



Study of morphological traits, phenolic compounds and essential oil in vegetative and generative organs of *Nepeta bornmulleri* Hausskn. ex Borum (Lamiaceae) in Kerman province

Fatemeh Nejad-Alimoradi^{1*}, Mansoureh Khodashenas² and Farkhondeh Rezanejad³

1*- Corresponding author, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran, E-mail: Alimoradi@pnu.ac.ir

2- Department of Natural Resources, Agriculture and Natural Resources Research Center, Kerman, Iran

3- Department of Biology, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Received: August 2022

Revised: December 2023

Accepted: December 2023

Abstract

Background and objectives: *Nepeta*, with 300 species, is one of the largest genera in the Lamiaceae family. Seventy-five species of this genus are distributed in Iran, many of which are endemic. Due to the medicinal importance and traditional uses of its various species, much research has been conducted to identify their secondary metabolites. Nepetalactone, cineole, and phenolic compounds have been reported as their main compounds, and most have medicinal, antimicrobial, and industrial properties. The amount of these compounds varies in different parts of the plant and different species and populations. *Nepeta bornmulleri* Hausskn. ex Bornm. is endemic to Iran and is a type specimen from Kerman province. Although secondary metabolites have been studied in many species of this genus, more research is needed on *N. bornmulleri*. Therefore, the morphology, quantity, and quality of antioxidant compounds and essential oils were investigated in the plant's two vegetative and generative parts.

Methodology: Vegetative (stem and leaf) and generative (flower and fruit) parts of *N. bornmulleri* were collected in May 2023 from Rayen city (Kerman province) at an altitude of 2450 meters. The used generative parts were 80% flowers and 20% unripe fruits. The size of the plant, its vegetative form, and the structure of the inflorescence and flower were examined and photographed with the naked eye or stereomicroscope so that researchers could identify them quickly. Biochemical compounds, including phenolic compounds and essential oil, were studied in vegetative and generative parts. Total phenolic compounds, including total phenols, flavonoids, and anthocyanins from fresh samples, were studied by spectrophotometric method. The phenolic compounds and anthocyanins profile were investigated using dried samples with HPLC. The analysis of essential oil was done using dry samples with gas chromatography (GC) and gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC/MS). Essential oil extraction was done by distillation with water using Clevenger. The experiment was conducted in a completely random design, including two types of vegetative (stem and leaf) and generative (flower and fruit) organs with three replications.

Results: Morphological studies of *N. bornmulleri* showed that in the studied area, the height of the species is about 10-25 cm with hairy basal (rosette) leaves, apical and dense head-like inflorescence, purple-blue synpetal corolla with bilobate apex, synsepal calyx. The Androecium comprises four purple stamens of equal length (didynamous stamens) and an upper pistil with tetra-achene schizocarp fruit surrounded by persistent sepals. The total content of phenols,



flavonoids, and anthocyanins in flowering branches (generative) was significantly higher than in leaves and stems (vegetative parts). The profile of phenolic and anthocyanin compounds by HPLC showed that ten phenolic compounds and three anthocyanin compounds were identified in the generative part, and six phenolic compounds and two anthocyanin compounds were identified in the vegetative part. The most phenolic compound observed in both vegetative and generative parts was luteolin, while malvidin-glucoside was recorded as the most anthocyanin compound. The amount of malvidin-glucoside in the generative part was twice that of the vegetative part. The percentage of essential oil in vegetative and generative parts was observed at 0.2 and 0.1, respectively. In the essential oils of vegetative and reproductive parts, respectively, 10 (69.41%) and 16 (89.29%) identified compounds and 9 (14.59%) and 4 (6.21%) unidentified compounds were reported, which in total 84% and 95.5% constituted the essential oil. The main components of the essential oil of the vegetative part include spatholenol (31.2%), 1,8-cineole (14.5%), hexadecanoic acid (10.6%), myrtenol (9.7%), caryophyllene oxide (6.4%), and trans-pinocarveol (4.4%). In the generative part, 1,8-cineole (31.7%), spatholenol (16.2%), myrtenol (14.14%), dihydro nepetalactone (6.92%), trans-pinocarveol (6.7%), pinocarvone (5.2%) and caryophyllene oxide (4.5%) were the main components of the essential oil.

Conclusion: Based on the results, the quantity and quality of phenolic compounds, anthocyanin, and essential oil in the generative part were higher than in the vegetative part of the studied species. So, it is suggested that the generative parts of the plant be used to obtain antioxidant compounds. The amount of nepetalactone, which is significant in most species of *Nepeta*, was relatively low in this species, while spatholenol and 1, 8-cineole were the main compounds. Considering the numerous medicinal and industrial applications of the two dominant species combinations on the one hand and the exclusivity and limited distribution of the species on the other hand, it is essential to preserve its different populations.

Keywords: Essential oil, phenolic compounds, *Nepeta bormulleri* Hausskn. ex Bornm., 1,8-cineole, nepetalactone.

مطالعه ریخت‌شناختی، ترکیبات فنلی و اسانس اندام‌های رویشی و زایشی *Nepeta bornmulleri* Hausskn. ex Bornm. از استان کرمان

فاطمه نژادعلیمراد^{۱*}، منصوره خدانشناس^۲ و فرخنده رضانژاد^۳

۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، پست الکترونیک: Alimoradi@pnu.ac.ir

۲- استادیار، گروه منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان، کرمان، ایران

۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۱

تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: پونه‌سا (*Nepeta*) یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های تیره نعنا (Lamiaceae) با ۳۰۰ گونه است. ۷۵ گونه از این جنس در ایران پراکنش دارند که بسیاری از آنها انحصاری هستند. با توجه به اهمیت دارویی و استفاده‌های سنتی گونه‌های مختلف آن، تحقیقات زیادی برای شناسایی متابولیت‌های ثانویه آنها انجام شده است. نیتالاکتون‌ها، سینتول‌ها و ترکیبات فنولی از ترکیبات ثانویه اصلی آن هستند و بیشتر این ترکیبات خواص دارویی، ضد میکروبی و صنعتی دارند. مقدار این ترکیبات در بخش‌های مختلف گیاه و نیز گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف، متفاوت است. پونه‌سای هزاری (*Nepeta bornmulleri* Hausskn. ex Bornm.)، انحصاری ایران و نمونه تیپ از استان کرمان است. اگرچه مطالعه و شناسایی متابولیت‌های ثانویه در بسیاری از گونه‌های این جنس انجام شده است، اما در پونه‌سای هزاری مطالعات بسیار محدود می‌باشد. بنابراین، ریخت‌شناسی و کمیّت و کیفیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و اسانس در دو بخش رویشی و زایشی این گونه گیاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: بخش‌های رویشی (ساقه و برگ) و زایشی (گل و میوه) پونه‌سای هزاری، از رویشگاه گیاه واقع در شهر راین (استان کرمان) از ارتفاع ۲۴۵۰ متری در اردیبهشت ۱۴۰۲ جمع‌آوری شدند. در زمان جمع‌آوری، بخش زایشی مورد استفاده شامل ۸۰٪ گل و ۲۰٪ میوه بود که میوه‌ها در مرحله اولیه بلوغ (نارس) بودند. ویژگی‌هایی مانند اندازه گیاه، فرم رویشی آن، ساختار گل‌آذین و گل به‌صورت چشمی یا با استرئومیکروسکوپ بررسی و عکس‌برداری شدند تا با استفاده از تصاویر رنگی، شناسایی و دسترسی گیاه به‌سهولت انجام شود. ترکیبات بیوشیمیایی شامل ترکیبات فنلی و اسانس در بخش‌های رویشی و زایشی مطالعه شدند. اندازه‌گیری کمی ترکیبات فنلی شامل فنل کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل از نمونه‌های تازه به روش اسپکتروفتومتری انجام شد. سنجش کیفی ترکیبات فنلی و آنتوسیانین با استفاده از نمونه‌های خشک با دستگاه HPLC انجام گردید. مطالعه کمی و کیفی اسانس، با استفاده از نمونه‌های خشک با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با دستگاه کلونجر انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۲ نوع اندام رویشی (ساقه و برگ) و زایشی (گل و میوه) با سه تکرار انجام گردید.

نتایج: مطالعات ریخت‌شناختی پونه‌سای هزاری نشان داد که در منطقه مورد مطالعه ارتفاع گونه حدود ۲۵-۱۰ سانتی‌متر بوده و دارای برگ‌های رزت کرک‌دار، گل‌آذین متراکم سرمانند، جام دولبی ارغوانی-آبی رنگ و کاسه پیوسته و کرک‌دار ارغوانی می‌باشد. نافه شامل چهار پرچم دو به دو هم‌قد (دی‌دینام) بنفش رنگ و تخمدان فوقانی با میوه شیزوکارب چهارفندقه‌ای است که توسط کاسبرگ‌های پایا احاطه شده است. محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل در سرشاخه‌های گل‌دار (زایشی) به‌طور معنی‌دار بیش از برگ‌ها و ساقه‌های جوان (رویشی) بود. نیم‌رخ (پروفایل) ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی با دستگاه HPLC نشان داد که در بخش زایشی، ۱۰ ترکیب فنلی و ۳ ترکیب آنتوسیانینی و در بخش رویشی، ۶ ترکیب فنلی و ۲ ترکیب آنتوسیانینی شناسایی شدند. بیشترین ترکیب فنلی مشاهده شده در هر دو بخش رویشی و زایشی، لوتولین بود، در صورتی که مالویدین-گلوکوزید به‌عنوان بیشترین ترکیب

آنتوسیانینی ثبت شد. مقدار مالویدین-گلوکوزید، در بخش زایشی دو برابر بخش رویشی بود. درصد اسانس در بخش رویشی و زایشی به ترتیب ۰/۲٪ و ۰/۱٪ مشاهده شد. در اسانس بخش رویشی و زایشی، به ترتیب ۱۰ (۶۹/۴۱٪) و ۱۶ (۸۹/۲۹٪) ترکیب شناسایی شده و ۹ (۱۴/۵۹٪) و ۴ (۶/۲۱٪) ترکیب شناسایی نشده گزارش شد که در مجموع ۸۴٪ و ۹۵/۵٪ اسانس را تشکیل دادند. ترکیبات اصلی اسانس بخش رویشی شامل اسپاتونول (۳۱/۲٪)، ۸،۱-سینتول (۱۴/۵٪)، اسید هگزادکانوئیک (۱۰/۶٪)، میرتول (۹/۷٪)، کاربوفیلین اکسید (۶/۴٪) و ترانس-پینوکارونول (۴/۴٪) بودند. در بخش زایشی، ۸،۱-سینتول (۳۱/۷٪)، اسپاتونول (۱۶/۲٪)، میرتول (۱۴/۱۴٪)، دی‌هیدرونپتالاکتون (۶/۹۲٪)، ترانس-پینوکارونول (۶/۷٪)، پینوکارون (۵/۲٪) و کاربوفیلین اکسید (۴/۵٪)، ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل دادند.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج، در گونه مورد مطالعه کمیت و کیفیت ترکیبات فنلی، آنتوسیانین و اسانس در بخش زایشی بیشتر از بخش رویشی بدست آمد. بنابراین، برای دستیابی به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، استفاده از اندام‌های زایشی گیاه پیشنهاد می‌گردد. مقدار نپتالاکتون که در بیشتر گونه‌های پونه‌سا قابل توجه می‌باشد در این گونه به نسبت کم مشاهده شد، در حالی که اسپاتونول و ۸،۱-سینتول ترکیبات اصلی بودند. با توجه به کاربردهای متعدد دارویی و صنعتی دو ترکیب غالب گونه از یکسو و انحصاری و محدود بودن گونه از سوی دیگر، حفظ جمعیت‌های مختلف آن حائز اهمیت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ترکیبات فنلی، *Nepeta bornmulleri* Hausskn. ex Bornm.، ۸،۱-سینتول، نپتالاکتون.

مقدمه

Nepeta یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های خانواده نعنا (Lamiaceae) است که بیش از ۳۰۰ گونه دارد (Salehi et al., 2018). در ایران که یکی از خاستگاه‌های اصلی این جنس محسوب می‌شود، ۷۵ گونه از آن وجود داشته (Formisano et al., 2011) که حدود ۸۱٪ آنها انحصاری هستند (Mozaffarian, 1996; Mozaffarian, 2013). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر، این جنس با نام «پونه‌سا» با ۷۹ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چندساله در ایران گزارش شده است که ۳۹ گونه آن انحصاری ایران می‌باشد (Jamzad et al., 2003; Jamzad, 2012). گونه *Nepeta bornmulleri* Hausskn. ex Bornm از گونه‌های انحصاری ایران با نام فارسی پونه‌سا هزاری است (Mozaffarian, 1996) و نمونه تیپ از کرمان است. پراکنش جغرافیایی آن جنوب ایران (استان کرمان) است. رویشگاه گیاه در دامنه‌های کوهستانی در منطقه ایرانی تورانی و زمان گلدهی آن فصل بهار می‌باشد (Jamzad, 2012).

مطالعات نشان داده است که از نظر ریخت‌شناسی، شناسایی گونه‌های پونه‌سا به دلیل هیبریداسیون مکرر دشوار است. خصوصیات مورفولوژیکی مانند شکل و اندازه برگ،

کاسه گل و تاج در بین گونه‌های پونه‌سا متفاوت است و برخی از گونه‌ها از نظر مورفولوژیکی بسیار شبیه به هم هستند (Amirmohammadi et al., 2019). Jamzad (2012)، جنس پونه‌سا را براساس نوع گل، ویژگی‌های گل‌آذین و میوه رده‌بندی کرده است (Jamzad, 2012). نتایج مطالعات ریخت‌شناسی گونه *N. bornmulleri* توسط Jamzad (2012) در فلور تیره نعنا ذکر شده است که بیشتر به ویژگی کرک‌های برگ، ساقه و کاسه گل پرداخته شده است. همچنین به ذکر یک‌ساله بودن گیاه با ارتفاع ۱۰ تا ۲۰ سانتی‌متر، برگ‌های قاعده‌ای، ساقه‌های منشعب از قاعده و میوه فندقه اشاره شده است (Jamzad, 2012)، اما درباره ریخت‌شناسی گل و اجزای آن، توضیح کلی درباره جنس پونه‌سا داده شده است. در این مطالعه، شرح کلی از ساختار گیاه در رویشگاه، گل‌آذین، گل و اجزای آن ارائه می‌شود تا شناسایی گونه توسط محققان به آسانی انجام شود.

گونه‌های مختلف پونه‌سا، به‌طور سنتی به‌عنوان آرام‌بخش، ضد تشنج، ضد سرفه، ضد آزالیم، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، ضد میکروب، ضد قارچ، حشره‌کش و در درمان بیماری‌های کبدی، کلیوی و مشکلات قلب و عروق استفاده می‌شود (Formisano et al., 2012).

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 هستند (Hadi et al., 2016). Hadi و همکاران (۲۰۱۶)، با مطالعه روی ۲۱ جمعیت *Nepeta kotschyi*، ۲۳ ترکیب را شناسایی کردند که در سه کموتایپ اصلی گروه‌بندی شدند (Hadi et al., 2016). Sefidkon و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه اسانس اندام‌های هوایی جمعیت‌های مختلف چهار گونه پونه‌سا (*N. straussi*, *N. speciosa*, *N. haussknechtii*, *N. amoena*) از ایران، گزارش کردند که ۸،۱-سینئول، جرماکرن D، کاریوفیلین اکسید و اسید هگزا دکانوئیک به‌عنوان ترکیبات اصلی گزارش شدند که میزان آنها در گونه‌های مختلف و نیز در جمعیت‌های مختلف، متفاوت گزارش شده است، حتی عدم حضور برخی از آنها در برخی گونه‌ها دیده شد. گزارش شده است که شرایط آب و هوایی یا ظرفیت تشکیل کموتیپ‌ها، دلیل این تغییرات است (Sefidkon et al., 2023). البته مطالعات روی اسانس گونه مورد مطالعه در این پژوهش کم می‌باشد. Sefidkon و Jamzad (۲۰۰۷) حضور نپتالاکتون را به‌عنوان ترکیب غالب این گونه گزارش کردند. Akhgar و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه اسانس برگ، گل، ساقه و ریشه این گونه، به ترتیب ۳۸، ۱۹، ۹ و ۱۲ ترکیب شناسایی کردند که ترکیبات عمده شامل نپتالاکتون، ۸،۱-سینئول، کاریوفیلین اکسید و β -پینین گزارش شدند. مطالعات در زمینه خواص آنتی‌اکسیدانی گونه مورد مطالعه از جمله مطالعه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، به دلیل بومی بودن و محدود بودن نقاط پراکنش و کوچک بودن جمعیت‌های مشاهده شده، بسیار محدود می‌باشد. همچنین بررسی اسانس آن نیز همانطور که در بالا ذکر شده به یک تا دو مطالعه خلاصه می‌شود. بنابراین، در این پژوهش، ریخت‌شناسی و کمیّت و کیفیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این گونه گیاهی از جمله اسانس، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین در دو

(Sharma et al., 2021; Misic et al., 2015; al., 2011). ترکیبات مختلفی مانند فلاونوئیدها (سیرسیماریتین، سالویژین، لوتولین و آپیژین)، اسیدهای فنولیک (اسید رزمارینیک، اسید گالیک و اسید کافئیک) (Formisano et al., 2011; Misic et al., 2015)، اسانس‌ها (۸،۱-سینئول، لینالول، β -کاریوفیلین، جرماکرن D، β -آمیرین، اسید اولئانولیک و اسید اورسولیک) (Salehi et al., 2018)، استروئیدها (β -سیتوسترول و استیگماسترول)، لیگنان، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها و اسانس‌ها (Salehi et al., 2018; Sharma et al., 2021) در گونه‌های پونه‌سا شناسایی شده است. بیشترین مطالعات روی ترکیب بیوشیمیایی، درباره اسانس گونه‌های مختلف پونه‌سا است که در ایران و سایر کشورها انجام شده است. مطالعات روی ترکیب اسانس جنس نپتا نشان داده است که با توجه به نوع گونه، نوع اندام مورد مطالعه، مرحله فنولوژی برداشت نمونه گیاهی، شرایط آب و هوایی، روش استخراج و تجزیه اسانس، نوع و درصد ترکیب‌های موجود در اسانس متفاوت است (Formisano et al., 2011; Nejad Habibvash et al., 2020; Sefidkon et al., 2023).

مطالعات مختلف نشان داده است که انواع ترکیبات و ترکیبات غالب در گونه‌های مختلف پونه‌سا متفاوت هستند. در برخی گونه‌ها، ۸،۱-سینئول (Sonboli et al., 2005; 2006; Sefidkon et al., 2006; Nadjafi et al., 2009)، در برخی ۸،۱-سینئول و نپتالاکتون (Sonboli et al., 2004; Sefidkon et al., 2006; Akhgar et al., 2014; Hadi et al., 2018) و در برخی دیگر نپتالاکتون (Sefidkon & Jamzad, 2007)، ترکیبات غالب هستند. به طوری که در گونه‌های *N. macrosiphon* (Sonboli et al., 2003)؛ *N. involucrata* (Sefidkon & Jamzad, 2005)؛ *N. bracteata* (Rustaiyan et al., 2007) و *N. heliotropifolia* (Sefidkon et al., 2006)، عدم حضور نپتالاکتون ذکر شده است. گونه‌هایی از پونه‌سا که ترکیب عمده اسانس آنها نپتالاکتون است از اهمیت به‌نژادی بیشتری برخوردارند. گونه‌های مختلف

بخش رویشی و زایشی بررسی شد.

۴ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ سائیده شد و به مدت ۲ ساعت شیکر و بعد به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰g سانتریفوژ و روشناور مورد تجزیه و بررسی قرار گرفت (Al-Farsi et al., 2005).

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

نمونه‌های گیاهی پونه‌سای هزاری در اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۲ از ایستگاه راین، ارتفاع ۲۴۵۰ متری واقع در استان کرمان جمع‌آوری شدند. گونه گیاهی با استفاده از فلور ایرانیکا (Rechinger, 1982) و فلور ایران مربوط به تیره نعنا (Jamzad, 2012) شناسایی و تأیید شد. در زمان جمع‌آوری، بخش زایشی (گل و میوه) دارای حدود ۸۰٪ گل و ۲۰٪ میوه نارس بود. نمونه‌های تازه گیاه پس از انتقال به آزمایشگاه با آب مقطر شسته شدند و پس از جداسازی بخش‌های رویشی (شاخساره شامل ساقه و برگ) و زایشی (۸۰٪ گل و ۲۰٪ میوه) گیاه، در ازن مایع منجمد شده و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. برای اندازه‌گیری کمی (مقدار کل) ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از نمونه تازه و دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای سنجش کیفی انواع متابولیت‌های ثانویه نیز، ابتدا بخش‌های رویشی و زایشی جدا و در سایه و دمای محیط خشک شدند. پس از آسیاب کردن کامل نمونه‌های خشک‌شده، از هر یک به میزان ۵۰ گرم به‌طور جداگانه برای سنجش ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین با HPLC، درصد اسانس با GC و نوع ترکیبات اسانس، با GC/MS استفاده شد.

مطالعه ساختارهای رویشی و زایشی

مطالعات ریخت‌شناختی با استفاده از میکروسکوپ تشریحی (استریومیکروسکوپ مدل TL2، شرکت Olympus، آلمان) و در مواردی نیز بدون میکروسکوپ و به صورت چشمی، انجام و ویژگی‌هایی مانند اندازه گیاه، فرم رویشی آن، ساختار گل‌آذین و گل بررسی شدند.

سنجش متابولیت‌های ثانویه

برای عصاره‌گیری، ۰/۲ گرم بافت تازه گیاه با

سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل

محتوای فنلی با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو بررسی شد. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر معرف فولین مخلوط گردید و پس از گذشت ۵ دقیقه (در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد)، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول بی‌کربنات سدیم (۶۰ گرم بر لیتر) به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و بعد جذب هر نمونه در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک، غلظت ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Al-Farsi et al., 2005).

سنجش محتوای فلاونوئید کل

سنجش محتوای فلاونوئید کل با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلراید انجام شد. ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی گیاه (۰/۲ گرم بافت تر در ۴ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪) با ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷۵ میکرولیتر از نیتريت سدیم (NaNO₂) ۵٪ مخلوط و بعد از ۶ دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم (حل شده در متانول ۱۰٪) به آن اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار به آن اضافه شد و حجم کل با آب مقطر به ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و مقدار فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Amira et al., 2012).

سنجش محتوای آنتوسیانین کل

در این روش، ۰/۲۵ گرم از بافت تازه نمونه‌ها با ۵ میلی‌لیتر محلول متانول اسیدی (1% HCl) ساییده و ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. سانتریفوژ نمونه‌ها در ۴۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه انجام و جذب روشن‌آور در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. با استفاده از نمودار استاندارد آنتوسیانین سیانیدین-۳-گلوکوزید، غلظت نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم در گرم ماده تر نمونه اندازه‌گیری گردید (Nogués & Baker, 2000).

روش سنجش و تجزیه و تحلیل ترکیبات فنلی و

فلاونوئیدی با دستگاه HPLC

برای عصاره‌گیری نمونه گیاهی، ۵ میلی‌لیتر متانول با درجه خلوص HPLC با ۵ میلی‌لیتر آب با درجه خلوص HPLC مخلوط شد، سپس ۸ میلی‌لیتر از محلول آماده شده را با ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱/۲ مولار مخلوط کرده و ۰/۵ گرم نمونه گیاه به آن اضافه شده و بعد به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از حرارت‌دهی، ۱۰ میلی‌لیتر متانول با درجه خلوص HPLC به آن اضافه شد و پس از سانتریفوژ نمونه‌ها در ۴۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه، محلول رویی از فیلترهای غشایی ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد و به وسیله دستگاه HPLC (Agilent 1100، آلمان) آنالیز گردید. ستون مورد استفاده، C18 (Prontosil, 250 x 4.6 mm, 5 μm) بود (Dudek *et al.*, 2006).

روش سنجش و تجزیه و تحلیل آنتوسیانین‌ها با دستگاه

HPLC

استخراج عصاره از ۱۰ گرم نمونه خشک پودر شده در دستگاه استخراج کننده سوکسله توسط اتانول، استون، اتیل استات و مخلوط مساوی از چهار حلال آب، اتانول، استون و اتیل استات به مدت ۶ ساعت انجام شد. عصاره‌های بدست آمده در آن تحت خلأ و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شده و به منظور حذف ذرات ریز با کاغذ صافی واتمن

شماره ۴۱ صاف و در ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ ثانیه سانتریفوژ شد و حلال آلی آنها از طریق دمیدن گاز نیتروژن به داخل ظرف به‌طور کامل حل گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر آب یون زوده به نمونه‌های خشک اضافه شد. ترکیبات مورد نظر در مرحله بعد توسط نیم میلی‌لیتر اتیل استات از فاز آبی در دمای اتاق، به مدت چند دقیقه و با تکان دادن نمونه‌ها استخراج شده و به فاز آلی منتقل شدند. در نهایت فاز آبی حذف و نمونه‌های آماده شده برای تزریق به دستگاه HPLC با استفاده از متانول (با درجه کروماتوگرافی از شرکت مرک آلمان) به حجم اولیه خود بازگردانده شده و از طریق فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد. آزمایش HPLC (Agilent، مدل LC، سری ۱۱۰۰) با استفاده از یک فاز معکوس ستون C18 (Prontosil, 250 x 4.0 mm, 5 μm, Bischoff) انجام شد و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. فاز متحرک مورد استفاده یک شستشو گرادیان دوتایی و شامل ۰/۱٪ اسید تری فلورواستیک در آب به‌عنوان حلال A و ۰/۱٪ اسید تری فلورواستیک در استونیتریل به‌عنوان حلال B بود. استونیتریل مورد استفاده از درجه HPLC (سیگما/آلدریچ) بود و قبل از استفاده در حمام اولتراسونیک گازگیری شد. برنامه تعیین شده برای عبور فاز متحرک به صورت مراحل بود که در ادامه ذکر می‌شود: ۲۰٪-۵٪ حلال B و زمان ۰ تا ۵ دقیقه، ۳۵٪-۲۰٪ حلال B از زمان ۵ تا ۱۰ دقیقه، ۱۰۰٪-۳۵٪ حلال B از زمان ۱۰ تا ۲۵ دقیقه و ۱۰۰٪ حلال B از زمان ۲۵ تا ۴۰ دقیقه با میزان جریان ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه. کروماتوگرام‌ها در طول موج ۵۲۱ نانومتر مشاهده شدند. ۵ استاندارد شامل مالویدین گلوکوزید، سیانیدین گلوکوزید، سیانیدین روتینوزید، سیانیدین گزیلوزید و دلفینیدین گلوکوزید مورد استفاده قرار گرفتند. به‌منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام حاصل از تزریق هر نمونه گیاه با کروماتوگرام‌های بدست‌آمده از تزریق استانداردهای مربوط مقایسه و در نهایت غلظت این ترکیبات برحسب میلی‌گرم بر گرم عصاره وزن خشک گیاه محاسبه شد (Justesen *et al.*, 1998).

استخراج اسانس

۵۰ گرم از بخش رویشی (ساقه و برگ) و زایشی (گل و میوه) گیاه پونه‌سای هزاری با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت با آب تقطیر شد (Bettaieb et al., 2010).

خطی ۳۰/۶ سانتی‌متر بر ثانیه بود. نسبت تقسیم ۱:۱۰۰، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن ۱ ثانیه، محدوده جرمی ۴۰-۳۰۰ واحد جرم اتمی (amu) بود (Ghiasy-Oskoe et al., Atghaei et al., 2020).

تجزیه و تحلیل آماری

طرح آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۲ نوع اندام رویشی (ساقه و برگ) و زایشی (گل و میوه) با سه تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ عدد گیاه) انجام و داده‌های حاصل از سنجش کمی (مقدار کل) متابولیت‌های ثانویه با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شدند و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه گردیدند. نمودارهای مربوط نیز با نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

ریخت‌شناسی ساختار گیاه *N. bornmulleri*

براساس مشاهدات میدانی، بیشترین پراکنش گیاه در مسیر ورودی آبشار راین و در شیب کنار جاده مشاهده شد. با بررسی فیزیک خاک، همان گونه که در شکل ۱ (A-C) نیز قابل مشاهده است بافت خاک از نوع شنی و سنگلاخی می‌باشد. بررسی ویژگی‌های ریختی گیاه نشان داد که گونه مورد مطالعه یک‌ساله و به ارتفاع ۱۰ تا ۲۵ سانتی‌متر می‌باشد. ظاهر گونه علفی و دارای ساقه‌های از قاعده منشعب است. برگ‌ها قاعده‌ای و رزت با دمبرگ‌های کوتاه، بیشتر تخم‌مرغی و لب‌دار-دنداندار هستند که از کرک‌های متراکم پوشیده شده‌اند (شکل ۱- B و C). گل‌آذین انتهایی بیشتر به صورت کروی (سرمانند) مجتمع هستند (شکل ۱- A-D) و شکل ۲ (A و B).

گل‌ها کامل و دوجنسی، با کاسه گل پیوسته، لوله‌ای، پوشیده از کرک و به رنگ قرمز ارغوانی تا بنفش هستند که طی نمو به رنگ آبی متمایل می‌شود. جام گل پیوسته

کروماتوگرافی گازی - آشکارساز یونیزاسیون شعله (GC-FID)

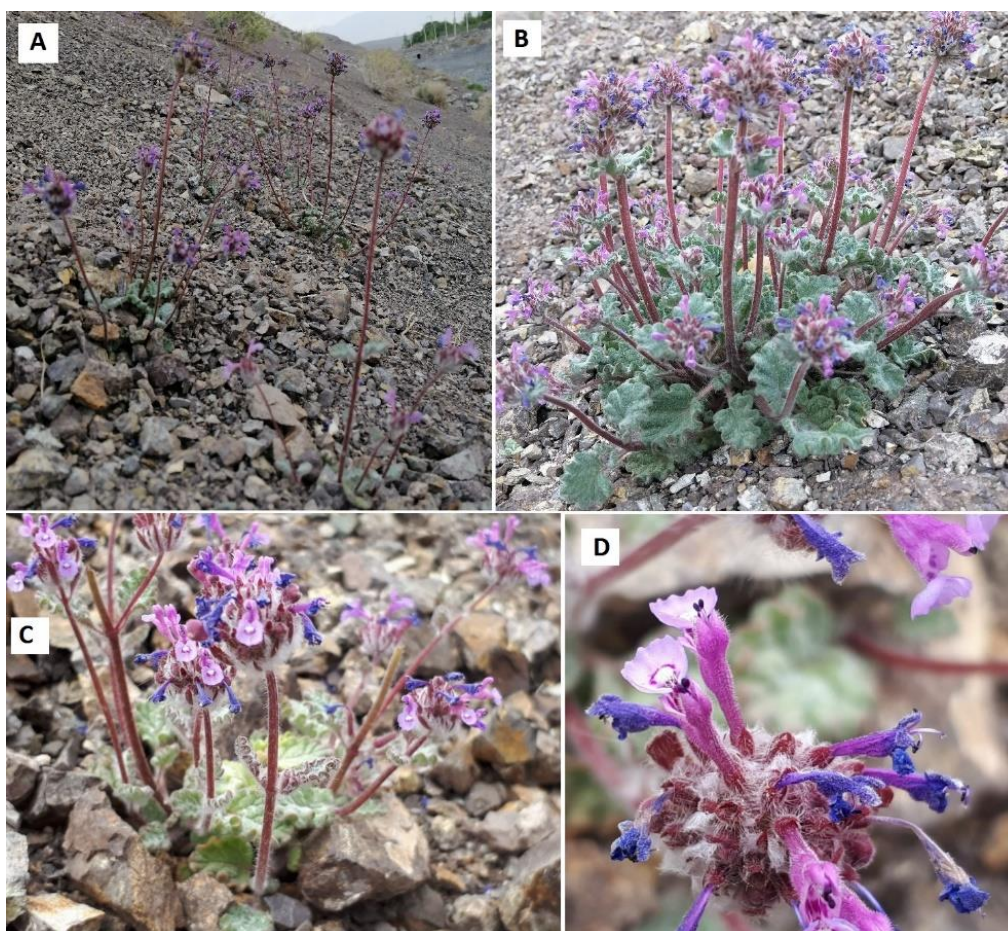
کروماتوگرافی گازی Agilent مدل A7890 مجهز به ستون ذوب شده DB-5 (۳۰ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) با آشکارساز یونیزاسیون شعله (FID) برای تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی گازی (GC) استفاده شد. برنامه دمای آون به صورت دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود که بلافاصله به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت، سپس دما به ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و در این دما به مدت ۱۰ دقیقه نگه داشته شد. دمای آشکارساز (FID) و دمای انژکتور ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. نیتروژن به‌عنوان گاز حامل، با سرعت خطی ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. داده‌های کمی از درصد‌های مساحت GC-FID بدون استفاده از فاکتورهای تصحیح بدست آمد.

کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)

تجزیه و تحلیل GC-MS بر روی یک سیستم GC-MS، Agilent، مدل A/5975CV۸۹۰ مجهز به یک ستون ذوب شده DB-5 (۳۰ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) انجام شد. دمای آون به صورت دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود، بلافاصله به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت، سپس دما به ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد در ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه رسید و به مدت ۵ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای انژکتور و خط انتقال به ترتیب ۲۶۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم با سرعت

(شکل ۲ (C-E)). مادگی فوقانی که طی نمو میوه شیزوکارپ چهار فندقه‌ای (تتراکن) ایجاد می‌کند در کاسه پایای گل احاطه شده است (شکل ۲ (D و G)). فندقه‌ها بیضوی-مستطیلی، در مراحل ابتدایی نمو، کرمی رنگ (شکل ۲ (D)) و در مرحله بلوغ قهوه‌ای تیره است (شکل ۲ (G)).

گلبرگ، نامنظم، لوله‌ای طویل و دو لبی می‌باشد که کرک‌های سفید به نسبت بلندی در دهانه یکی از لب‌های جام گل قرار دارد (شکل ۲ (D-A)). در شکل ۲ (D) جام گل صورتی-ارغوانی است که طی نمو و در مرحله خشک شدن به رنگ آبی دیده می‌شود. نافه شامل چهار پرچم دی‌دینام است که به‌ویژه در مراحل اولیه به رنگ بنفش هستند و توسط شکاف طولی باز می‌شوند



شکل ۱- ساختار ریختی پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در مرحله زایشی؛

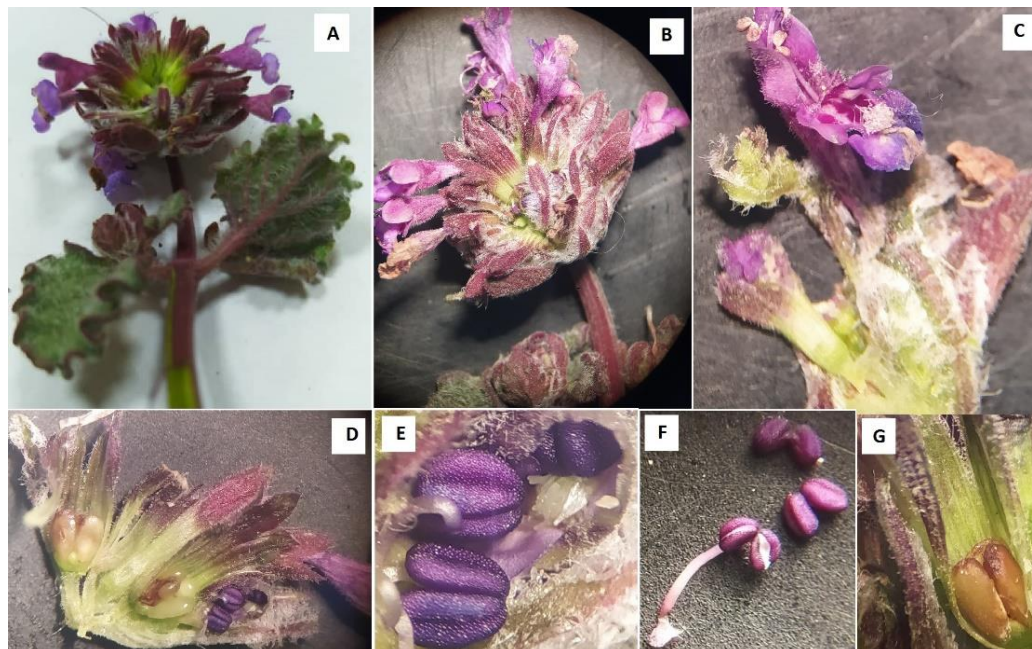
A: نمای کلی گیاه در رویشگاه (رشد یافته در شیب سنگلاخی)، B و C: برگ‌های کرک‌دار رزت و ساقه‌های گل‌دهنده با گل‌آذین

سرمانند و D: گل‌آذین با کاسه رنگی، کرک‌دار، پایا و جام دولبی سفید-صورتی

Figure 1. Morphological structure of *Nepeta bornmulleri* at generative stage; A: general view of the plant in a habitat (grown on a stony slope), B and C: hairy rosette leaves and flowering branches with head-like inflorescence, and D: inflorescence with a permanent, colored, and hairy calyx and synpetalous bilobate white-pink corolla

بر محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل در گیاه پونه‌سای هزاری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود.

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (سنجش با اسپکتروفوتومتری) نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر دو بخش رویشی (ساقه+برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه)



شکل ۲- ساختار گل آذین و گل پونه‌سای هزاری (*Nepeta bornmulleri*)؛ A: گل آذین انتهایی، B-G: ساختار گل آذین، گل و میوه با استریومیکروسکوپ، C: جام دو لپی گل و پرچم‌ها، D: میوه ۴ فندقه‌ای جوان و بساک‌ها، E و F: به ترتیب بساک جوان و شکوفا (شکوفایی طولی) و G: میوه ۴ فندقه‌ای رسیده

Figure 2. Inflorescence and flowers structure of *Nepeta bornmulleri*; A: apical inflorescence, B-G: structure of inflorescence, flower, and fruit with streammicroscopy, C: bilobate corolla and anthers, D: young tetraachene fruit and anthers, E and F: young and dehiscent (longitudinal dehiscence) anthers, respectively, and G: mature tetraachene fruit

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دو بخش رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) بر محتوای کل ترکیبات فنلی در مرحله گلدهی کامل در گیاه پونه‌سای هزاری (*Nepeta bornmulleri*)

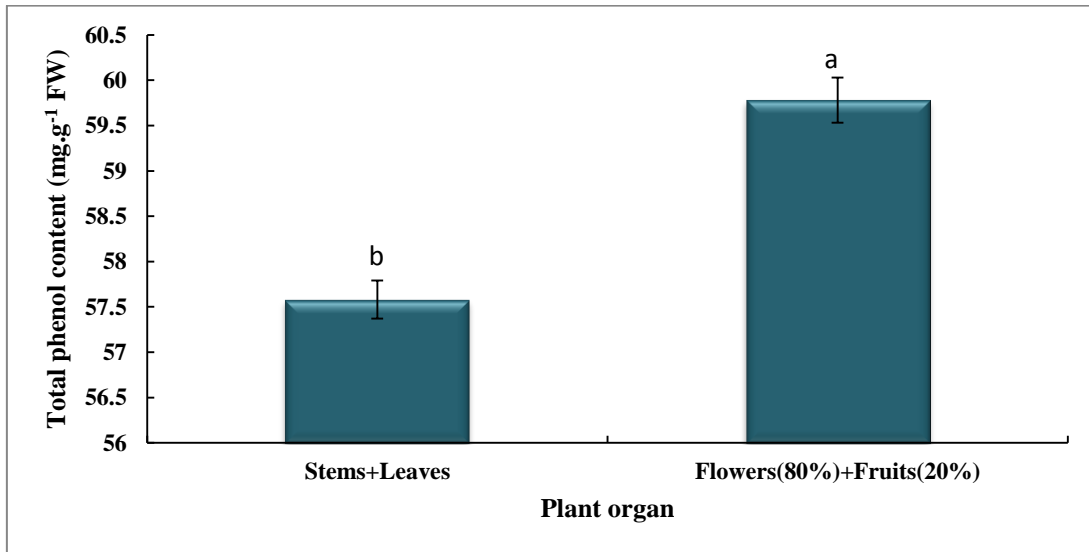
Table 1. ANOVA of two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts effects on total content of phenolic compounds at full flowering stage in *Nepeta bornmulleri*

S.O.V.	d.f.	Total phenol content	Total flavonoids content	Total anthocyanins content
Plant organ	1	3.7*	30.7*	233*
C.V. (%)		1.2	8.5	10

*: Significant at 5% probability level

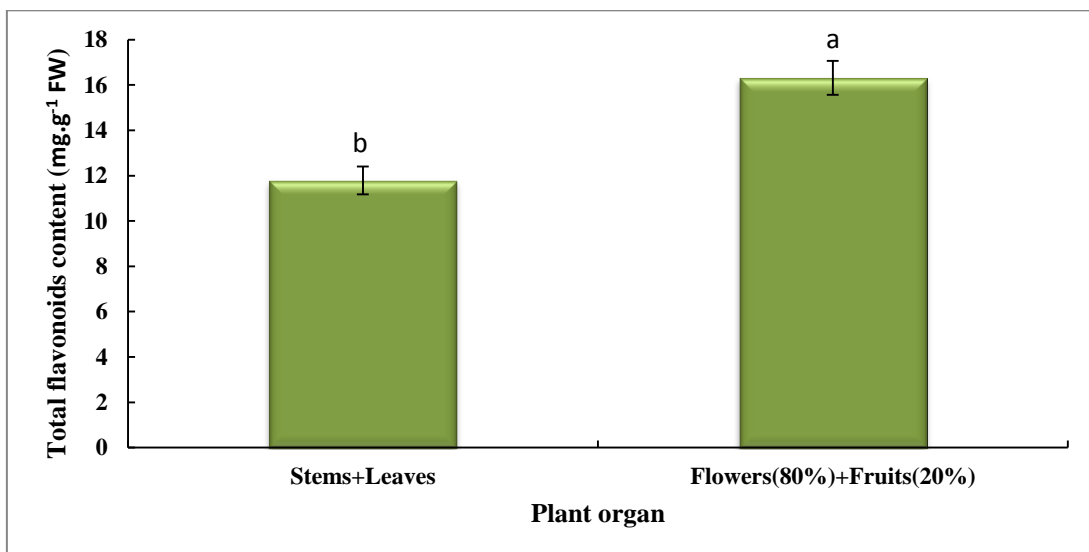
گل + ۲۰٪ میوه) در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی‌داری دارند و در مقایسه دو اندام گیاه، محتوای این ترکیبات در اندام زایشی بیشتر از بخش رویشی بود (شکل‌های ۳-۵).

محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل نتایج حاصل از تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که محتوای این ترکیبات در بخش رویشی (ساقه+برگ) و زایشی (۸۰٪



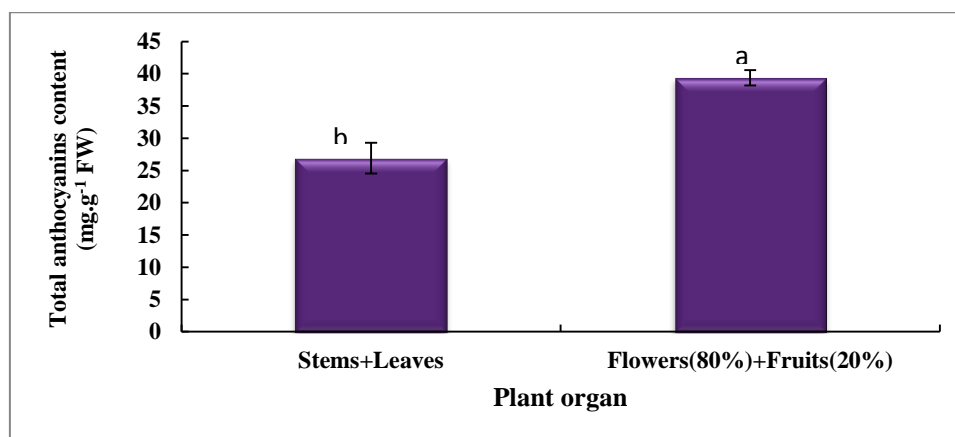
شکل ۳- محتوای فنل کل (با روش اسپکتروفتومتری) پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در دو بخش رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) در مرحله گلدهی کامل

Figure 3. Total phenol content (by spectrophotometry method) of *Nepeta bornmulleri* in two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts at full flowering stage
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test)



شکل ۴- محتوای فلاونوئید کل (با روش اسپکتروفتومتری) پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در دو بخش رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) در مرحله گلدهی کامل

Figure 4. Total flavonoids content (by spectrophotometry method) of *Nepeta bornmulleri* in two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts at full flowering stage
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test)



شکل ۵- محتوای آنتوسیانین کل (با روش اسپکتروفوتومتری) پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در دو بخش رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) در مرحله گلدهی کامل

Figure 5. Total anthocyanins content (by spectrophotometry method) of *Nepeta bornmulleri* in two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts at full flowering stage
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test)

اسید کوماریک (۲۳/۲)، کامفرول (۱۱/۹) و اسید بنزوئیک (۱۱/۶۶) و ۱۰ ترکیب در بخش زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) با بیشترین و کمترین میزان به ترتیب مربوط به لوتولین (۳۷/۰۴) و آپیژنین (۹/۹۲) شناسایی شد (جدول ۲).

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (سنجش با HPLC) نتایج شناسایی ترکیبات فنلی گیاه پونه‌سای هزاری با دستگاه HPLC نشان داد که ۶ ترکیب در بخش رویشی (برگ+ساقه) به ترتیب مقدار (میکروگرم بر میلی‌گرم) شامل لوتولین (۴۵/۵)، روتین (۳۲/۸)، اسید کافئیک (۳۰/۶)،

جدول ۲- ترکیبات فنلی (با روش HPLC) پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در دو بخش رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) در مرحله گلدهی کامل

Table 2. Phenolic compounds (by HPLC method) of *Nepeta bornmulleri* in two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts at full flowering stage

Phenolic compounds	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ DW)	
	Vegetative parts	Generative parts
Benzoic acid	11.58	11.66
Rutin	32.8	13.66
m-Coumaric acid	23.2	10.42
Caffeic acid	30.6	21.94
Luteolin	45.5	37.04
Kaempferol	11.9	10.67
Gallic acid	-	10.75
Quercitrin	-	13.04
Quercetin	-	23.57
Apigenin	-	9.92

میزان را داشت و میزان آن در بخش زایشی دو برابر رویشی بود. سیانیدین روتینوزید نیز فقط در بخش زایشی مشاهده شد (جدول ۳).

ترکیبات آنتوسیانینی شناسایی شده در بخش رویشی و زایشی گیاه پونه‌سای هزاری به ترتیب شامل ۲ و ۳ ترکیب می‌باشد که در هر دو اندام گیاه، مالویدین گلوکوزید بیشترین

جدول ۳- ترکیبات آنتوسیانینی (با روش HPLC) پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در دو بخش

رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه) در مرحله گلدهی کامل

Table 3. Anthocyanin compounds (by HPLC method) of *Nepeta bornmulleri* in two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts at full flowering stage

Anthocyanin compounds	Concentration (mg.g ⁻¹ DW)	
	Vegetative parts	Generative parts
Malvidin-3-O-glucoside	12.4	25.54
Cyanidin-3-glucoside	0.6	3.81
Cyanidin-3-rutinoside	-	0.66

جدول ۴- اجزای اسانس پونه‌سا هزاری (*Nepeta bornmulleri*) در دو بخش رویشی (ساقه + برگ) و زایشی (۸۰٪ گل + ۲۰٪ میوه)

در مرحله گلدهی کامل

Table 4. Essential oil components of *Nepeta bornmulleri* in two vegetative (stems + leaves) and generative (80% flowers + 20% fruits) parts at full flowering stage

Component	RI	Vegetative parts (%)	Generative parts (%)
1,8-cineole	1042	14.5	31.71
spathulenol	1573	31.15	16.21
myrtenol	1205	9.74	14.14
dihydro nepetalactone	1465	2.94	6.92
caryophyllene oxide	1577	6.42	4.48
trans-pinocarveol	1142	4.36	6.71
pinocarvone	1158	2.95	5.18
β-pinene	985	-	2.94
p-cymene	1032	-	1.39
α-campholenal	1129	-	1.25
β-bourbonene	1380	-	1.4
trans-verbenol	1144	-	0.93
terpinen-4-ol	1171	0.58	0.62
α-terpineol	1175	-	0.53
cuminaldehyde	1248	-	0.74
sabinene	979	-	0.34
hexadecanoic acid	1962	10.56	-
tricosane	2298	0.5	-
Unknown		9 compounds (14.59%)	4 compounds (6.21%)
Total oil composition		84%	95.5%

RI: retention index

(شامل ۱۶ ترکیب شناسایی شده (۸۹/۲۹٪) و ۴ ترکیب شناسایی نشده (۶/۲۱٪) گزارش شد که به ترتیب ۸۴٪ و ۹۵/۵٪ اسانس را تشکیل دادند. ۶ ترکیب اصلی بخش رویشی شامل اسپاتولنول، ۸،۱-سینتول، اسید هگزادکانوئیک، میرتنول، کاربوفیلن اکسید و

شناسایی اجزای اسانس (سنجش با GC و GC/MS)

نتایج نشان داد که بازده اسانس در بخش رویشی و زایشی به ترتیب ۰/۲٪ و ۰/۱٪ بود. در بخش رویشی ۱۹ ترکیب (شامل ۱۰ ترکیب شناسایی شده (۶۹/۴۱٪) و ۹ ترکیب شناسایی نشده (۱۴/۵۹٪) و در بخش زایشی ۲۰ ترکیب

ترانس-پینوکارونول بودند. در بخش زایشی، ۷ ترکیب شامل ۸،۱-سینئول، اسپاتولنول، میرتنول، دی هیدرو نپتالاکتون، ترانس-پینوکارونول، پینوکارون و کاربوفیلن اکسید، ترکیبات اصلی را تشکیل دادند. ۸،۱-سینئول و اسپاتولنول، به ترتیب بیشترین ترکیبات بخش زایشی و رویشی بودند (جدول ۴).

بحث

ویژگی‌های ریختی گیاه پونه‌سای هزاری از جمله رنگ متمایل به آبی گل‌پوش و پرچم‌ها و نیز وجود کرک در بخش‌های مختلف گیاه، نشان‌دهنده سازش گیاه با شرایط سخت آب و هوایی است. همچنین، وجود گل‌آذین مترکم سر مانند و رنگی، سبب جلب حشرات شده و گرده‌افشانی را تسهیل می‌کند. کاسبرگ‌های پایا و رنگی در حفاظت میوه‌های در حال نمو مؤثرند. با توجه به اینکه گونه بومی ایران است مطالعات زیادی روی ریخت‌شناسی و تشریح آن وجود ندارد و مطالعات محدود به کتاب فلور ایران (Jamzad, 2012) می‌باشد که برگ‌های قاعده‌ای (رزت)، گل‌آذین کاپیتولی، جام دو لبی، پرچم‌های دی‌دینام و میوه چهار فندقه‌ای را برای این گونه ذکر کرده‌اند که در این مطالعه نیز این ویژگی‌ها دیده شدند. به‌رحال، در این مطالعه به ویژگی‌های تاکسونومیکی خاص گیاه پرداخته نشد و هدف از ویژگی‌های ریختی، بیشتر معرفی ویژگی‌های عمومی گیاه و شکل رویشی و زایشی آن با عکس رنگی گرفته شده در رویشگاه و آزمایشگاه بود که ساختارهای مورد بررسی در این تحقیق، مشخص باشد و جمع‌آوری گیاه توسط محققان بعدی آسان شود (با وجودی که گیاه بومی استان کرمان است جمعیت‌های پراکنده‌ای از آن در منطقه دیده می‌شود که پراکنش کمی هم در این مناطق دارند).

در این پژوهش، مقدار اسانس در بخش رویشی و زایشی به ترتیب ۰/۲٪ و ۰/۱٪ بود که با مطالعه اسانس اندام‌های هوایی جمعیت‌های مختلف چهار گونه پونه‌سای *N. amoena*، *N. straussi*، *N. speciosa* (N. haussknechtii) از ایران نشان داده شد که بازده اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه، ۰/۱۱٪ تا ۰/۵۱٪ بود

مطالعات متعددی روی ترکیبات بیوشیمیایی در گونه‌های مختلف پونه‌سای انجام شده است. در همین راستا، تنوع اسانس و ترکیبات شیمیایی مختلفی برای برخی گونه‌های پونه‌سای قبلاً گزارش شده است. Hadi و همکاران (۲۰۱۶) سه کموتایپ را برای *N. kotschyi* گزارش کرده‌اند، از جمله کموتایپ a حاوی 7α,7α,aa۴-نپتالاکتون، کموتایپ b حاوی 7αβ,7α,aa۴-نپتالاکتون و کوبنول و کموتایپ c حاوی ژرانیل استات و کوبنول بود. بررسی اسانس اندام‌های هوایی جمعیت‌های مختلف چهار گونه پونه‌سای نیز نشان داد که نپتالاکتون به‌عنوان جزء اصلی برخی از اسانس‌های گونه‌های پونه‌سای در اسانس *N. speciosa* (بیش از ۸۲٪ در یک جمعیت و ۱۹/۵٪ در جمعیت دیگر) و اسانس *N. haussknechtii* (در درصدهای مختلف) وجود دارد، در حالی که اسانس *N. straussi* و *N. amoena* حاوی هیچ ایزومر نپتالاکتونی نبود (Sefidkon et al., 2023).

تنوع شیمیایی *N. menthoides* (Kahkeshani et al., 2018) *N. cataria* (Reichert et al., 2019) *N. nuda* (Acimovic et al., 2022) و سایر گونه‌های *Nepeta* (Talebi et al., 2020) نیز قبلاً گزارش شده بود. اما مطالعات این ترکیبات در گونه مورد مطالعه در این پژوهش، محدود به پژوهش‌های Sefidkon و همکاران (۲۰۰۷) و Akhgar و همکاران (۲۰۱۴) روی اسانس این گونه می‌باشد. مطالعات گونه‌های مختلف وجود ترکیبات فنلی متفاوتی را نشان داده است که حضور لوتولین، اسید گالیک، آپیژنین و اسید کافئیک در بیشتر گونه‌ها گزارش شده است (Sharma et al., 2016; Ahmad et al., 2018; Salehi et al., 2021). به‌طور مشابه در این مطالعه نیز این ترکیبات در بخش‌های مختلف شناسایی شدند. مطالعه اسانس گونه‌های مختلف نیز براساس نوع گونه و نوع اندام مورد مطالعه،

همچنین، مونوترپن ۸،۱-سینئول دارای خواص آنتی‌اکسیدان، ضد تومور و ضد میکروبی (Dhifi *et al.*, 2016) می‌باشد و یک ترکیب شناخته شده گزارش شده در مطالعات بالینی است که به‌طور مؤثری آسم را کنترل و بهبود می‌بخشد و از تشدید بیماری انسدادی مزمن ریوی جلوگیری می‌کند (Juergens, 2014). ایزومرهای مختلف نپتالاکتون که در بیشتر گونه‌های پونه‌سا گزارش شده‌اند دارای اثرهای ضد میکروبی، ضد حشره‌ای و نیز در صنایع عطرسازی و آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شوند (Musso *et al.*, 2017؛ Srivastava *et al.*, 2021؛ Suntar *et al.*, 2018). وجود این ترکیبات مهم در گونه مورد مطالعه، اهمیت آن را در صنایع دارویی، غذایی، کشاورزی و آرایشی و بهداشتی نشان می‌دهد. مطالعه کشت گیاه در گلخانه و مزرعه و استفاده از بخش‌های مختلف آن، می‌تواند به حفظ ذخیره ژنتیکی گیاه و استفاده بهینه از آن کمک نماید.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه در دو بخش رویشی و زایشی گیاه پونه‌سای هزاری بررسی و مقایسه شد و محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل به‌طور معنی‌داری در بخش زایشی بیشتر از بخش رویشی بود. پروفایل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با دستگاه HPLC، ۶ ترکیب در بخش رویشی و ۱۰ ترکیب در بخش زایشی را نشان داد و در هر دو بخش بیشترین مقدار مربوط به لوتئولین بود. تنوع و میزان ترکیبات آنتوسیانینی شناسایی شده در بخش زایشی بیشتر از بخش رویشی بود. مقدار اسانس در بخش رویشی و زایشی به ترتیب ۰/۲٪ و ۰/۱٪ بود. در بخش رویشی ۱۹ ترکیب و در بخش زایشی ۲۰ ترکیب اسانس شناسایی شدند که به ترتیب ۸۴٪ و ۹۵/۵٪ اسانس را تشکیل دادند. ۸،۱-سینئول و اسپاتولنول، به ترتیب بیشترین ترکیبات بخش زایشی و رویشی بودند. وجود ترکیبات فنلی و اسانس‌های ضروری شناسایی شده در گیاه، نشان‌دهنده اهمیت گونه در صنایع دارویی، کشاورزی و تجاری می‌باشد.

مرحله نموی و شرایط آب و هوایی متفاوت گزارش شده است. ترکیبات در گونه‌های مختلف متفاوت است و نپتالاکتون، سینئول، بتا-پینن و ژرانیل استات ترکیبات اصلی معرفی شده‌اند (Memariani *et al.*, 2019). به‌هرحال، در بیشتر این مطالعات، عمده ترکیبات اسانس مربوط به نپتالاکتون، ۸،۱-سینئول، کاربوفیلین‌اکسید، اسپاتولنول و جرماکرن D گزارش شده‌اند (Javidnia *et al.*, 2002؛ Formisano *et al.*, 2011؛ Sefidkon & Jamzad, 2007؛ Nejad Habibvash *et al.*, 2017؛ Goldansaz *et al.*, 2020؛ Sharma *et al.*, 2021). مطالعات Hadi و همکاران (۲۰۱۸) روی گونه‌های مختلف پونه‌سا نشان داد که دو ترکیب نپتالاکتون و ۸،۱-سینئول، ترکیبات اصلی توده‌های بررسی شده بودند. Akhgar و همکاران (۲۰۱۴) نیز با مطالعه ترکیب اسانس اندام‌های مختلف در این گونه، حضور نپتالاکتون (۳۹/۸٪)، کاربوفیلین‌اکسید (۲۴/۱٪) و ۸،۱-سینئول (۱۲/۸٪) را به‌عنوان اجزاء اصلی گزارش کردند. نتایج این مطالعه نیز حضور دو ترکیب عمده ۸،۱-سینئول (۳۱/۷٪) و اسپاتولنول (۳۱/۲٪) را نشان داد که به ترتیب بیشترین ترکیبات بخش زایشی و رویشی بودند. در بررسی و مقایسه اسانس اندام‌های هوایی جمعیت‌های مختلف چهار گونه پونه‌سا، ۸،۱-سینئول ترکیب اصلی در اسانس یک جمعیت از *N. straussi* (حدود ۴۰٪) و دو جمعیت *N. haussknechtii* (بیش از ۴۵٪) بود. درصد بالای از اکسید کاربوفیلین (۳۶/۲٪) و اسید هگزا دکانوئیک (۳۳/۴٪) در اسانس دو جمعیت *N. amoena* از دو محل (با ارتفاعات مختلف) به‌طور جداگانه یافت شد (Sefidkon *et al.*, 2023).

خواص دارویی گونه‌های مختلف پونه‌سا به ترکیبات فنلی و اسانس آن نسبت داده شده است. اسپاتولنول یک سزکویی‌ترین است که به‌عنوان یک ترکیب اسانس در گونه‌های مختلف شناسایی شده است. گزارش شده است که اسانس‌های حاوی اسپاتولنول به‌عنوان یک ترکیب اصلی، دارای فعالیت‌های ضد تکثیر، ضد التهابی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Nascimento *et al.*, 2018).

سیاسگزاری

آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان و دانشگاه شهید باهنر کرمان سیاسگزاری نمایند.

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از کلیه همکاران مرتبط با این پژوهش در دانشگاه پیام نور، مرکز تحقیقات و

References

- Acimovic, M., Loncar, B., Pezo, M., Stankovic Jeremic, J., Cvetkovic, M., Rat, M. and Pezo, L., 2022. Volatile compounds of *Nepeta nuda* L. from Rtanj Mountain (Serbia). *Horticulturae*, 8(2): 85.
- Akhgar, M.R., Ghazanfari, D. and Rahbari, H., 2014. Chemical composition of the essential oils from leaves, flowers, stems and roots of *Nepeta bornmuelleri* Hausskn. ex Bornm. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(2): 223-230.
- Ahmad, N., Shinwari, Z.K., Hussain, J. and Ahmad, I., 2016. Insecticidal activities and phytochemical screening of crude extracts and its derived fractions from three medicinal plants *Nepeta leavigata*, *Nepeta kurramensis* and *Rhynchosia reniformis*. *Pakistan Journal of Botany*, 48: 2485-2487.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M. and Shahidi, F., 2005. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7592-7599.
- Amira, E.A., Behija, S.E., Bellig, M., Lamia, L., Manel, I., Mohamed, H. and Lotfi, A., 2012. Effects of the ripening stage on phenolic profile, phytochemical composition and antioxidant activity of date palm fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 10896-10902.
- Amirmohammadi, F.Z., Azizi, M., Neamati, S.H., Memariani, F. and Murphy, R., 2019. Nutlet micromorphology of Iranian *Nepeta* (Lamiaceae) species. *Nordic Journal of Botany*, 37(8). 1-18.
- Atghaei, M., Sefidkon, F., Darini, A., Sadeghzadeh Hemayati, S. and Abdossi, V., 2020. Essential oil content and composition of the spathe in some date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23: 292-300.
- Bettaieb, I., Bourgou, S., Wannes, W.A., Hamrouni, I., Limam, F. and Marzouk, B., 2010. Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 10410-10418.
- Dabiri, M. and Sefidkon, F., 2003. Chemical composition of *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse oil from Iran. *Flavour and fragrance Journal*, 18(3): 225-227.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N. and Mnif, W., 2016. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3: 25-31.
- do Nascimento, K.F., Moreira, F.M.F., Santos, J.A., Kassuya, C.A.L., Croda, J.H.R., Cardoso, C.A.L., do Carmo Vieira, M., Ruiz, A.L.T.G., Foglio, M.A., de Carvalho, J.E. and Formagio, A.S.N., 2018. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *Journal of ethnopharmacology*, 210: 351-358.
- Dudek, M., Matławska, I. and Szkudlarek, M., 2006. Phenolic acids in the flowers of *Althaea rosea* var. nigra. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 63: 207-211.
- Formisano, C., Rigano, D. and Senatore, F., 2011. Chemical constituents and biological activities of *Nepeta* species. *Chemistry & Biodiversity*, 8: 1783-1818.
- Ghannadi, A., Aghazari, F., Mehrabani, M., Mohaghegh, Z.A. and Mehrgan, I., 2003. Quantity and composition of the SDE prepared essential oil of *Nepeta macrosiphon* Boiss. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2: 103-105.
- Ghiassy-Oskoe, M., AghaAlikhani, M., Sefidkon, F., Mokhtassi-Bidgoli, A. and Ayyari, M., 2020. Blessed thistle growth, essential oil content, yield and composition as influenced by plant density and nitrogen fertilizer. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23: 276-291.
- Goldansaz, S.M., Jafarian Jeloudar, Z., Safaeian, R. and Sonboli, A., 2017. Eco-phytochemistry of *Nepeta asterotricha* Rech. f. (Case study: Deh Bala, Yazd). *Journal of Medicinal plants and By-product*, 6(2): 213-219.
- Hadi, N., Sefidkon, F., Shojaeiyan, A. and Jafari, A., 2016. Essential oil diversity of 21 populations from Iranian endemic species *Nepeta kotschyi* Boiss. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32: 189-202.
- Hadi, N., Shojaeiyan, A., Sefidkon, F. and Jafari, A.A., 2018. 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., Ingrouille, M. and Simmonds, M.S., 2003. Three new species of *Nepeta* (Lamiaceae) from Iran. *Taxon*, 52(1): 93-98.
 - Jamzad, Z., 2012. Flora of Iran. No. 76: Lamiaceae. Research Institute of Forest and Rangelands. (In Persian)
 - 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: 20-22.
 - Juergens, U.R., 2014. Anti-inflammatory properties of the monoterpene 1,8-cineole: current evidence for co-medication in inflammatory airway diseases. *Drug research*, 64(12): 638-646.
 - Justesen, U., Knuthsen, P. and Leth, T., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 799: 101-110.
 - Kahkeshani, N., Hadjiakhoondi, A., Navidpour, L., Akbarzadeh, T., Safavi, M., Karimpour-Razkenari, E. and Khanavi, M., 2018. Chemodiversity of *Nepeta menthoides* Boiss. & Bohse. essential oil from Iran and antimicrobial, acetylcholinesterase inhibitory and cytotoxic properties of 1,8-cineole chemotype. *Natural product research*, 32(22): 2745-2748.
 - Memariani, Z., Rahimi, A., Farzaei, M.H. and Nejad, N.Z., 2019. *Nepeta menthoides* Boiss. & Buhse, an endemic species in Iran: A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 8: 194-204.
 - Mistic, D., Siler, B., Gasic, U., Avramov, S., Zivkovic, S., Nestorović Zivkovic, J., Milutinović, M. and Tesic, Z., 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(1): 72-85.
 - 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.
 - Musso, L., Scaglia, B., Al Haj, G., Arnold, N.A., Adani, F., Scari, G., Dallavalle, S. and Iriti, M., 2017. Chemical characterization and nematocidal activity of the essential oil of *Nepeta nuda* L. ssp. *pubescens* and *Nepeta curviflora* Boiss. from Lebanon. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6): 1424-1433.
 - 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.
 - Narimani, R., Moghaddam, M., Ghasemi Pirbalouti, A. and Mojarab, S., 2017. Essential oil composition of seven populations belonging to two *Nepeta* species from Northwestern Iran. *International journal of food properties*, 20(sup2): 2272-2279.
 - Nejad Habibvash, F., Najafzadeh, R. and Mahmoudi, A., 2020. Essential oil content and composition of *Nepeta kotschyi* Boiss. (Lamiaceae) from Iran during different phenological stages. *Journal of Medicinal plants and By-product*, 9: 123-131.
 - Nogués, S. and Baker, N.R., 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1309-1317.
 - Rechinger, K.H., 1982. *Nepeta* (Labiatae) in Rechinger Flora Iranica. Akademische Druck-U. Verlagsanstalt, Graz-Austria, 150: 108-216.
 - Reichert, W., Ejercito, J., Guda, T., Dong, X., Wu, Q., Ray, A. and Simon, J.E., 2019. Repellency assessment of *Nepeta cataria* essential oils and isolated nepetalactones on *Aedes aegypti*. *Scientific reports*, 9(1): 1524.
 - 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., Masoudi, S., Vahedi, M. and Fathollahi, R., 2013. Composition of the essential oils of four *Nepeta* species from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(6): 699-704.
 - Sajjadi, S.E., Ghassemi, N. and Marini, M., 2012. Chemical constituents of the essential oil of *Nepeta prostrata* from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(4): 557-560.
 - Salehi, B., Valussi, M., Jugran, A.K., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Stojanović-Radić, Z.Z., Antolak, H., Kręgiel, D., Mileski, K.S. and Sharifi-Rad, M., 2018. *Nepeta* species: From farm to food applications and phytotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, 80: 104-122.
 - 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 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: 262-265.
 - Sefidkon, F., Zakerian, F., Moradi, A., Kalvandi, R., Bidarlord, M. and Asgari, F., 2023. Analysis of the Essential Oils of *Nepeta straussii*, *N. amoena*, *N. haussknechtii* and *N. speciosa* from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 19(1): 24-36.
 - Sharma, A., Cooper, R., Bhardwaj, G. and Cannoo, D.S., 2021. The genus *Nepeta*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological properties. Journal of Ethnopharmacology, 268: 679-704.
 - Sonboli, A., Salehi, P. and Yousefzadi, M., 2004. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. from Iran. Zeitschrift für Naturforschung C, 59: 653-656.
 - Sonboli, A., Salehi, P. and Allahyari, L., 2005. Essential oil composition of *Nepeta involucrata* from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 41: 683-685.
 - Srivastava, A., Gupta, S., Singh, S., Verma, R.S., Srivastava, R.K., Gupta, A.K. and Lal, R.K., 2021. Genetic variability and elite line selection for high essential oil and nepetalactone content in catmint (*Nepeta cataria* L.). American Journal of Plant Sciences, 12(7): 1135-1154.
 - Sutar, I., Nabavi, S.M., Barreca, D., Fischer, N. and Efferth, T., 2018. Pharmacological and chemical features of *Nepeta* L. genus: Its importance as a therapeutic agent. Phytotherapy Research, 32(2): 185-198.
 - Talebi, S.M., Nohooji, M.G. and Yarmohammadi, M., 2020. Essential oil analysis of eight *Nepeta taxa* in Iran. Mediterranean Botany, 41(1): 43-53.