



Study of morphological and phytochemical characteristics of some populations of *Alcea koelzii* I. Riedl. in Iran

Yasaman Mashhadi Tafreshi¹ and Ghasem Eghlima^{2*} 

1- M.Sc. student, Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

2*- Corresponding Author, Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran, E-mail: gh_eghlma@sbu.ac.ir

Received: 06/02/2025

Revised: 26/11/2025

Accepted: 26/11/2025

Abstract

Background and Objectives: *Alcea koelzii*, a species within the genus *Alcea* and a member of the Malvaceae family, possesses a wide range of biological properties, including anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, anti-estrogenic, enzyme-inhibitory, and immunomodulatory activities, due to its diverse array of bioactive compounds. These constituents include flavonoids, phenolic acids, coumarins, triterpenes, alkaloids, acidic polysaccharides (mucilage), pectins, scopoletin, asparagine, tannins, steroids, proteins, and various minerals. Considering the significance of marshmallow as a native plant species and its recognized value in the pharmaceutical, food, cosmetic, and health industries, the domestication of *A. koelzii*, the development of uniform high-quality cultivars, and the establishment of extensive cultivation systems are important and necessary. Accordingly, this study aimed to examine the diversity of functional, morphological, and phytochemical traits-particularly anthocyanin, mucilage, and phenolic compound contents-among different *A. koelzii* populations as an initial step toward the cultivation and domestication of this species.

Methodology: To assess morphological, functional, and phytochemical characteristics, multiple *A. koelzii* populations were collected from natural habitats during the summer of 2024. Plants were harvested at full flowering to standardize the evaluation of the target indicators. Morphological and functional traits, including plant height, number of lateral branches, flower diameter, number of flowers, and flower dry weight per plant, were measured. Phytochemical attributes, comprising total phenolic content, total flavonoids, antioxidant activity, anthocyanin content, mucilage, and carbohydrate content, were also quantified. Phenolic compounds were analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). All experiments were performed with five replicates, and results are reported as means $\pm$ standard deviation (SD). One-way analysis of variance (ANOVA) was employed by SAS 9.4 to examine significant variation among populations, followed by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. A biplot was produced using Origin 2022, and cluster analysis was conducted via the Euclidean distance coefficient and Ward's method. Correlation analysis was completed using R software.

Results: The highest coefficients of variation were observed for rutin (223.37%), chlorogenic acid (195.91%), antioxidant activity (113.20%), and flower dry weight per plant (78.07%). The TAR population exhibited the highest flower dry weight (1105.14 g/plant), while the SIL population showed the lowest (672.38 g/plant). The ZAN (27.35%) and SIL (23.34%) populations demonstrated the highest mucilage contents. Anthocyanin concentration varied



from 1.86 mg cyanidin-3-O-glucoside/g dry weight in ZAN to 3.72 mg/g in QOR. The SIL population contained the highest levels of total phenols (29.72 mg gallic acid/g dry weight) and total flavonoids (16.84 mg rutin/g dry weight). Total carbohydrate content ranged from 30.73% to 53.41%, with BAN exhibiting the highest and HAS the lowest values. HPLC analysis identified rutin, chlorogenic acid, kaempferol, and apigenin as predominant phenolic compounds across populations.

Conclusion: The findings of this study demonstrate substantial genetic diversity among *A. koelzii* populations in relation to morphological and phytochemical characteristics. The pronounced variability observed across key parameters underscores the strong potential of these populations for selection and utilization in breeding, cultivation, and production programs. These results support the broader goals of domestication and the commercial development of this valuable medicinal species.

Keywords: Anthocyanin, breeding, diversity, mucilage, marshmallow.

بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی برخی جمعیت‌های *Alcea koelzii* I.Riedl. ایران

یاسمن مشهدی تفرشی^۱ و قاسم اقلیما^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

پست الکترونیک: gh_eghlma@sbu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷

چکیده

سابقه و هدف: *Alcea koelzii* از خانواده پنیرک (Malvaceae) است. این گونه به دلیل داشتن فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، کومارین‌ها، تری‌ترین‌ها، آلکالوئیدها، پلی‌ساکاریدهای اسیدی (موسیلاژ)، پکتین‌ها، اسکوپولتین، آسپاراژین، تانن‌ها، استروئیدها، پروتئین‌ها و مواد معدنی، دارای خواص بیولوژیکی مختلفی از جمله ضدالتهاب، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد استروژنی، مهارکننده آنزیم و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی است. نظر به اهمیت گیاه ختمی به عنوان یک گونه گیاهی بومی کشور و جایگاه و ارزش آن در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، اهلی کردن، ایجاد ارقام مرغوب و همگن و کشت وسیع این گیاهان با اهمیت و ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین این مطالعه با هدف بررسی تنوع صفات عملکردی، مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (به‌ویژه محتوای آنتوسیانین، موسیلاژ و ترکیب‌های فنلی) جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* به عنوان اولین قدم در جهت کشت و اهلی‌سازی این گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی، عملکردی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های *A. koelzii* جمعیت‌های مختلف از رویشگاه‌های طبیعی در تابستان ۱۴۰۳ و مرحله گلدهی کامل جمع‌آوری شد. خصوصیات مورفولوژیکی و عملکردی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، قطر گل، تعداد گل، وزن خشک گل در بوته و خصوصیات فیتوشیمیایی شامل محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای آنتوسیانین، محتوای موسیلاژ و کربوهیدرات اندازه‌گیری شد و ترکیب‌های فنلی به‌وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شدند. تمام آزمایش‌های انجام‌شده در این تحقیق در پنج تکرار انجام شد. نتایج به‌دست‌آمده به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. برای ارزیابی اختلاف معنی‌دار بین ارقام در مورد صفات اندازه‌گیری شده، تجزیه واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد انجام شد. نمودار بای‌پلات و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب فاصله اقلیدسی و روش Ward با استفاده از نرم‌افزار Origin نسخه ۲۰۲۲ انجام گردید. علاوه بر این، از نرم‌افزار R برای ایجاد نمودار همبستگی استفاده شد.

نتایج: بالاترین ضریب تغییرات مربوط به روتین (۲۲۳/۳۷٪) اسید کلروژنیک (۱۹۵/۹۱٪)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۱۳/۲۰٪) و وزن خشک گل در بوته (۷۸/۰۷٪) بود. بیشترین وزن خشک گل (۱۱۰۵/۱۴ گرم در هر بوته) در جمعیت TAR و کمترین آن (۶۷۲/۳۸ گرم در هر بوته) مربوط به جمعیت SIL بود. جمعیت‌های ZAN (۲۷/۳۵٪) و SIL (۲۳/۳۴٪) بیشترین میزان موسیلاژ را داشتند. میزان آنتوسیانین در گونه‌های مختلف از ۱/۸۶ (در ZAN) تا ۳/۷۲ (در QOR) میلی‌گرم سیانیدین ۳-ا-گلوکوزاید بر گرم وزن خشک متغیر بود. حداکثر محتوای فنل کل (۲۹/۷۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید کل (۱۶/۸۴ میلی‌گرم معادل روتین بر گرم وزن خشک) در جمعیت SIL مشاهده شد. محتوای کربوهیدرات کل بین ۳۰/۷۳ تا ۵۳/۴۱٪ متغیر بود که بیشترین و کمترین آن به‌ترتیب در BAN و HAS مشاهده شد. ترکیب‌های فنلی از قبیل روتین، اسید کلروژنیک، کامفرول و آپیزنین به‌عنوان ترکیب‌های فنلی اصلی به وسیله HPLC شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که بین جمعیت‌های *A. koelzii* تنوع ژنتیکی قابل توجهی از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی وجود دارد. تنوع فوق‌العاده از نظر پارامترهای مورد مطالعه، نشان‌دهنده قابلیت جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* برای انتخاب و استفاده در برنامه‌های اصلاح‌نژاد، کشت و تولید است.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، اصلاح، تنوع، موسیلاژ، ختمی.

مقدمه

ارزش تجاری و استفاده از گیاهان دارویی و معطر به دلیل داشتن ترکیب‌های فعال زیستی در طب سنتی، صنایع داروسازی، آرایشی-بهداشتی و غذایی در سراسر جهان رو به گسترش است. استفاده از فراورده‌های حاصل از این ترکیب‌ها در صنایع مختلف و تأثیر بیولوژیکی آن بر بدن انسان به‌طور گسترده مورد تأیید قرار گرفته است (Tiwari et al., 2023).

جنس *Alcea* متعلق به خانواده پنیرکیان (Malvaceae) است که با داشتن حدود ۷۰ گونه علفی یکساله و چندساله در آسیا، اروپا و آمریکا پراکنش دارد (Sharifi et al., 2024). این جنس در ایران دارای ۳۴ گونه بومی است که به‌طور طبیعی در سراسر ایران در مراتع وجود دارد (Uzunhisarcikli & Vural, 2012). با توجه به ظاهر و هندسه چشمگیر آن، *Alcea* را می‌توان به راحتی از سایر جنس‌ها تشخیص داد. گل‌ها یا به صورت انفرادی هستند یا به صورت خوشه یا دسته‌هایی روی یک ساقه عمودی بدون شاخه قرار گرفته‌اند که با سرعت زیادی تا بیش از ۲ متر رشد می‌کنند. این جنس همچنین با داشتن گلبرگ‌های بلند و بریدگی‌دار در رنگ‌های سفید و زرد تا صورتی و بنفش مشخص می‌شود. برگ‌ها معمولاً روی دمبرگ‌های بلند ظاهر می‌شوند و اغلب لوب‌دار یا دندانه‌دار هستند. از دیدگاه صنعتی و دارویی، *Alcea* یکی از مهمترین جنس‌های شناخته شده در خانواده پنیرکیان است (Azadeh et al., 2020).

گیاه ختمی حاوی نشاسته، پکتین، ساکارز، موسیلاژ، ساکاریدها، فلاونوئید، استروئید، تری‌ترپنوئید، کومارین و

مواد معدنی از جمله کلسیم، منیزیم، کروم، پتاسیم، نیکل، سدیم، مس و اسیدهای آمینه از جمله ترئونین، سرین، گلوتامین، پرولین، گلیسین، سیستئین، آسپاراژین و آلانین است (Mousavi et al., 2019). این گیاه دارای خواص بیولوژیکی مختلفی از جمله خاصیت ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد استروژنی، ضد سرفه، آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کننده ایمنی، آرام‌بخش، ادرارآور، تب‌بر و نرم‌کننده است (AnjuIdris, 2018). در طب سنتی از این گیاه در درمان انواع بیماری‌ها از جمله لخته شدن خون، انقباض عضلانی و ضعف دندان و استخوان، آب مروارید، زخم معده، سنگ کلیه، درمان سرفه و مشکلات تنفسی، سوختگی پوست، گاستریت خفیف، التهاب، زخم، آبسه و رفع یبوست استفاده می‌شود (Yashaswini et al., 2011; Reinelt & Melzig, 2017).

علاوه بر خاصیت دارویی، این گونه در صنایع غذایی نیز به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. امروزه یکی از دغدغه‌های صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی جایگزینی و استفاده از رنگ‌های طبیعی به جای رنگ‌های مصنوعی است که آنتوسیانین‌ها کاندیدای اصلی برای این موضوع هستند (Ghareaghajlou et al., 2021). گل‌های رنگی جنس *Alcea* با داشتن سطوح بالای آنتوسیانین (که گروهی از رنگدانه‌های طبیعی هستند) به‌عنوان یک منبع غنی از رنگ‌های غذایی طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Azadeh et al., 2020). همچنین گل‌ها و ریشه ختمی سرشار از هیدروکلوئیدهای پلی‌ساکارید مانند موسیلاژ است. موسیلاژها دسته‌ای از درشت و مولکول‌های زیستی هستند که با داشتن خصوصیات فیزیکی و شیمیایی به‌عنوان امولسیفایر، غلیظ

کننده، کاهنده اصطکاک، عامل تعلیق، تثبیت‌کننده، ملین و نگهدارنده آب در صنایع مختلف داروسازی و غذایی کاربرد دارند (Sharifi et al., 2024).

امروزه بخش زیادی از مواد اولیه گیاه ختمی از رویشگاه‌ها طبیعی برداشت می‌شود و در بازارهای داخلی ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد، یا به خارج از کشور صادر می‌شود. افزایش بهره‌برداری از طبیعت و مصرف بی‌رویه گیاهان دارویی، موجب فرسایش سریع اکوسیستم‌ها و زیستگاه‌های طبیعی و از بین رفتن گونه‌های دارویی می‌شود (Pourhosseini et al., 2020). کشت و کار و اهلی‌سازی یکی از مهمترین رویکردها برای حفاظت از گیاهان دارویی می‌باشد. اهلی کردن گیاهان دارویی، موجب دسترسی راحت به مواد خام گیاهی و کاهش فشار جمع‌آوری بر روی عرصه طبیعی می‌شود (Hatami et al., 2022). مهمترین و اولین قدم برای اهلی کردن گیاهان دارویی بررسی دقیق جنبه‌های مختلف فیتوشیمیایی، ژنتیکی، فیزیولوژیکی و ظرفیت تولید ژنوتیپ‌های گونه مورد نظر می‌باشد. بنابراین مطالعه تنوع ژنتیکی گیاهان موجود براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی، عملکردی و فیتوشیمیایی می‌تواند اطلاعات پایه‌ای و اساسی برای برنامه‌ریزی اهلی‌سازی، کشت و اصلاح را در اختیار اصلاحگران قرار دهد (Eghlima et al., 2024).

مواد و روش‌ها

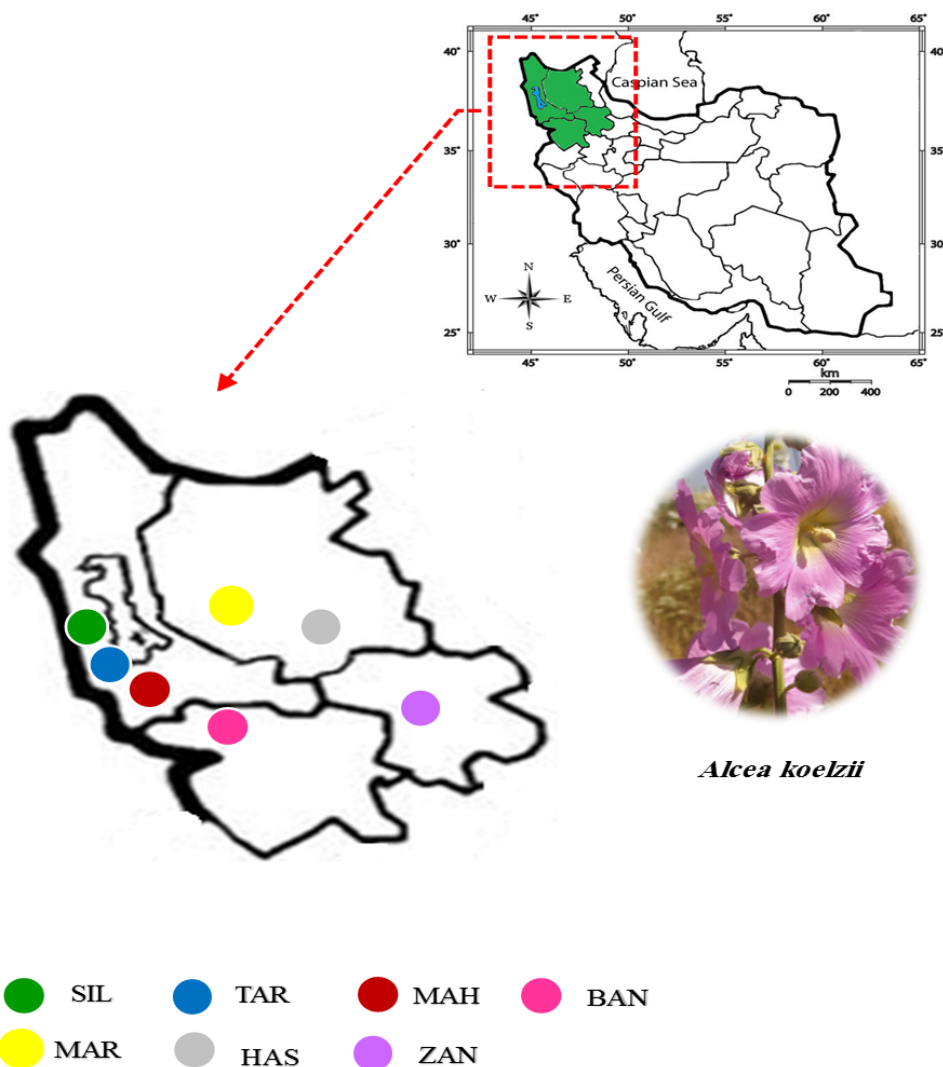
مواد گیاهی

با توجه به پراکندگی گسترده *A. koelzii* در مناطق مختلف ایران، زیستگاه‌های مختلف این گونه براساس تنوع گیاهی و اقلیمی شناسایی شدند. نمونه‌برداری از مناطق هدف در فصل تابستان و در مرحله گلدهی کامل انجام شد. از هر منطقه ۵ فرد با فاصله ۱۰۰ متری برای بررسی جمعیت آن منطقه مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده به آزمایشگاه اکوفیزیولوژی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی منتقل شدند. نمونه‌ها در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند و بعد نمونه‌های خشک‌شده پودر و برای انجام آنالیزهای فیتوشیمیایی استفاده شدند. ویژگی‌های جغرافیایی مکان‌های جمع‌آوری نمونه‌ها در شکل ۱ و جدول ۱ ارائه شد. نمونه‌ها توسط دکتر علی سنبلی شناسایی شده و نمونه‌های هرباریومی در هرباریوم دانشگاه شهید بهشتی نگهداری گردید (جدول ۱).

نظر به اهمیت گیاه ختمی به‌عنوان یک گونه گیاهی بومی کشور و جایگاه و ارزش آن در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، اهلی کردن، ایجاد ارقام مرغوب و همگن و کشت وسیع این گیاهان با اهمیت و ضروری به‌نظر می‌رسد. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی تنوع صفات عملکردی، مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (به‌ویژه محتوای آنتوسانین، موسیلاژ و ترکیب‌های فنلی) جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* به‌عنوان اولین قدم در جهت کشت و اهلی‌سازی این گیاه انجام شد. صنایع وابسته نیازمند گیاهان همگن و کیفیت بالا از

جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی مناطق جمع‌آوری جمعیت‌های *Alcea koelzii*Table 1- Geographical information for the collection regions of *Alcea koelzii* populations

No.	Location	Code	Voucher number	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)	Mean annual temperature (°C)	Mean annual precipitation (mm)
1	Kurdistan, Bane, Blajer	BAN	MPH-3301	36°10'	46°02'	1651	14.0	582
2	West Azerbaijan, Urmia, Tergever	TAR	MPH-3306	37°08'	45°09'	1814	12.0	443
3	West Azerbaijan, Urmia, Silvaneh	SIL	MPH-3308	37°25'	44°49'	300	13.5	318
4	West Azerbaijan, Mahabad, Qarahbolagh	MAH	MPH-3309	36°37'	45°59'	1840	12.5	392
5	East Azerbaijan, Maragheh, Yayshahr	MAR	MPH-3313	37°34'	46°20'	2018	13.2	340
6	East Azerbaijan, Hashtrud, Shordargh	HAS	MPH-3315	37°22'	46°51'	1659	10.5	468
7	Zanjan, Zanjan, Sofilar	ZAN	MPH-3317	37°02'	47°58'	1234	11.5	325

شکل ۱- نقشه پراکندگی جمعیت‌های جمع‌آوری شده از گونه *Alcea koelzii*Figure 1. Distribution map of *Alcea koelzii* populations collected

ارزیابی صفات اگرومورفولوژیکی

پارامترهای مورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد گل در هر بوته و قطر گل در مرحله گلدهی کامل با استفاده از خط‌کش و کولیس دیجیتال ثبت شدند. سپس گل‌های برداشت شده به آزمایشگاه منتقل و در دمای اتاق خشک شدند. آنگاه وزن خشک گل‌ها به عنوان صفت مهم عملکردی با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد.

استخراج و عملکرد موسیلاژ

نمونه‌های گل آسیاب شده، متعاقباً با آب مقطر مخلوط شدند تا با استفاده از روش آب داغ، براساس روش Husain و همکاران (۲۰۱۹) موسیلاژ استخراج شود. نمونه‌ها با نسبت وزنی به حجم ۱:۱۰۰ در آب مقطر غوطه‌ور شده و به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شدند. پس از خنک شدن تا دمای اتاق، موسیلاژ محلول در آب با استفاده از قیف بوختر با کمک خلأ و کاغذ صافی استاندارد از بقایای گیاهی فیلتر شد. محلول حاصل با تبخیر آب با دستگاه تبخیرگر چرخشی (RV10, IKA, Germany) در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمانی که تقریباً به ۴۰ میلی‌لیتر کاهش یابد، غلیظ شد. برای رسوب موسیلاژ، ۱/۵ برابر حجم محلول اتانول ۹۶٪ اضافه شد. سپس مخلوط آب، اتانول و موسیلاژ به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از این مدت، موسیلاژ با استفاده از قیف خلأ و فیلتر جدا شد و بعد به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. موسیلاژ خشک حاصل آسیاب شد و از الک شماره ۸۰ عبور داده شد و برای استفاده‌های بعدی در دسیکاتور نگهداری شد. عملکرد عصاره برحسب درصد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$= \text{عملکرد موسیلاژ}$$

$$100 \times (\text{وزن مواد گیاهی} / \text{وزن موسیلاژ خشک شده})$$

عصاره‌گیری

به این منظور، ۵/۰ گرم از گل به خوبی آسیاب و با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ ترکیب شد. استخراج با استفاده از دستگاه فراصوت (Singent Elmasonic-D 78224; Elma Germany) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. پس از استخراج، مخلوط در سانتریفوژ یخچال‌دار (R5702; Eppendorf) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و پس از آن، محلول رویی برای آنالیز بیشتر در یخچال نگهداری گردید.

ارزیابی محتوای فنل کل و فلاونوئید کل

محتوای فنل کل با استفاده از روش Ezez و Tefera (۲۰۲۱) که شامل معرف فولین-سیوکالچو (Folin-Ciocalteu) است، به صورت کمی ارزیابی شد. به طور خلاصه، ۲۵ میکرولیتر عصاره متانولی (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالچو (۱۰٪) و ۱۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۷/۵٪) در یک لوله آزمایش ریخته شد و تا حجم نهایی ۶ میلی‌لیتر با آب مقطر رقیق شد. محلول به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. میزان جذب با استفاده از طیف‌سنج مرئی-فرابنفش (Bio-Tek Instruments, Inc., USA) در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت شد. محتوای فنل کل (TPC) به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم وزن خشک بیان شده است.

محتوای فلاونوئید کل براساس روش Haile و همکاران (۲۰۱۶)، با استفاده از کلرید آلومینیوم سنجش شد. در ابتدا، ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۳/۴ میلی‌لیتر متانول (۳۰٪)، ۸۰ میکرولیتر آب مقطر، ۶ میکرولیتر نیتريت سدیم (۵/۰ مولار)، ۶ میکرولیتر کلرید آلومینیوم (۳/۰ مولار) و ۸۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم (۱ مولار) در یک لوله آزمایش ریخته و خوب مخلوط شدند. میزان جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر ثبت شد. محتوای فلاونوئید کل (TFC) به صورت میلی‌گرم معادل روتین در هر گرم وزن خشک بیان گردید.

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش قدرت فعالیت کاهندگی آهن (FRAP) براساس روش Gebre و Belew (۲۰۲۵) انجام شد. برای اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه به ۱/۴ میلی لیتر معرف FRAP اضافه شده و جذب مخلوط پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه گیری می شود. منحنی استاندارد با استفاده از محلول سولفات آهن (II) در غلظت های مختلف از ۰/۵ تا ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر رسم شده و نتایج به صورت میکرومول Fe^{+2} بر گرم وزن خشک بیان شد.

محتوای آنتوسیانین کل

برای این منظور، ۰/۴ میلی لیتر عصاره متانولی نمونه های گل در دو لوله جداگانه ریخته شد، به یکی ۳/۶ میلی لیتر بافر کلرید پتاسیم (۰/۲۵ مول بر لیتر) با $pH = 1$ و به لوله دوم ۳/۶ میلی لیتر بافر استات سدیم (۰/۴ مول بر لیتر) با $pH = 4.5$ اضافه شد و جذب هر نمونه در طول موج های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (Sellappan *et al.*, 2002). میزان محتوای آنتوسیانین کل (TAC) با فرمول زیر براساس میلی گرم آنتوسیانین معادل سیانیدین-۳-گلوکوزید در هر گرم محاسبه شد.

$$A = (A_{510} - A_{700}) pH1 - (A_{510} - A_{700}) pH4.5$$

$$TAC = (A \times MW \times DF \times 100) / MA$$

A = جذب، TAC = محتوای آنتوسیانین کل، MW = ۲۶۹۰/۲، DF = ۱۰۰، MA = ۲۶۹۰۰.

سنجش ترکیب های فنلی با کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)

ترکیب های فنلی با استفاده از سیستم HPLC شرکت Knauer آلمان، مجهز به پمپ های دوگانه Wellchrom-K1001 و یک آشکارساز PDA مدل K2800، مورد

تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جداسازی بر روی یک ستون RP-C18 با ابعاد قطر داخلی ۴/۶ میلی متر و طول ۲۵۰ میلی متر، ساخت شرکت Eurosphr انجام شد. از متحرک شامل متانول (حلال A) و آب مقطر (حلال B) بود. حلال های HPLC هر دو حاوی TFA (۰/۲٪) (حجمی/حجمی) بودند و سرعت جریان ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه بود. برنامه گرادیان با A: B ۲۰:۸۰ آغاز شد و به دنبال آن ۲۰:۸۰-۳۰:۷۰ به مدت ۱۰ دقیقه، ۳۰:۷۰-۵۰:۵۰ به مدت ۱۰ دقیقه، ۵۰:۵۰-۱۰۰:۰۰ به مدت ۲ دقیقه، ۱۰۰:۰۰ به مدت ۶ دقیقه، ۱۰۰:۰۰-۲۰:۸۰ به مدت ۷ دقیقه ادامه یافت. تجزیه و تحلیل در شرایط بهینه، با حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و دمای ستون ۲۵ درجه سانتی گراد انجام شد تا نتایج دقیق و قابل اعتماد تضمین شود. تشخیص پیک در محدوده طول موج ۲۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر انجام گردید. استانداردهای ترکیب های فنلی خالص از شرکت سیگما آلد ریچ تهیه شدند. زمان های بازداری و آنالیز عصاره اسپایک شده، در کنار یک محلول استاندارد، برای تعیین وجود اسیدهای فنلی مورد استفاده قرار گرفتند. منحنی های کالیبراسیون با تزریق غلظت های مختلف ترکیب های استاندارد (۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) برای تعیین کمیت اسیدهای فنلی ایجاد شدند. نتایج برحسب میلی گرم بر گرم وزن خشک بیان شد (Stoenescu *et al.*, 2022).

محتوای کربوهیدرات

آزمون فنل سولفوریک طبق روش Dubois و همکاران (۱۹۵۶) بر روی نمونه های استاندارد انجام گردید. منحنی استاندارد با تهیه ۵ رقت گلوکز از ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر تهیه شد. به محلول های استاندارد و شاهد ۵ میلی لیتر محلول فنل ۵٪ اضافه شد و بعد ۲۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه گردید. اعداد جذب نمونه ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط طیف سنج مرئی -

فرابنفش قرائت و نمودار کالیراسیون رسم شد.

نتایج

آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه

نتایج نشان‌دهنده تنوع قابل توجهی در بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* از نظر صفات عملکردی و فیتوشیمیایی بود که این تنوع بالا امکان گزینش برای این صفات در بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* را فراهم می‌کند (جدول ۲). بیشترین میزان ضریب تغییرات در صفات روتین (۲۲۳/۳۷٪) اسید کلروژنیک (۱۹۵/۹۱٪)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۱۳/۲۰٪) و وزن خشک گل در بوته (۷۸/۰۷٪) بدست آمد. کمترین میزان ضریب تغییرات نیز مربوط به صفات کامفرول (۸/۰۲٪)، موسیلاژ (۱۳/۵۷٪) و کربوهیدرات (۱۷/۶۷٪) بود (جدول ۲). بالا بودن میزان ضریب تغییرات نشان‌دهنده دامنه وسیع‌تر آن صفت از نظر کمی می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمام آزمایش‌ها در این تحقیق در پنج تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) ارائه شده‌اند. برای ارزیابی اختلاف معنی‌دار بین ارقام در مورد صفات اندازه‌گیری شده، تجزیه واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد انجام گردید. نمودار بای‌پلات و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب فاصله اقلیدسی و روش Ward با استفاده از نرم‌افزار Origin نسخه ۲۰۲۲ انجام شد. علاوه بر این، از نرم‌افزار R برای ایجاد نمودار همبستگی استفاده شد.

جدول ۲- پارامترهای توصیفی آماری برای صفات زراعی-مورفولوژیکی و ترکیبات فیتوشیمیایی جمعیت‌های *Alcea koelzii*

Table 2. Statistical descriptive parameters for agro-morphological traits and phytochemical compounds of *Alcea koelzii* populations

No.	Trait	Unit	Mean	Max.	Min.	SD	C.V. (%)
1	Plant height	cm	146.48	192.00	90.00	33.96	23.18
2	Number of lateral branches	Number.plant ⁻¹	5.02	8.00	2.00	1.40	27.91
3	Number of flowers	Number.plant ⁻¹	75.05	164.00	10.00	39.84	53.10
4	Flower diameter	cm	12.75	23.50	6.00	4.50	35.30
5	Flower dry weight	g.plant ⁻¹	437.51	1361.20	36.00	341.58	78.07
6	Total phenols content	mg GAE.g ⁻¹ DW	20.16	31.40	12.08	4.98	24.73
7	Total flavonoids content	mg RE.g ⁻¹ DW	12.90	18.00	9.00	2.22	17.27
8	Ferric reducing antioxidant power assay	μmol Fe II.ml ⁻¹	4.01	25.20	0.03	4.53	113.20
9	Mucilage	%	22.30	28.34	17.24	3.02	13.57
10	Total anthocyanin content	mg C3G.g ⁻¹ DW	2.82	4.56	1.73	0.65	23.05
11	Carbohydrates	%	44.50	55.34	29.34	7.86	17.67
12	Chlorogenic acid	mg.g ⁻¹ DW	0.20	1.16	0.003	0.39	195.91
13	Rutin	mg.g ⁻¹ DW	0.17	1.10	0.00	0.38	223.37
14	Kaempferol	mg.g ⁻¹ DW	1.03	1.16	0.92	0.08	8.02
15	Apigenin	mg.g ⁻¹ DW	1.32	2.62	0.00	0.90	68.15

صفات اگرومورفولوژیکی

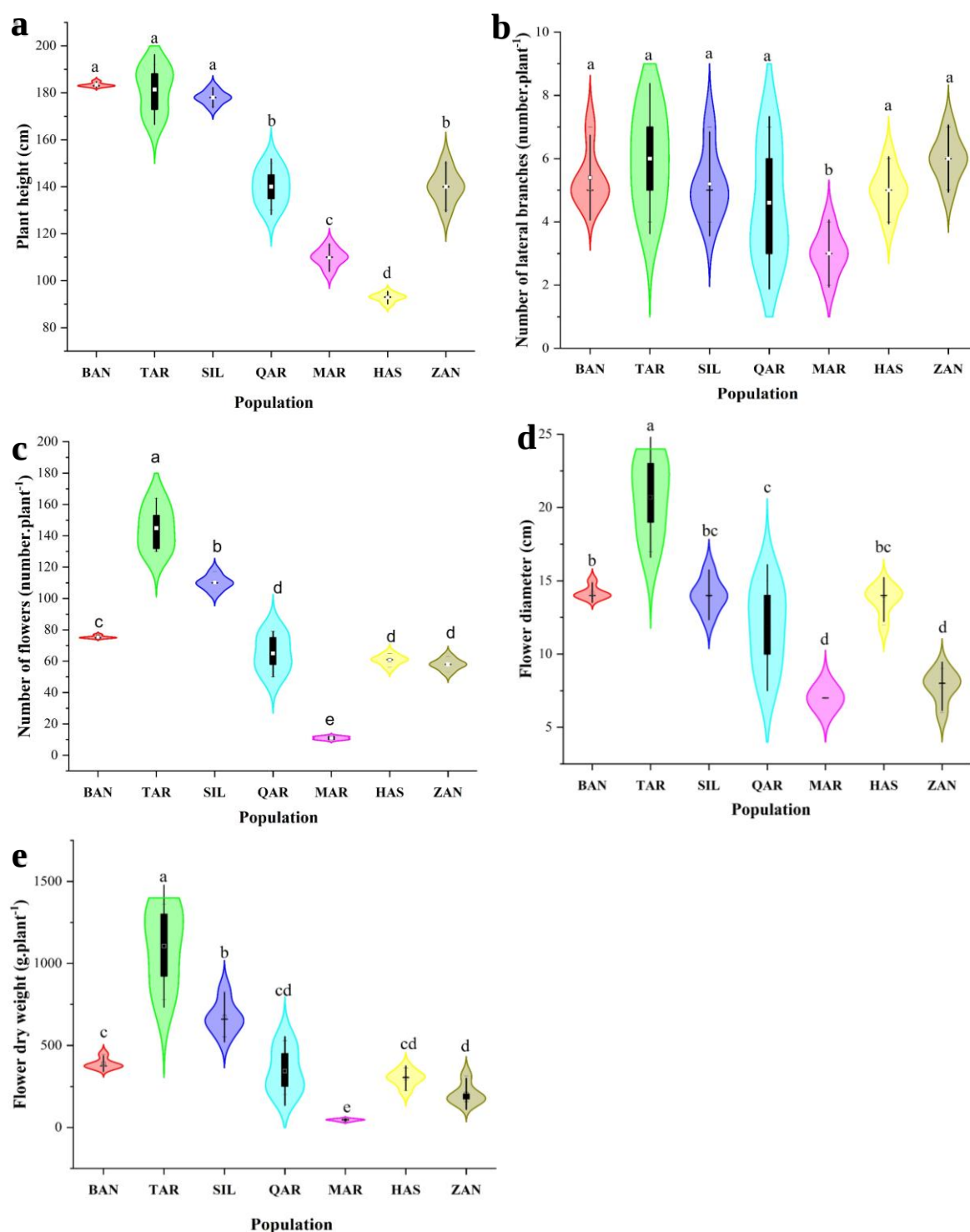
تنوع قابل توجهی در بین صفات اگرومورفولوژیکی جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* مشاهده شد ($p < 0.01$). براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها ارتفاع بوته جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* از ۹۲/۸۰ تا ۱۸۳/۴۰ سانتی‌متر متغیر بود. بیشترین ارتفاع بوته مربوط به جمعیت‌های BAN (۱۸۳/۴۰ سانتی‌متر)، TAR (۱۸۱/۴۲ سانتی‌متر) و SIL (۱۷۸ سانتی‌متر) بود و کمترین ارتفاع بوته در جمعیت HAS (۹۲/۸۰ سانتی‌متر) مشاهده شد (شکل ۲a). بیشترین (۶) و کمترین (۳) تعداد شاخه جانبی به‌ترتیب در جمعیت‌های ZAN و MAR بدست آمد (شکل ۲b). جمعیت TAR بیشترین (۱۴۴/۸) تعداد گل در بوته و جمعیت MAR کمترین (۱۱) تعداد گل در بوته را داشت (شکل ۲c). میزان قطر گل در بین گونه‌های مختلف از ۷/۰۱ تا ۲۰/۷۰ سانتی‌متر متغیر بود که به‌ترتیب در جمعیت‌های MAR و TAR بدست آمد (شکل ۲d). میزان وزن خشک گل در بوته به عنوان یک صفت مهم اقتصادی در گونه *A. koelzii* در بین جمعیت‌های مختلف از ۴۵/۹۰ تا ۱۱۰۵/۱۴ گرم در بوته متغیر بود. جمعیت‌های TAR (۱۱۰۵/۱۴ گرم در بوته)، SIL (۶۷۲/۳۸ گرم در بوته) و BAN (۳۸۹/۳۲ گرم در بوته) بیشترین وزن خشک گل در بوته را داشتند و کمترین میزان مربوط به MAR (۴۵/۹۰ گرم در بوته) بود (شکل ۲e).

محتوای آنتوسیانین کل

براساس نتایج، اختلاف معنی‌دار و قابل توجهی از نظر محتوای آنتوسیانین کل در بین جمعیت‌های *A. koelzii* مشاهده شد. محتوای آنتوسیانین در جمعیت‌های مختلف از ۱/۸۶ تا ۳/۷۲ میلی‌گرم سیانیدین ۳-ا-۱-گلوکوزاید بر گرم وزن خشک متغیر بود. جمعیت‌های QOR، BAN و MAR به‌ترتیب با مقادیر ۳/۷۲، ۳/۳۰ و ۲/۹۳ میلی‌گرم سیانیدین ۳-ا-۱-گلوکوزاید بر گرم وزن خشک دارای بالاترین میزان آنتوسیانین بودند. کمترین میزان (۱/۸۶ میلی‌گرم سیانیدین ۳-ا-۱-گلوکوزاید بر گرم وزن خشک) آنتوسیانین در جمعیت ZAN مشاهده شد (شکل ۳).

محتوای موسیلاژ

همانطور که در شکل ۴ نمایش داده شده است میزان موسیلاژ در بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* به‌طور قابل توجهی متفاوت ($p < 0.01$) و محتوای آن از ۱۸/۷۴ تا ۲۷/۳۵٪ متغیر بود. جمعیت‌های ZAN (۲۷/۳۵٪)، SIL (۲۴/۳۴٪) و TAR (۲۳/۹۰٪) بیشترین محتوای موسیلاژ را داشتند. از سوی دیگر، کمترین میزان موسیلاژ مربوط به جمعیت‌های MAR (۱۹/۶۲٪) و BAN (۱۸/۴۳٪) بود (شکل ۴).

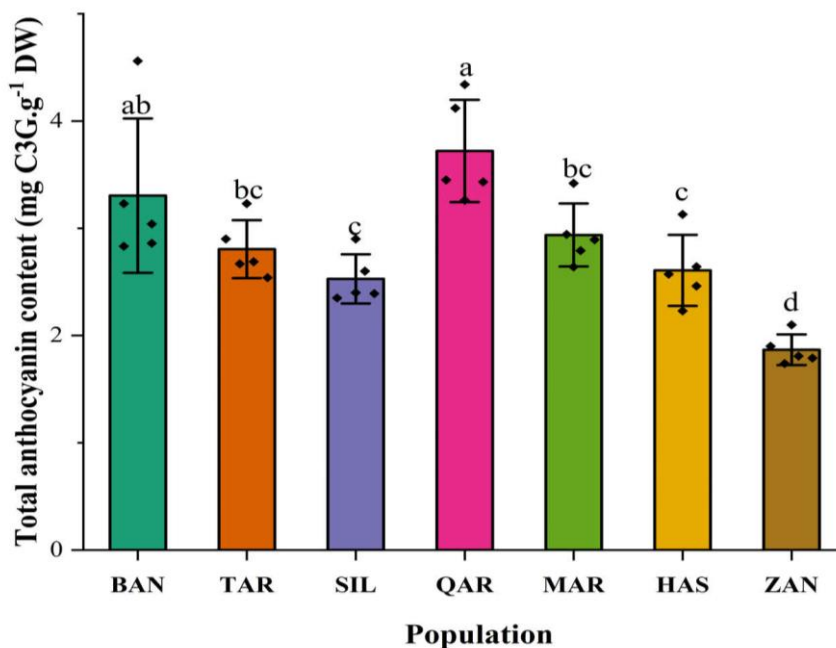


شکل ۲- مقایسه میانگین ارتفاع بوته (a)، تعداد شاخه جانبی (b)، تعداد گل (c)، قطر گل (d) و وزن خشک گل در بوته (e) جمعیت‌های

Alcea koelzii

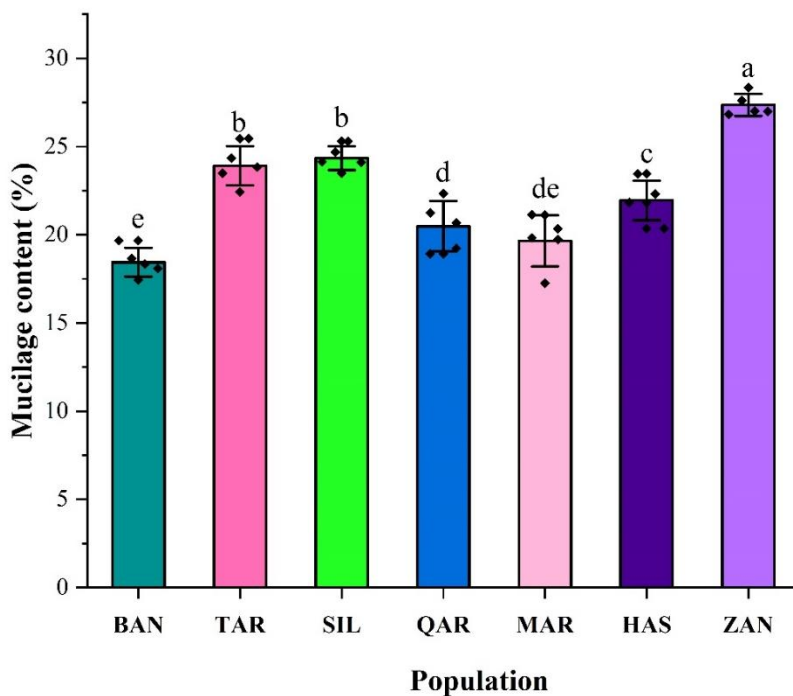
Figure 2. Means comparison of plant height (a), number of lateral branches (b), number of flowers (c), flower diameter (d), and flower dry weight per plant (e) among *Alcea koelzii* populations

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



شکل ۳- مقایسه میانگین محتوای آنتوسیانین جمعیت‌های *Alcea koelzii*

Figure 3. Means comparison of total anthocyanin content among *Alcea koelzii* populations
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



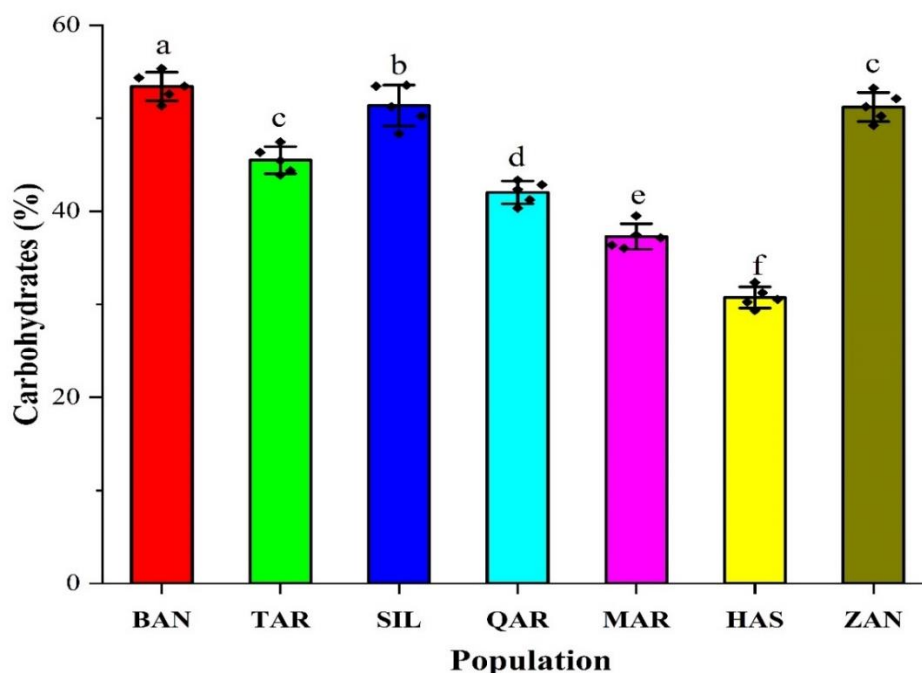
شکل ۴- مقایسه میانگین محتوای موسیلاژ جمعیت‌های *Alcea koelzii*

Figure 4. Means comparison of mucilage content among *Alcea koelzii* populations
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

محتوای کربوهیدرات

و ZAN به ترتیب با داشتن ۵۴/۴۱٪، ۵۱/۳۶٪ و ۵۱/۲۱٪ دارای بالاترین میزان کربوهیدرات بودند. جمعیت HAS کمترین میزان کربوهیدرات را داشت (شکل ۵).

تنوع قابل توجهی در بین جمعیت‌های *A. koelzii* از نظر محتوای کربوهیدرات مشاهده شد. جمعیت‌های BAN، SIL،



شکل ۵- مقایسه میانگین محتوای کربوهیدرات جمعیت‌های *Alcea koelzii*

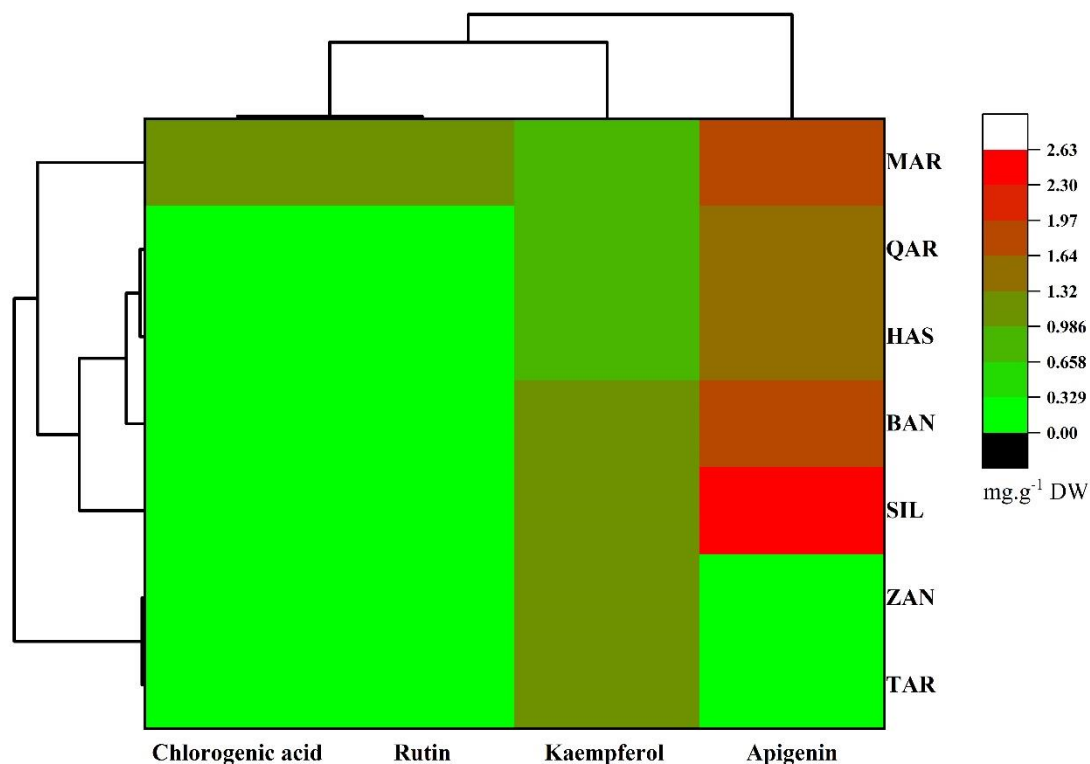
Figure 5. Means comparison of carbohydrates content among *Alcea koelzii* populations

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

آنالیز ترکیب‌های فنلی با HPLC

به منظور مطالعه محتوای فنولیک اسیدهای جمعیت‌های مختلف *A. koelzii*، عصاره نمونه‌ها به وسیله HPLC مورد آنالیز قرار گرفت. برای بررسی میزان اسیدهای فنولیک در جمعیت‌های مختلف، ۱۰ ترکیب فنلی استاندارد (اسید گالیک، اسید کلروژنیک، اسید وانیلیک، اسید کافئیک، اسید رزمارینیک، آپیزین، اسید فرولیک، کامفرول، کوئرستین و روتین) با استفاده از HPLC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند که براساس استانداردهای موجود، در مجموع ۴ ترکیب فنلی اصلی (روتین، اسید کلروژنیک، کامفرول و آپیزین) شناسایی شدند (شکل ۶ و ۷). میزان روتین از ناچیز تا ۱/۱۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک در بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* متغیر بود که بیشترین آن در جمعیت

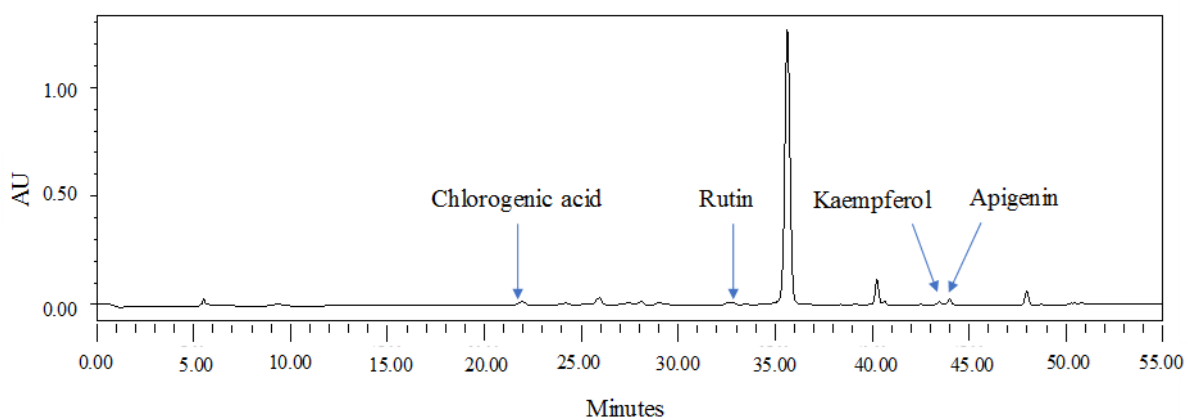
MAR بود و میزان آن در جمعیت‌های QOR، TAR، SIL و HAS ناچیز بود. بیشترین (۱/۱۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین (۰/۰۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک) میزان کامفرول به ترتیب مربوط به جمعیت MAR و SIL بود. بیشترین محتوای کامفرول به ترتیب با میزان ۱/۱۶، ۱/۱۱ و ۱/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک مربوط به جمعیت‌های SIL، ZAN و TAR بود. کمترین میزان کامفرول نیز در جمعیت MAR (۰/۹۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و HAS (۰/۹۲ میلی گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. جمعیت‌های SIL، BAN و MAR به ترتیب با داشتن ۲/۶۲، ۱/۸۱ و ۱/۶۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک دارای بیشترین میزان اسید کلروژنیک بودند.



شکل ۶- نقشه حرارتی پروفایل ترکیبات فنلی جمعیت‌های *Alcea koelzii*

Figure 6. Heat map of *Alcea koelzii* populations phenolics profile

Mean values are displayed on the map in ascending order, represented by a color gradient from green to red.

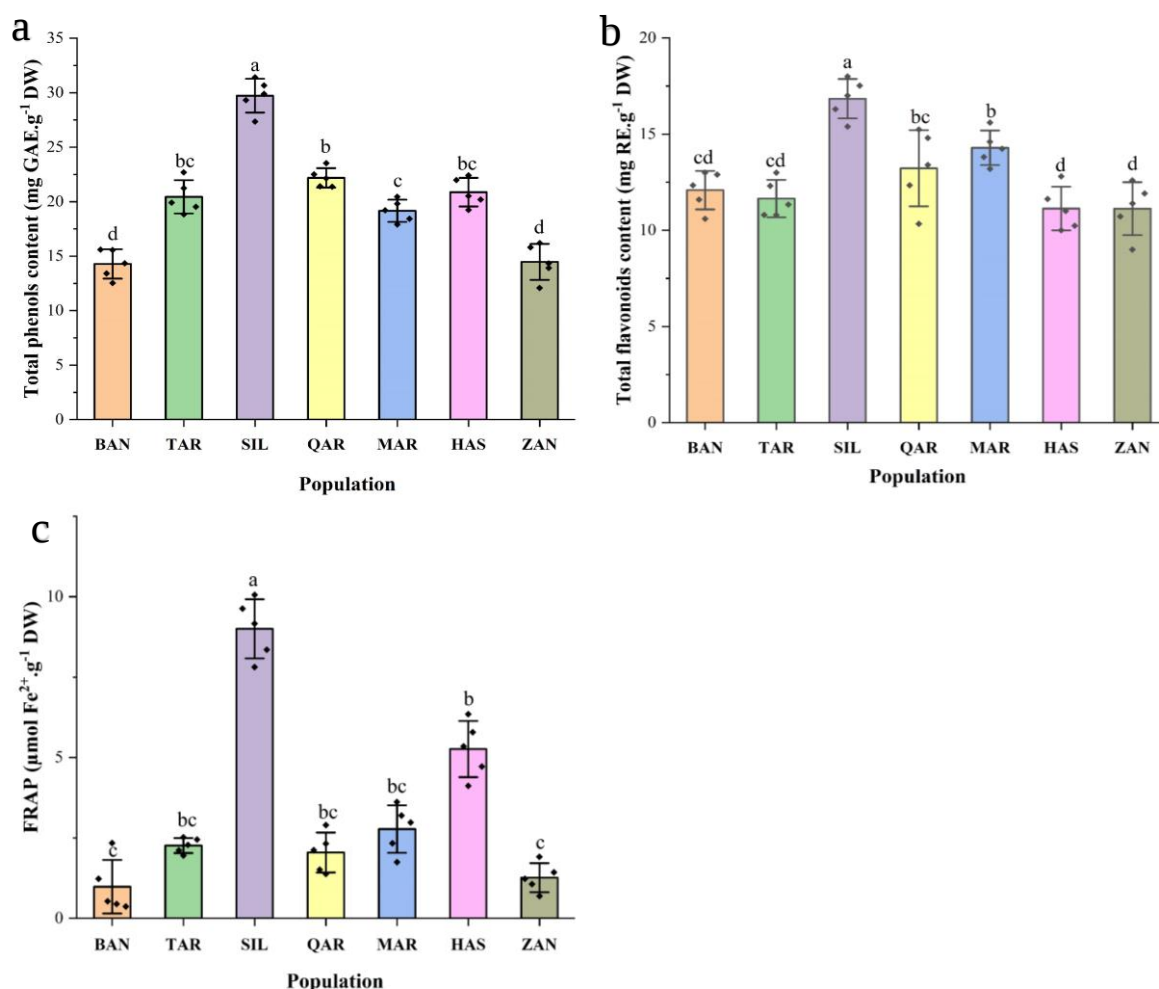


شکل ۷- کروماتوگرام HPLC-PDA عصاره متانولی *Alcea koelzii* در جمعیت MAR

Figure 7. HPLC-PDA chromatogram of *Alcea koelzii* methanolic extract in MAR population

خشک) و کمترین (۱۱/۱۲) میلی گرم معادل روتین بر گرم وزن خشک) محتوای فلاونوئید کل به ترتیب مربوط به جمعیت‌های SIL و ZAN بود (شکل ۸b). فعالیت آنتی‌اکسیدانی جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* نیز از طریق روش قدرت آنتی‌اکسیدانی احیاکننده آهن (FRAP) سنجیده شد. بالاترین (۹/۰۱) میکرومول Fe^{2+} بر گرم وزن خشک) و پایین‌ترین (۰/۹۲) میکرومول Fe^{2+} بر گرم وزن خشک) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در جمعیت‌های SIL و BAN مشاهده شد (شکل ۸c).

محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف قابل توجه و معنی‌داری از نظر محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* مشاهده شد ($p < 0.01$). محتوای فنل کل در بین جمعیت‌های مختلف از ۱۴/۲۹ تا ۲۹/۷۲ میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک متغیر بود که روند آن به ترتیب $\text{BAN} < \text{ZAN} < \text{MAR} < \text{TAR}$ بود (شکل ۸a). از سوی دیگر، بیشترین (۱۶/۸۴) میلی گرم معادل روتین بر گرم وزن



شکل ۸- مقایسه میانگین محتوای فنل (a)، فلاونوئید (b) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (c) جمعیت‌های *Alcea koelzii*

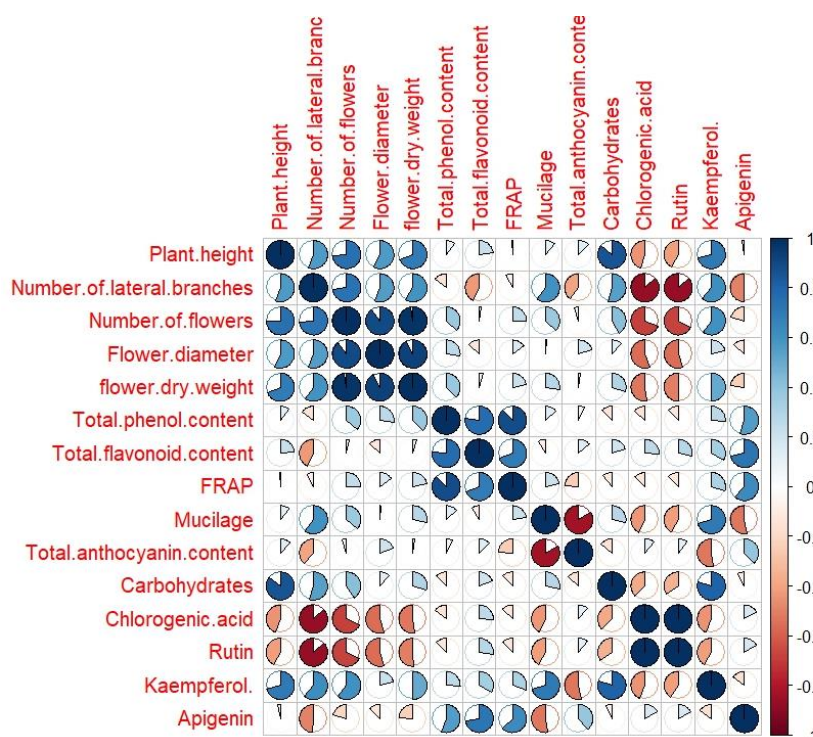
Figure 8. Means comparison of phenols content (a), flavonoids content (b), and antioxidant activity (c) among *Alcea koelzii* populations

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

همبستگی، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

نتایج تجزیه و تحلیل مربوط به روابط متقابل بین صفات، بوسیله ضریب همبستگی پیرسون در شکل ۹ ارائه شده است. همبستگی‌های مثبت با رنگ آبی نشان داده شده است، در حالی که ارتباطات منفی با رنگ قرمز نشان داده شده‌اند. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین محتوای فنل کل با محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. به‌عکس، تعداد

شاخه جانبی همبستگی منفی و معنی‌داری با محتوای روتین و اسید کلروژنیک نشان داد. همچنین، وزن خشک گل در بوته به عنوان یک صفت مهم عملکردی و اقتصادی ارتباط مثبت و معنی‌داری با قطر گل و تعداد گل در بوته داشت. یک رابطه منفی و معنی‌دار بین محتوای موسیلاژ و کربوهیدرات شناسایی شد.



شکل ۹- همبستگی پیرسون برای صفات مورفولوژیکی و ترکیب‌های فیتوشیمیایی جمعیت‌های *Alcea koelzii*

Figure 9. Pearson correlation of morphological traits and phytochemical compounds of *Alcea koelzii* populations

Blue and red colors indicate positive and negative correlations, respectively. Color intensity reflects the magnitude of the relationship. Symbol size and shading convey the magnitude of the correlation, while lighter or smaller symbols denote correlations that are not statistically significant at 5% probability level.

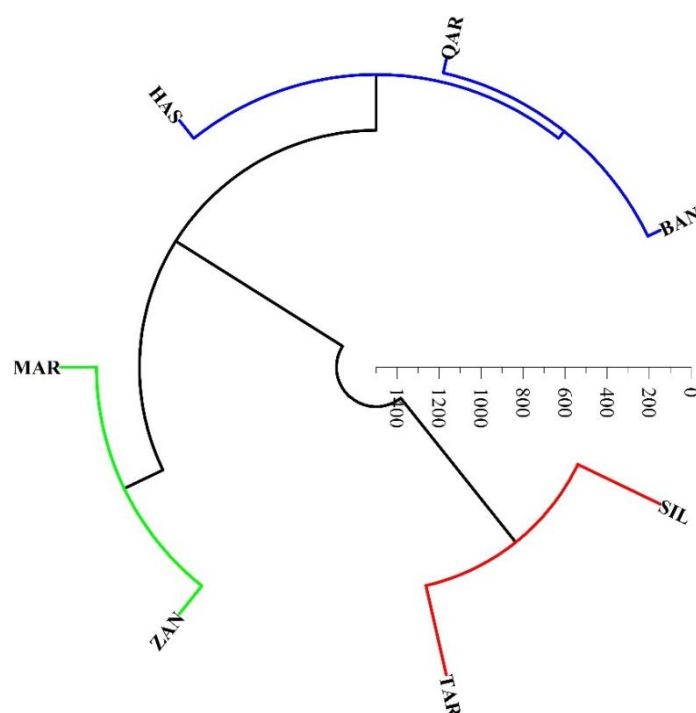
۱۵/۱۸٪، ۱۱/۱۶٪ و ۶/۸۹٪ از کل واریانس را به خود اختصاص داده‌اند. در مؤلفه اول صفات تعداد گل، قطر گل و وزن خشک گل در بوته بیشترین ضریب تأثیر را داشتند. بیشترین ضرایب تأثیر در مؤلفه دوم مربوط به صفات محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آیزنین بود. مؤلفه سوم صفاتی مانند تعداد شاخه‌های جانبی،

در این تحقیق، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با تمرکز بر روی ترکیب‌های آگرو-مورفولوژیکی و ترکیب‌های زیست‌فعال در جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* انجام شد. این تجزیه و تحلیل نشان داد که ۵ مؤلفه اول، ۹۷/۸۷٪ از واریانس بین جمعیت‌ها را تشکیل می‌دهند. مؤلفه‌های اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم به ترتیب ۴۱/۹۴٪، ۲۲/۶۸٪،

کل و فعالیت آنتی اکسیدانی برتر بودند، در گروه اول قرار گرفتند. جمعیت‌های ZAN و MAR در گروه دوم قرار گرفتند که از نظر ویژگی‌های محتوای موسیلاژ، اسید کلروژنیک و روتین نسبت به سایر جمعیت‌ها برتر بودند. جمعیت‌های BAN، QOR و HAS که از نظر ویژگی‌های محتوای کربوهیدرات و آنتوسانین برتر بودند، در گروه سوم قرار گرفتند. نمودار سه بعدی ایجاد شده از PC1، PC2 و PC3 تنوع بین جمعیت‌ها را نشان داد و طبقه‌بندی آنها را در سه گروه مجزا تأیید کرد (شکل ۱۱). نمودار سه بعدی تأیید کرد که یافته‌های مربوط به صفات عملکردی و ترکیب‌های زیست‌فعال تا حد زیادی با یافته‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای سازگار است.

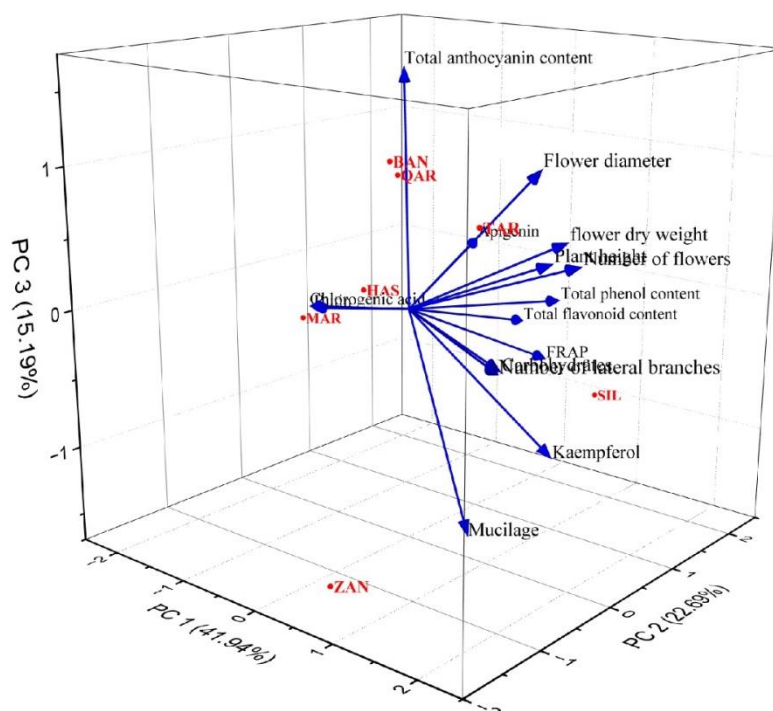
اسید کلروژنیک و روتین را با بالاترین ضرایب برجسته کرد. محتوای موسیلاژ و آنتوسانین نیز بیشترین ضرایب را در مؤلفه چهارم داشتند (جدول ۳). صفات ارتفاع بوته، محتوای کربوهیدرات و کامفرول بالاترین ضرایب تأثیر را در مؤلفه پنجم نشان دادند. این تجزیه و تحلیل به روشن شدن عوامل کلیدی تمایز بین جمعیت‌های مورد مطالعه کمک می‌کند.

نتایج تجزیه خوشه‌ای انجام شده بر روی جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* براساس ترکیب‌های آگرو-مورفولوژیکی و ترکیب‌های زیست‌فعال در شکل ۱۰ ارائه شده است. تجزیه خوشه‌ای نشان داد که جمعیت‌ها را می‌توان به سه گروه اصلی طبقه‌بندی کرد. جمعیت‌های TAR و SIL که از نظر تعداد گل، قطر گل، وزن خشک گل و ارتفاع گیاه، محتوای فنل کل، فلاونوئید



شکل ۱۰- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های *Alcea koelzii* حاصل از صفات مورفولوژیکی و ترکیب‌های فیتوشیمیایی (روش وارد؛ ضریب همبستگی کوپنتیک = ۰/۸۹)

Figure 10. Cluster analysis of *Alcea koelzii* populations based on morphological traits and phytochemical compounds (Ward method; Cophenetic correlation coefficient= 0.89)



شکل ۱۱- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی جمعیت‌های *Alcea koelzii* براساس صفات مورفولوژیکی و ترکیب فیتوشیمیایی

Figure 11. Principal component analysis of *Alcea koelzii* populations based on morphological traits and phytochemical compounds.

جدول ۳- مقادیر ویژه محور مؤلفه‌های اصلی از تحلیل رگرسیون چندگانه پارامترهای مورد مطالعه در جمعیت‌های *Alcea koelzii*

Table 3. Eigenvalues of the principal component axes from the multiple regression analysis of the studied parameters in *Alcea koelzii* populations

Trait	Component				
	1	2	3	4	5
Plant height	0.509	0.025	0.176	-0.102	0.835
Number of lateral branches	0.391	-0.277	0.709	0.381	0.334
Number of flowers	0.849	0.120	0.390	0.144	0.303
Flower diameter	0.915	0.025	0.330	-0.150	0.028
Flower dry weight	0.945	0.099	0.195	0.102	0.221
Total phenol content	0.309	0.920	0.029	0.049	-0.083
Total flavonoid content	-0.042	0.864	-0.335	-0.084	0.340
Antioxidant activity	0.111	0.938	0.103	0.230	-0.111
Mucilage	0.107	0.015	0.261	0.932	0.132
Total anthocyanin	0.131	0.017	-0.055	-0.948	-0.026
Carbohydrates	0.041	-0.066	0.198	0.109	0.971
Chlorogenic acid	-0.304	-0.009	-0.924	-0.126	-0.173
Rutin	-0.295	0.002	-0.934	-0.120	-0.142
Kaempferol	0.238	0.229	0.179	0.570	0.731
Apigenin	-0.284	0.785	-0.013	-0.500	0.042
Eigenvalue	6.29	3.40	2.27	1.67	1.03
% of variance	41.94	22.68	15.18	11.16	6.89
Cumulative variance	41.94	64.62	79.81	90.97	97.87

بحث

تنوع زیستی، شیمیایی و مولکولی در گیاهان به عوامل مختلفی مانند ارتفاع (Suyal et al., 2019؛ Adhikari et al., 2020)، فصل رشد و شرایط رشد (Guo et al., 2011؛ Gouvinhas et al., 2020)، مراحل مختلف فنولوژیکی (Rawat et al., 2020)، خاک (Zargoosh et al., 2019)، بارندگی و دما (Chelghoum et al., 2021)، نوع حلال (Suyal et al., 2021) و غیره بستگی دارد. این عوامل به شدت بر رشد گیاه و کمیت و کیفیت متابولیت‌های فعال موجود در نمونه‌ها مانند آلکالوئیدها، استروئیدها و ترکیب‌های زیست فعال از جمله فنل و فلاونوئیدها تأثیر می‌گذارند (Rawat et al., 2020). جدا از عوامل اکولوژیکی، تولید مواد مؤثر و عملکرد رشد در گیاهان دارویی نیز توسط فرایندهای ژنتیکی هدایت می‌شود. اخیراً، جوامع جهانی و بین‌المللی نگرانی‌های مربوط به حفاظت از تنوع ژنتیکی را به عنوان بخشی از حفاظت از محیط‌های خشکی و آبی برجسته کرده‌اند (Chao et al., 2019). در همین حال، دانش در مورد تنوع ژنتیکی نیز برای اصلاح گر حیاتی است تا ژرم‌پلاسِم بهتری با عملکرد و ارزش محصول صنعتی افزایش یافته تولید کند (Deperi et al., 2018). نتایج این مطالعه نشان داد که تنوع قابل توجهی در بین جمعیت‌های *A. koelzii* از نظر صفات اگر و مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی وجود دارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات در صفات روتین، اسید کلروژنیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و وزن خشک گل در بوته مشاهده شد. هرچه ضریب تغییرات در یک صفت بیشتر باشد، دامنه انتخاب بیشتر و قدرت انتخاب اصلاح‌گر بیشتر است که منجر به افزایش پاسخ به انتخاب می‌شود (Hatami et al., 2022). در این مطالعه، تنوع قابل توجهی بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* از نظر صفات مورفولوژیکی و عملکرد مشاهده شد. برای برنامه‌های اهلی‌سازی، کشت و اصلاح گیاهان دارویی، ارزیابی تنوع درون و بین جمعیتی بسیار مهم است. ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیکی اطلاعات مفیدی را برای اصلاح‌گران گیاه فراهم می‌کند که منجر به توسعه ارقام جدید با ویژگی‌های

کشاورزی مطلوب خواهد شد (Ghorbani et al., 2020).

محتوای موسیلاژ در بین جمعیت‌های مختلف از ۱۸/۷۴ تا ۲۷/۳۵٪ تنوع داشت. این مقدار، به‌ویژه در برخی جمعیت‌ها، به‌طور قابل توجهی بیشتر از میزان گزارش‌شده برای *Althaea officinalis* است، که براساس منابع موجود، محتوای موسیلاژ ریشه خشک آن بین ۶ تا ۱۰ درصد گزارش شده است (Blumenthal et al., 2000). Azadeh و همکاران (۲۰۲۰) میزان موسیلاژ را برای چهار گونه *A. koelzii*، *A. arbelensis* و *A. aucheri* از ۸/۶ تا ۳۲٪ گزارش کردند. موسیلاژ، دسته‌ای از مواد طبیعی است که به دلیل خواص فیزیکی مفید خود به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین به دلیل خواص چسبندگی، غلیظ‌کنندگی، تثبیت‌کنندگی و مرطوب‌کنندگی، در بخش داروسازی نیز کاربرد دارد (Waghmare et al., 2022). خواص منحصر به فرد موسیلاژ، از جمله توانایی آن در تثبیت، امولسیون‌سازی و تعلیق، به محبوبیت آن در کاربردهای غذایی، دارویی و آرایشی کمک می‌کند. علاوه بر این، موسیلاژ اغلب نسبت به جایگزین‌های نیمه مصنوعی و مصنوعی ترجیح داده می‌شود، زیرا غیرسمی، مقرون به صرفه، به راحتی در دسترس و ملایم برای پوست است (Chandravanshi et al., 2022). نکته قابل توجه این است که گل‌های ختمی به دلیل محتوای موسیلاژ بالای خود شناخته شده‌اند. این موسیلاژ به‌عنوان یک مکمل دارویی به عنوان یک چسب در فرمولاسیون قرص، به عنوان یک عامل ژل‌کننده در ژل‌های بینی حاوی دیازپام و به‌عنوان یک عامل تجزیه‌کننده در قرص‌های آملودیپین بسیلات با حل سریع استفاده می‌شود (Nayak et al., 2019). در این مطالعه، جمعیت‌های ZAN و SIL از نظر محتوای موسیلاژ برتر بودند و این گونه‌ها می‌توانند برای برنامه‌های اصلاح نژاد و کشت مورد استفاده قرار بگیرند.

آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های طبیعی گیاهی هستند که باعث ایجاد رنگ‌های متنوع در گیاهان در شرایط استرس‌های محیطی مانند دمای سرد، خشکی و نور UV تولید می‌شوند که دارای اثرهای ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی،

ضد آلرژی، ضد ویروسی، ضد سرطانی، ضد تکثیری و ضد جهش‌زایی هستند و نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های مختلف دارند (Liu et al., 2021). براساس نتایج، محتوای آنتوسیانین کل در بین جمعیت‌های مختلف از ۱/۸۶ تا ۳/۷۲ میلی‌گرم سیانیدین ۳-۱- گلوکوزاید بر گرم وزن خشک متغیر بود. مطالعات نشان داده‌اند که *A. officinalis* با وجود داشتن گل‌هایی با رنگ صورتی تا بنفش، دارای میزان اندکی آنتوسیانین در گلبرگ‌ها بوده و مقادیر آن معمولاً کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک است (Zhang et al., 2014). همچنین در مطالعه دیگر محتوای چهار گونه *A. schirazizna*، *A. rufecense*، *A. rechingeri* و *A. lavateriflora* بین ۰/۰۲ تا ۱۲/۸۳ میلی‌گرم بر گرم گزارش شد (Sharifi et al., 2023). بررسی تنوع فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی نه اکوتیپ و سه گونه *Altheaea* نشان داد که اکوتیپ بوشهر متعلق به گونه *A. ficifolia* با ۶/۴۵ میلی‌گرم آنتوسیانین بالاترین مقدار و اکوتیپ‌های یزد و خوزستان از گونه *A. rosea* به ترتیب با ۲/۰۵ و ۲/۰۲ میلی‌گرم آنتوسیانین کمترین مقدار را داشتند (Arjmand et al., 2023). طبق مطالعات قبلی، زمان برداشت، فصل رشد، موقعیت جغرافیایی و ژنوتیپ همگی به طور قابل توجهی بر نوع ترکیب‌ها و محتوای آنتوسیانین تأثیر می‌گذارند (Chai et al., 2021). با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای آنتوسیانین کل، محتوای آنتوسیانین به‌عنوان یک شاخص قوی از کیفیت مواد گیاهی و فواید بالقوه آنها برای سلامت انسان در نظر گرفته می‌شود (Kim et al., 2013).

براساس نتایج، تنوع قابل توجهی از نظر محتوای ترکیب‌های فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین جمعیت‌های *A. koelzii* مشاهده شد که این تنوع در بین جمعیت‌های مختلف می‌تواند ناشی از عوامل اقلیمی، شرایط جغرافیایی و ژنتیک باشد (Bajalan et al., 2016). کمیت و کیفیت ترکیب‌های زیست فعال در گیاهان دارویی تحت تأثیر پارامترهای ژنتیکی قرار می‌گیرد، با این حال، عوامل محیطی تأثیر بسزایی دارند (Dorreshteh & Tarang, 2019).

براساس گزارش‌های متعدد، فعالیت‌های متابولیکی گیاهان دارویی تحت شرایط محیطی مختلف (مناطق کشت یا زیستگاه‌های مختلف) تغییر می‌کند و منجر به سرعت و کیفیت متفاوت ترکیب‌های شیمیایی سلول‌ها می‌شود (Tarang et al., 2020). تأثیر عوامل محیطی مانند دما، نور (شدت و کیفیت)، رطوبت و ویژگی‌های خاک بر تنظیم بیان ژن در مطالعات مختلف انجام شده بر روی محصولات باغی مختلف گزارش شده است (Zhao et al., 2015). Moghtader (۲۰۱۴) گزارش داد که جمعیت‌های مختلف *Hyssopus officinalis* با شرایط اکولوژیکی متفاوت زیستگاه، مقادیر متفاوتی از متابولیت‌های ثانویه داشتند. علاوه بر این، Ghorbani و همکاران (۲۰۲۰) ترکیب‌های فیتوشیمیایی جمعیت‌های ایرانی *Ruscus hyrcanus* را در مناطق مختلف پراکنش ارزیابی کردند و گزارش دادند که عوامل درونی و بیرونی مختلفی می‌توانند بر نوع و میزان ترکیب‌های زیست‌فعال این گیاه دارویی تأثیر بگذارند. طبق مطالعه آنان، عوامل بیرونی مانند شرایط آب و هوایی و خاکی مختلف، مسیرهای متابولیکی، بیان ژن و فعالیت‌های آنزیمی دخیل در رشد گیاه و بیوسنتز مواد فعال را تحت تأثیر قرار می‌دهند که منجر به عادات رشدی متفاوت و سنتز انواع متابولیت‌های ثانویه در شرایط محیطی مختلف می‌شود. محتوای فنل کل و فلاونوئید کل در بین جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* به ترتیب ۱۴/۲۹-۲۹/۷۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک و ۱۱/۱۲-۱۶/۸۴ میلی‌گرم معادل روتین بر گرم وزن خشک بود. در مطالعه‌ای توسط Gülçin و همکاران (۲۰۰۵)، مقدار فنل کل و فلاونوئید کل در عصاره متانولی برگ *A. officinalis* به ترتیب برابر با ۴۷/۳ و ۲۱/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد. همچنین براساس منابع، میزان فنل کل عصاره اتانولی گل *A. officinalis* ۳۸/۵ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک بود (Radulović et al., 2013).

آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) یکی از رایج‌ترین تکنیک‌های آماری مورد استفاده در متابولومیکس است (Iaccarino et al., 2019). هدف اصلی PCA کاهش ابعاد

مورفولوژیکی مورد مطالعه در سه مؤلفه اصلی طبقه‌بندی شدند که ۹۶/۷۷٪ از کل واریانس را تشکیل می‌دادند. در مطالعه دیگری روی *Rosa canina*، ویژگی‌های فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی با استفاده از PCA در هفت مؤلفه اصلی طبقه‌بندی شدند که ۹۳/۵۳٪ از کل واریانس را تشکیل دادند (Bakhtiar et al., 2023).

به‌طورکلی یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که جمعیت‌های *A. koelzii* تنوع ژنتیکی قابل توجهی را از ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی نشان می‌دهند و ظرفیت آنها را برای برنامه‌های اصلاح نژادی هدفمند برجسته می‌کنند. هریک از جمعیت‌های مورد بررسی، ویژگی‌های منحصر به فردی (از محتوای موسیلاژ گرفته تا ترکیب فنلی) را نشان دادند که می‌توانند با توجه به اهداف اصلاح نژادی، چه برای کاربردهای کشاورزی و چه دارویی یا آرایشی، به صورت راهبردی مورد استفاده قرار بگیرند. فراتر از مشخصات بیوشیمیایی پیچیده آنها، این گل‌ها به دلیل کربوهیدرات بالا، ارزش غذایی قابل توجهی نیز دارند و جذابیت آنها را به‌عنوان یک منبع چند منظوره بیشتر می‌کنند. نکته قابل توجه این است که محتوای فنل و فلاونوئید بالا، آنتوسیانین بالا و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی آنها، ظرفیت درمانی آنها را برجسته می‌کند و آنها را به عنوان کاندیداهای اصلی برای کشت انتخابی با هدف افزایش خواص ارتقا دهنده سلامت قرار می‌دهد.

یک مجموعه داده متشکل از متغیرهای مرتبط با هم است، بنابراین نمایش بصری از واریانس اصلی داده‌ها را فراهم می‌کند و بر تنوع تأکید می‌کند و الگوهای قوی را در یک مجموعه داده آشکار می‌سازد. PCA این کار را با تبدیل متغیرهای هم‌بسته اصلی به مجموعه‌ای کوچک‌تر از متغیرهای متعامد (غیرهمبسته) جدید، به نام مؤلفه‌های اصلی انجام می‌دهد. مؤلفه‌های اصلی را می‌توان به‌عنوان محورهای یک سیستم مختصات جدید در نظر گرفت که در آن بزرگترین واریانس روی مختصات اول (مؤلفه اصلی)، دومین واریانس بزرگ روی مختصات دوم و غیره قرار دارد. PCA یک روش بدون نظارت است که معمولاً در چندین زمینه تحقیقاتی، ازجمله علوم کشاورزی، استفاده می‌شود (Granato et al., 2018). در این مطالعه، به دلیل حجم گسترده داده‌های متغیرهای مورد آنالیز، از PCA استفاده شد. هدف، بهبود تفسیر نتایج و یافتن روابط بالقوه بین آنها بود. در این راستا، PCA با استفاده از داده‌های جمعیت‌های مختلف *A. koelzii* براساس صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی انجام شد. به‌طورکلی، تجزیه و تحلیل عاملی توانست صفات ارزیابی شده را در ۵ مؤلفه اصلی بیان کند. این آنالیز می‌تواند عوامل اصلی تمایز بین جمعیت‌های مورد مطالعه را روشن کند. در مطالعه Eghlima و همکاران (۲۰۲۴) از PCA برای ارزیابی اکوتیپ‌های مختلف *Equisetum arvense* استفاده شد و صفات زراعی -

References

- Adhikari, P., Joshi, K., Singh, M. and Pandey, A., 2020. Influence of altitude on secondary metabolites, antioxidants, and antimicrobial activities of Himalayan yew (*Taxus wallichiana*). *Plant Biosystems*, 156(2): 1-9. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1845845>
- AnjuIdris, M., 2018. A brief review on a Unani drug: Khatmi (*Althaea officinalis*). *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(4): 394-398. <https://doi.org/10.31024/ajpp.2018.4.4.3>
- Arjmand, A., Ebrahimi, M., Bihamta, M.R. and Moradi, N., 2023. Evaluation of phytochemical traits in different ecotypes of marshmallow (*Althaea* spp.). *Journal of Crops Improvement*, 25(3): 755-767. <https://doi.org/10.22059/jci.2023.356938.2801>
- Azadeh, Z., Saeidi, K., Lorigooini, Z., Kiani, M. and Maggi, F., 2020. Organ-oriented phytochemical profiling and radical scavenging activity of *Alcea* spp. (Malvaceae) from Iran. *SN Applied Sciences*, 2: 927. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2410-3>
- Bajalan, I., Mohammadi, M., Alaei, M. and Ghasemi Pirbaloti, A., 2016. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of extracts from different populations of lavandin. *Industrial Crops and Products*, 87: 255-260. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.059>
- Bakhtiar, Z., Eghlima, G., Hatami, M. and Mirjalili, M.H., 2023. Quantification of fatty acids in seed oil and important bioactive compounds in Iranian *Rosa*

- canina* L. ecotypes for potential cosmetic and medicinal uses. Scientific Reports, 13: 22721. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50135-y>
- Blumenthal, M., Goldberg, A. and Brinckmann, J., 2000. Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. Integrative Medicine Communications, Newton, USA, 78-83. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20003018530>
 - Belew, A.A. and Gebre, S.H., 2025. Comparative assessment of phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities in methanol extracts of spices from Jigjiga market, Ethiopia. Pharmacological Research - Natural Products, 6: 100168. <https://doi.org/10.1016/j.prenap.2025.100168>
 - Chai, Z., Herrera-Balandrano, D.D., Yu, H., Beta, T., Zeng, Q., Zhang, X., Tian, L., Niu, L. and Huang, W., 2021. A comparative analysis on the anthocyanin composition of 74 blueberry cultivars from China. Journal of Food Composition and Analysis, 102: 104051. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104051>
 - Chandravanshi, K., Sahu, M., Sahu, R., Sahu, N., Lanjhiyana, S. and Chandy, A., 2022. Isolation of mucilage from herbal plants and its evaluation as a pharmaceutical excipients. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 14(3): 171-178. <https://doi.org/10.52711/0975-4385.2022.00031>
 - Chao, D., Meng, X., Meng, J., Khan, I.H., Dai, L., Khan, A., Xingye, A.N., Zhang, J., Tanzina, H.U.Q. and Ni, Y., 2019. Chitosan as a preservative for fruits and vegetables: a review on chemistry and antimicrobial properties. Journal of Bioresources and Bioproducts, 4: 11-21. <https://doi.org/10.21967/jbb.v4i1.189>
 - Chelghoum, M., Guenane, H., Tahri, D., Laggoun, I., Marfoua, F.Z., Rahmani, F.Z., Khenifer, F. and Yousfi, M., 2021. Influence of altitude, precipitation, and temperature factors on the phytoconstituents, antioxidant, and α -amylase inhibitory activities of *Pistacia atlantica*. Journal of Food Measurement and Characterization, 6: 1-15. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01006-5>
 - Deperi, S.I., Tagliotti, M.E., Bedogni, M.C., Manrique-Carpintero, N.C., Coombs, J., Zhang, R., Douches, D. and Huarte, M.A., 2018. Discriminant analysis of principal components and pedigree assessment of genetic diversity and population structure in a tetraploid potato panel using SNPs. PLoS One. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194398>
 - Dorreshteh, A. and Tarang, A., 2019. Evaluation of genetic diversity and genetic characteristics of some of Hashemi rice cultivars using morphological traits and microsatellite markers. Journal of Crop Biotechnology, 26: 1-18. <https://doi.org/10.30473/CB.2019.45192.1773>
 - Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, 28(3): 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
 - Eghlima, G., Esmaeili, H., Frzane, M. and Mirjalili, M.H., 2024. Multivariate analysis of *Equisetum arvense* L. ecotypes based on silicon content, phytochemical and morphological characterization. Silicon, 16: 115-122. <https://doi.org/10.1007/s12633-023-02660-8>
 - Ezez, D. and Tefera, M., 2021. Effects of solvents on total phenolic content and antioxidant activity of ginger extracts. Journal of Chemistry, 2021: 6635199. <https://doi.org/10.1155/2021/6635199>
 - Ghareaghajlou, N., Hallaj-nezhadi, S. and Ghasempour, Z., 2021. Red cabbage anthocyanins: stability, extraction, biological activities and applications in food systems. Food Chemistry, 365: 130482. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130482>
 - Gorbani, S., Esmaeili, H., Nejad Ebrahimi, S., Palazon, J., Sonboli, A. and Mirjalili, M.H., 2020. Genetic structure, molecular and phytochemical analysis in Iranian populations of *Ruscus hyrcanus* (Asparagaceae). Industrial Crops and Products, 154: 112716. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112716>
 - Gouvinhas, I., Pinto, R., Santos, R., Saavedra, M.J. and Barros, A.I., 2020. Enhanced phytochemical composition and biological activities of grape (*Vitis vinifera* L.) stems growing in low altitude regions. Scientia Horticulturae, 265: 109248. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109248>
 - Granato, D., Santos, J.S., Escher, G.B., Ferreira, B.L. and Maggio, R.M., 2018. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. Trends in Food Science & Technology, 72: 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.006>
 - Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö.İ., Oktay, M. and Büyükkokuroğlu, M.E., 2005. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of *Althaea officinalis* root extracts. Journal of Ethnopharmacology, 97(2): 295-301. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.024>

- Guo, X.D., Ma, Y.J., Parry, J., Gao, J.M., Yu, L.L. and Wang, M., 2011. Phenolics content and antioxidant activity of tartary buckwheat from different locations. *Molecules*, 16: 9850-9867. <https://doi.org/10.3390/molecules16129850>
- Hatami, H., Karimi, M., Aghaee, A., Bovand, F. and Ghorbanpour, M., 2022. Morphological diversity, phenolic acids, and antioxidant properties in eryngo (*Eryngium caucasicum* Trautv.): Selection of superior populations for agri-food industry. *Food Science & Nutrition*, 10: 3905-3919. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2987>
- Haile, K., Mehari, B., Atlabachew, M. and Chandravanshi, B.S., 2016. Phenolic composition and antioxidant activities of cladodes of the two varieties of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) grown in Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 30: 347-56. <https://doi.org/10.4314/bcse.v30i3.3>
- Husain, M., Wadud, A., Hamiduddin, Sofi G., Perveen, S. and Hafeez, K.A., 2019. Physicochemical standardization of mucilage obtained from *Althaea officinalis* Linn-Root. *Pharmacognosy Magazine*, 15(62): 155-161. <https://doi.org/10.4103/pm.pm.123.18>
- Iaccarino, N., Rossi, M., Monda, M., Tedesco, I., D'Agostino, N., Cirillo, G., Calignano, A. and Pellegrini, N., 2019. Impact of phytosterols on liver and distal colon metabolome in experimental murine colitis model: An explorative study. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34: 1041-1052. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1623209>
- Kim, J.G., Kim, H.L., Kim, S.J. and Park, K.S., 2013. Fruit quality, anthocyanin and total phenolic contents, and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon, Korea. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 14: 793-799. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1300012>
- Liu, J., Zhou, H., Song, L., Yang, Z., Qiu, M., Wang, J. and Shi, S., 2021. Anthocyanins: promising natural products with diverse pharmacological activities. *Molecules*, 26(13): 3807. <https://doi.org/10.3390/molecules26133807>
- Moghtader, M., 2014. Comparative evaluation of the essential oil composition from the leaves and flowers of *Hyssopus officinalis* L. *Journal of Horticulture and Forestry*, 6(1): 1-5. <https://doi.org/10.5897/JHF2013.0318>
- Mousavi, S.F., Razavi, S.M.A. and Koocheki, A., 2019. Marshmallow (*Althaea officinalis*) flower gum: 397-423. In: Razavi, S.M.A., (Ed.). *Emerging Natural Hydrocolloids: Rheology and Functions*. Wiley, 672p. <https://doi.org/10.1002/9781119418511.CH16>
- Nayak, A.K., Hasnain, M.S., Nayak, A.K. and Hasnain, M.S., 2019. Fenugreek seed mucilage based multiple units for oral drug delivery. *Plant Polysaccharides-Based Multiple-Unit Systems for Oral Drug Delivery*, 93-112. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6784-68>
- Pourhosseini, S.H., Mirjalili, M.H., Ghasemi, M., Ahadi, H., Esmaeili, H. and Ghorbanpour, M., 2020. Diversity of phytochemical components and biological activities in *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) populations. *South African Journal of Botany*, 135: 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.024>
- Radulović, N.S., Stojanović-Radić, Z.Z., Ilić, I.R. and Stojanović, N.M., 2013. Biological activities of the essential oils and extracts of *Althaea officinalis* L. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 78(6): 833-845. <https://doi.org/10.2298/JSC120719002R>
- Rawat, S., Bhatt, I.D. and Rawal, R.S., 2020. Variation in essential oil composition in rhizomes of natural populations of *Hedychium spicatum* in different environmental condition and habitats. *Journal of Essential Oil Research*, 32: 348-360. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1750497>
- Reinelt, N. and Melzig, M.F., 2017. Der Echte Eibisch *Althaea officinalis* L. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 38(2): 91-96. <https://doi.org/10.1055/s-0043-103256>
- Sellappan, S., Akoh, C.C. and Krewer, G., 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8): 2432-2438. <https://doi.org/10.1021/jf011097r>
- Sharifi, B., Saeidi, K., Shiran, B., Shahbazi, E., Lorigooini, Z. and Rahimifard, M., 2024. Unveiling the mucilage complexity in a multispecies exploration of the genus *Alcea* from Iran. *Industrial Crops and Products*, 220: 119275. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119275>
- Sharifi, B., Saeidi, K., Shiran, B., Shahbazi, E., Lori Gooini, Z. and Rahimifard, M., 2023. Evaluation of physiological and phytochemical traits in four different species of *Alcea* spp. collected from central region of Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plant*, 11(2): 21-39. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2023.1975643.1712>
- Stoescu, A.M., Trandafir, I. and Cosmulescu, S., 2022. Determination of phenolic compounds using HPLC-UV method in wild fruit species. *Horticulturae*, 8(2): 84. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020084>
- Suyal, R., Bahukhandi, A., Bhatt, I.D. and Rawal,

- R.S., 2021. Comparative analysis of biochemical attributes of genus *Polygonatum* in Western Himalaya. National Academy Science Letters, 44: 123-130. <https://doi.org/10.1007/s40009-020-01028-5>
- Suyal, R., Rawat, S., Rawal, R.S. and Bhatt, I.D., 2019. Variability in morphology, phytochemicals, and antioxidants in *Polygonatum verticillatum* L. All populations under different altitudes and habitat conditions in Western Himalaya India. Environmental Monitoring and Assessment, 191: 783. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7687-6>
 - Tarang, A., Kordrostami, M., Kumleh, A.S., Chaleshtori, M.H., Saravani, A.F., Ghanbarzadeh, M. and Sattari, M., 2020. Study of genetic diversity in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Central and Western Asia using microsatellite markers tightly linked to important quality and yield-related traits. Genetic Resources and Crop Evolution, 67: 1537-1550. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00927-2>
 - Tiwari, D., Kewlani, P., Gaira, K.S., Bhatt, I.D. and Rawal, R.S., 2023. Predicting phytochemical diversity of medicinal and aromatic plants (MAPs) across eco-climatic zones and elevation in Uttarakhand using Generalized Additive Model. Scientific Reports, 13: 10888. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37894-4>
 - Uzunhisarcikli, M.E. and Vural, M., 2012. The taxonomic revision of *Alcea* and *Althaea* (Malvaceae) in Turkey. Turkish Journal of Botany, 36: 603-636. <https://doi.org/10.3906/bot-1108-11>
 - Waghmare, R., Moses, J.A. and Anandharamakrishnan, C., 2022. Mucilages: Sources, extraction methods, and characteristics for their use as encapsulation agents. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62(15): 4186-4207. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1873730>
 - Yashaswini, S., Hegde, R. and Venugopal, C., 2011. Health and nutrition from ornamentals. International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy, 2(2): 375-382. https://www.ijrap.net/admin/php/uploads/426_pdf.pdf
 - Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G. and Tavili, A., 2019. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. Scientific Reports, 9: 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8>
 - Zhang, Y., Butelli, E. and Martin, C., 2014. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. Current Opinion in Plant Biology, 19: 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.05.011>
 - Zhao, S.Y., Sun, S.G., Dai, C., Gitura, R.W., Chen, J.M. and Wang, Q.F., 2015. Genetic variation and structure in native and invasive *Solidago Canadensis* populations. Weed Research, 55: 163-172. <https://doi.org/10.1111/wre.12128>