon* Boiss. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 103-105.
- Hadi, N., Sefidkon, F., Shojaeiyan, A. and Jafari, A.A., 2016a. Essential oil diversity of 21 populations from Iranian endemic species *Nepeta kotschyi* Boiss. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32(2): 189-202.
- Hadi, N., Shojaeiyan, A., Sefidkon, F. and Jafari, A.A., 2016b. Quantitative and qualitative study of essential oil in some accessions of *Nepeta* spp. and determination of essential oil components capability in intra and inter-specific relationships analysis. Iranian Journal of Horticultural Science, 49(3): 601-612.
- Jamzad, Z., 2013. Flora of Iran (No: 76), Lamiaceae family. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 1068p.
- Karaman, S. and Comlekciogolu, N., 2007. Essential oil composition of *Nepeta cilicia* Boiss. Apud Bentham. and *Phlomis viscosa* Poirect. from Turkey. International Journal of Botany, 3(1):122-124.
- Karami, M., Ebadi, M.T. and Ayari, M., 2020. Evaluation of changes in quantity and quality of essential oil of *Nepeta crispa* Willd. In different natural agricultural habitats. Journal of Medicinal Plants Ecophytochemistry, 30(2): 1-12.
- Karimian, V., Vahabi, M.R., Roustakhiz, J. and Nodehi, N., 2017. Identification of some ecological factors affecting on essential oil of *Verbascum songaricum* schrenk shoots (Case Study: Rangelands of Isfahan and Kohgiluyeh and Buyerahmad Provinces, Iran). Journal of Rangeland Science,

Essential oil content and composition of *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse under natural habitats and cultivated conditions in East Azarbaijan province

A. Rafati[1], N. Valizadeh[2*], F. Sefidkon[3], Y. Imani[4] and F. Noormand Moaied[1]

1- Research Division of Natural Resources, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extention Organization (AREEO), Tabriz, Iran
2*- Corresponding author, Medicinal Plants and By-Products Research Department, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extention Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: n.valizadeh@rifr-ac.ir
3- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
4- Forests and Rangelands Research Department, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extention Organization (AREEO), Tabriz, Iran

Received: June 2021 Revised: July 2021 Accepted: July 2021

Abstract

Nepeta crassifolia Boiss. & Buhse, from Lamiaceae family, is an aromatic species with medicinal properties which is endemic to Iran. The seeds and aerial parts of this plant were collected from six different regions of East Azerbaijan province. After drying, the plant aerial parts essential oil was obtained by hydrodistillation and their compounds were identified by GC and GC/MS. The collected seeds, after producing greenhouse seedlings, were planted in the field in a randomized complete block design with three replications. In the second year after planting, the flowering shoots were harvested, dried, and distilled. The results showed that there was significant differences among essential oil percentage of natural habitat samples which the highest amount belonged to "Marand" region, but the farm essential oil samples did not differ with each other significantly. The compounds nepetalactone I (4aα, 7α, 7aα) and II (4aα, 7α, 7aβ), globulol, germacrene B, caryophyllene oxide, and 1,8-cineole were identified as the main essential oil compounds of this species. The highest amount of nepetalactone I or II under the natural habitat (69% and 21.7%, respectively) and field (27.3% and 51.5%, respectively) conditions belonged to "Misho" region in "Marand". "Sarab" region also had the highest amount of nepetalactone II under the natural habitat and farm conditions compared to the other samples. The highest amount of 1,8-cineole (21.8%) in the oil was also obtained from the natural habitat of "Kharil" region.

Keywords: *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse, essential oil, nepetalactone, caryophyllene oxide, 1,8-cineole.