

مطالعه صفات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مرزنگوش

یونانی (*Origanum vulgare* spp. *hirtum*) کاشته شده در شمال تهران

The study of Morphological, Phytochemical and Antioxidant Capacity of Greek marjoram (*Origanum vulgare* spp. *hirtum*) Cultivated in the North of Tehran

فریبا اله‌بخشی^۱، محمدحسین میرجلیلی*^۱، حسن اسماعیلی^۱، جواد هادیان^۱، صمد نژاد ابراهیمی^۲

۱. گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۱۹

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (m-mirjalili@sbu.ac.ir)

چکیده

مرزنگوش یونانی با نام علمی *Origanum vulgare* L. spp. *hirtum* یک گیاه معطر از تیره نعناسانان است که در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی مصرف می‌شود. با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه، در این مطالعه با معرفی آن به اقلیم شمال تهران، صفات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن ارزیابی شد. بر اساس نتایج، میانگین ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ و طول دمگل به ترتیب ۵۵، ۲/۵، ۱/۷۵ و ۰/۳ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. میانگین صفات اندازه‌گیری شده برای وزن تر بوته ۳۵۰ گرم، وزن خشک بوته ۱۳۸/۳۳ گرم و نسبت وزن تر بوته به وزن خشک آن ۲/۵۳ درصد بود. عملکرد این گیاه در سال دوم کشت، ۲۸۹۹/۸ کیلوگرم در هکتار اندازه‌گیری شد. محتوای اسانس گیاه در مرحله گلدهی ۱/۵ درصد به دست آمد. ترکیبات کاراکرول، گاما-ترپنین و پارا-سیمن به ترتیب با مقادیر ۷۱، ۱۲/۷ و ۶/۹ درصد، بیشترین مقدار ترکیبات اسانس بودند. محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و رزمارینیک اسید گیاه در مرحله گلدهی به ترتیب ۲۹/۳۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک، ۲۱/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک و ۱۳/۳۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک اندازه‌گیری شد. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره مرزنگوش یونانی از شاخص IC₅₀ ۹۹/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: تیره نعناع، مرزنگوش، اسانس، فنول کل، رزمارینیک اسید.

مقدمه

امروزه، گیاهان دارویی از اهمیت و ارزش زیادی در تامین بهداشت و سلامت جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار هستند. دلایلی مانند روند رو به افزایش مصرف عمومی گیاهان دارویی، نیاز صنایع مختلف به مواد موثره این گیاهان، نابودی عرصه‌های طبیعی، عدم یکنواختی مواد گیاهی جمع‌آوری شده از طبیعت و در بعضی موارد کیفیت پایین آنها و اجرای عملیات پس از برداشت نامناسب در مورد گیاهان جمع‌آوری شده از طبیعت، ضرورت کشت گیاهان دارویی و معطر را بیش از پیش نموده است (Canter *et al.*, 2005). عوامل محیطی و شرایط اکولوژیکی روبشگاهی باعث تغییراتی در خصوصیات رشدی گیاهان دارویی و معطر از جمله تغییر در محتوا و کیفیت مواد موثره آنها می‌شود. علاوه بر این، خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی این گیاهان، تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و همچنین برهمکنش ژنتیک و محیط قرار می‌گیرد (Davoodi *et al.*, 2019). بهبود میزان مواد فعال بیولوژیکی، همچنین صفات مورفولوژیکی و تولیدی مطلوب از مهمترین اهداف اصلاحی در گیاهان دارویی می‌باشند (Bernath, 2001). در فرآیند اهلی سازی یک گیاه دارویی، بررسی و شناخت کامل از شرایط اکولوژیکی گیاه و ارتباط

آنها با ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی به منظور مدل سازی نیازهای اکولوژیکی گیاه در شرایط مزرعه و نیز شناخت جمعیت برتر از لحاظ ویژگی‌های رشدی و متابولیتی ضروریست (Esmaeili et al., 2019).

کشور ایران با داشتن شرایط اقلیمی و تنوع گیاهی منحصر به فرد، متاسفانه در حال حاضر تنها ۶۰ تا ۹۰ میلیون دلار از تجارت جهانی گیاهان دارویی را به خود اختصاص داده است. وجود اقلیم‌های بسیار متنوع، برخورداری از ۳۰۰ روز آفتابی در سال و اختلاف دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سلسیوس میان سردترین و گرم‌ترین نقطه در کشور، ایران را جزو مستعدترین کشورهای جهان برای تولید گیاهان دارویی و معطر قرار داده است. وارد کردن یک گیاه (ماده ژنتیکی) یا گروهی از نژادگان‌های مختلف آن به محیط جدید که قبلاً در آن وجود نداشته‌اند به عنوان معرفی^۱ شناخته می‌شود. از دیدگاه کلی، معرفی، به وارد کردن گیاه از یک اکوسیستم یا اقلیم به یک اقلیم یا اکوسیستم جدید گفته می‌شود. گروهی از گونه‌ها پس از معرفی، ممکن است به دلیل عدم سازگاری با زیستگاه جدید از بین بروند، گروه دوم پس از ورود به زیستگاه جدید استقرار می‌یابند اما تاثیرات شاخصی بر زیست بوم جدید نمی‌گذارند، گروه سوم پس از استقرار، تاثیرات شاخص و چشم‌گیری بر زیست بوم‌های طبیعی اعمال می‌کنند (Clout and Williams, 2009).

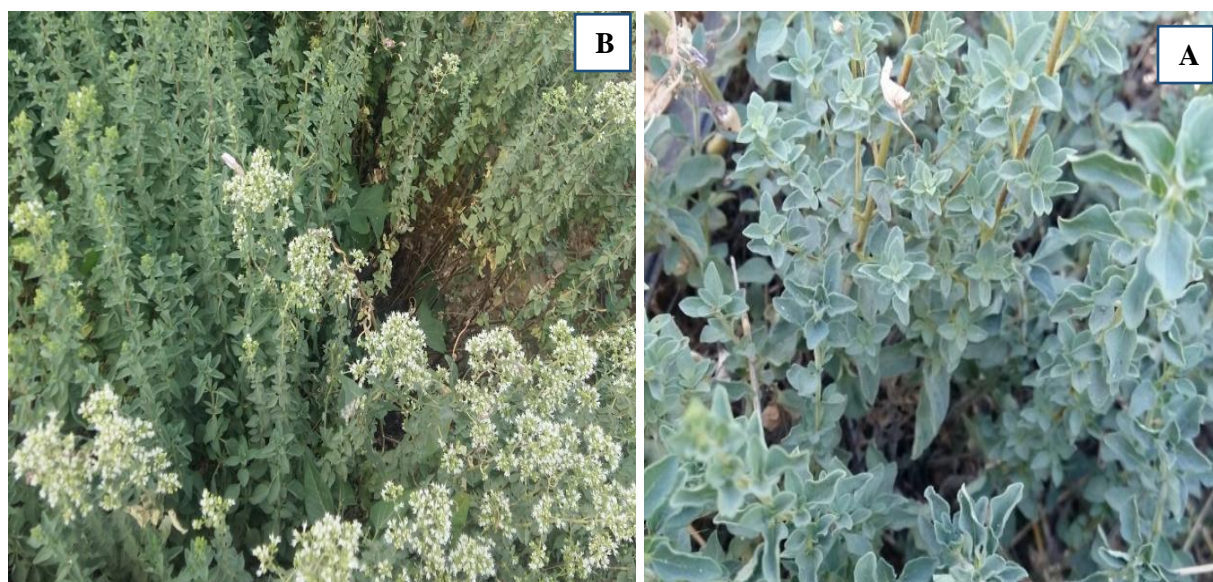
هر چند صفات مورفولوژیک در ارتباط با عوامل محیطی دچار تغییرات می‌شوند اما در یک رویکرد کلی، می‌تواند به علت سادگی، سرعت و کم خرج بودن، به عنوان یک نشانگر مقدماتی کاربرد داشته باشد. ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی منابع ژنتیکی و جمع‌آوری صفات مطلوب از اهداف به‌نژادی مهم است. ارزیابی تنوع شیمیایی موجود بین توده‌های متخلف در دو سطح بین فراگونه، با هدف کشف تیپ (مونه) های شیمیایی حاوی مقادیر مطلوب ترکیبات دارویی شناخته شده یا جدید، شناسایی تیپ‌های شیمیایی فاقد ترکیب یا ترکیبات نامطلوب، انتخاب تیپ شیمیایی مناسب برای به‌نژادی گیاهان دارویی از جمله اهداف مطالعات فیتوشیمیایی در گیاهان دارویی و معطر می‌باشد (Bernath, 2001). مرزنگوش یونانی با نام علمی *Origanum vulgare* spp. *hirtum* یک گیاه ادویه‌ای شناخته شده و پر مصرف است که در نواحی مدیترانه مانند کشورهای قبرس، ترکیه و ایتالیا و نواحی کوهستانی یونان رویش دارد و اخیراً در برخی از نواحی پست یونان به سیستم کشت وارد شده است. مرزنگوش یونانی در طب سنتی، به عنوان آرامبخش، مفرح و گرم کننده بدن، ضد تنگی نفس، داروی میگرن و درد شقیقه، ضد عفونی کننده و التیام دهنده زخم‌ها استفاده می‌شود (Mombeyni et al., 2009). این گیاه در رفع اختلالات کبدی، کولیت اولسراتیو، استفراغ، و بی‌اشتهایی نیز کاربرد دارد. از بخش‌های مختلف این گیاه و همچنین اسانس و عصاره آن در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده و در صنعت صابون‌سازی جهت معطر کردن استفاده می‌شود (Skoufogianni et al., 2019). این گیاه حاوی اسانس (۵ تا ۱۵ درصد)، مشتقات کافئیک اسید بویژه رزمارینیک اسید و فلاونوئیدها از جمله نارینژین می‌باشد. اجزای اصلی اسانس گیاه شامل کارواکرول (۴۰ تا ۷۰ درصد)، گاماترپینن (۱ تا ۸ درصد)، ارتوسایمن (۵ تا ۱۰ درصد) و تیمول (بصورت ترکیب با سایرین) می‌باشد (Grevsen et al., 2009). آنجایی که گیاه مرزنگوش یونانی غنی از ترکیبات فنولی و ترپنوییدی است، به عنوان آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی در ترکیبات داروهای تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Martino et al., 2009). با توجه به اهمیت تجاری و اقتصادی، مرزنگوش یونانی اخیراً به ایران وارد شده است. در این مطالعه با وارد کردن و معرفی گیاه به اقلیم شمال تهران، صفات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن در یک دوره کشت، ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

مشخصات محل کشت

بذر گیاه مرزنگوش یونانی از شرکت جلیتو خریداری و در زمستان در سینی‌های مخصوص نشا کشت و در گلخانه نگهداری شد. نشاها سپس در بهار به مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی انتقال و در آنجا کشت گردیدند. گیاهان در سال دوم برای آنالیزهای مورفولوژیکی، عملکردی و فیتوشیمیایی در مرحله گلدهی کامل برداشت شدند (شکل ۱). خصوصیات توپوگرافی منطقه کشت شامل طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا توسط دستگاه GPS ثبت شد. خصوصیات اداپتیکی از قبیل بافت، pH، EC و عناصر غذایی ماکرو شامل نیتروژن، فسفر و پتاسیم با نمونه‌برداری از ۳۰ سانتی‌متری محل کاشت گیاهان مرزنگوش یونانی ثبت شد. مشخصات آب و هوایی، شامل میانگین دمای سالیانه، میانگین حداکثر و حداقل دمای سالیانه و میانگین

بارش سالیانه با استفاده از میانگین آمار ۱۰ ساله نزدیکترین ایستگاه‌های هواشناسی به منطقه انجام آزمایش، تهیه شد. محل کشت گیاه مرزنگوش یونانی، در ارتفاع ۱۱۹۰ متر از سطح دریا و دارای میانگین بارندگی سالیانه ۳۹۵/۵ میلی‌متر، حداقل دمای سالیانه ۱۳/۳۳ درجه سلسیوس و حداکثر دمای سالانه ۲۲/۹۱ درجه بود. بافت خاک محل کشت لومی و دارای ۴۹ درصد شن، ۱۹ درصد رس و ۳۲ درصد سیلت بود. هدایت الکتریکی ۰/۷۱ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد. مقدار نیتروژن خاک ۰/۲۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پتاسیم ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و فسفر ۶۶/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۱). سیستم آبیاری به کار گرفته شده نیز سیستم آبیاری قطره‌ای بود.



شکل ۱- گیاه مرزنگوش یونانی کشت شده در شمال تهران در مرحله رشد رویشی (A) و در مرحله گلدهی کامل (B).
Fig 1. Greek marjoram plant cultivated in the north of Tehran in vegetative growth stage (A) and in full flowering stage (B).

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و عملکردی

برای ارزیابی صفات مورفولوژیکی، تعداد ۱۰ بوته در مرحله گلدهی برداشت شدند. یک نمونه در هر بار یوم پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تایید و با شماره هر بار یومی ۲۶۷۳ ثبت گردید. صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، طول و عرض برگ، طول دم‌برگ، قطر گل، طول دم‌گل، وزن تر و خشک بوته و نسبت وزن تر به وزن خشک بوته، تراکم کرک‌های پوششی و غده‌ای، تراکم روزنه و عملکرد گیاه در هکتار اندازه‌گیری شد. بررسی صفات مربوط به کرک و روزنه گیاه توسط میکروسکوپ نوری انجام شد. صفات کمی مربوط به طول و عرض اندام‌ها به کمک خط کش و کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. در مورد صفات وزنی از ترازوی نیمه حساس با دو رقم اعشار استفاده شد. اندام هوایی گیاه در مرحله گلدهی کامل برداشت شده، در شرایط سایه با دمای ۲۵ درجه سلسیوس خشک شدند و برای آنالیز فیتوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند.

جداسازی و آنالیز اسانس

اندام هوایی خشک شده گیاه (۳۰ گرم) پودر شده و اسانس آن به روش تقطیر آب با استفاده از دستگاه کلونجر بر اساس فارماکوپه بریتانیا (British Pharmacopoeia, 1993) به مدت سه ساعت در سه تکرار جدا شد. نمونه‌های اسانس جمع‌آوری شده با استفاده از سولفات سدیم بدون آب، خشک شده و تا زمان آنالیز درون فریزر (دمای ۱۸- درجه سلسیوس) نگهداری شدند. درصد اسانس به صورت وزنی- وزنی (w/w)، محاسبه گردید. برای آنالیز نمونه‌های اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف ترموکویست فینینگن (Thermoquest-Finnigan) متصل به طیف سنج جرمی (Mass spectrometry) فینینگن، مجهز به ستون کاپیلاری از نوع DB-5 بطول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای محفظه تزریق ۲۵۰

درجه سلسیوس و دمای آون از ۶۰ درجه سلسیوس تا درجه ۲۵۰ سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش می‌یابد و بمدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سلسیوس نگه داشته می‌شود. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۳ تا ۴۵۶ استفاده گردید.

برای تعیین درصد هر یک از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، نمونه‌های اسانس، به دستگاه گاز کروماتوگرافی (Gas chromatography, GC) ترموکولست فینینگن مجهز به دکتور یونیزاسیون شعله (Flame ionization detector (FID) دارای ستون کاپیلاری DB-5 بطول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس، دمای آون از ۶۰ درجه سلسیوس تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت افزایش ۴ درجه سلسیوس بر دقیقه، ۱۰ دقیقه نگه داشتن در دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس، دمای دکتور ۳۰۰ درجه سلسیوس، گاز حامل نیتروژن با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، نسبت توزیع ۱:۵۰ تزریق شده و با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از ترکیبات در کروماتوگرام دستگاه، به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ، محتوای هر یک از ترکیبات به‌دست آمد. شناسایی ترکیبات اسانس نیز با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان و شاخص بازداری (Retention index) مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه گاز کروماتوگرافی- طیف سنج جرمی توسط نرم افزار Xcalibur (نسخه ۱/۲ محصول فینینگن ۲۰۰۰-۱۹۹۸) انجام شد (Adams, 2017).

عصاره‌گیری و ارزیابی صفات فیتوشیمیایی آن

جهت تهیه عصاره، ۲۰۰ میلی گرم از نمونه گیاهی پودر شده در ۱۰ میلی‌لیتر متانول غوطه ور شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک^۱ مدل الماسونیک-دی ۷۸۲۲۴ سینجن اچ تی دبلیو، ساخت شرکت الما آلمان^۲ در دمای اتاق قرار گرفت. سپس عصاره متانولی در دستگاه سانتریفیوژ یخچال دار مدل R5702، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس محلول روشنار به شیشه‌های تیره مخصوص عصاره منتقل شده و تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری شد (Kamtekar et al., 2014).

اندازه‌گیری فنول و فلاونوئید کل

برای سنجش محتوی فنول کل، از دستگاه پاورویو اچ تی میکروپلیت اسپکتوفوتومتر مدل ایکس اس ۲ ساخت شرکت بیوتک آمریکا و سیستم پردازش اطلاعات کامپیوتری با نرم افزار جن دیتا آنالایز مورد استفاده قرار گرفت. محتوی کلی ترکیبات فنولی در عصاره گیاه بر اساس واکنشگر Folin Ciocalteus Reagent (FCR) تخمین زده شد. بر این اساس ۲۵ میکرولیتر از نمونه مورد آزمایش با ۱۲۵ میکرولیتر محلول رقیق شده FCR (۱ به ۱۰) مخلوط و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم (Na_2CO_3) به مخلوط اضافه شد. پلیت توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد و جذب محلول‌ها پس از دو ساعت در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه خوانده شد. میزان ترکیبات فنول کل گیاه معادل گالیک اسید اندازه‌گیری شد. به همین منظور منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف (۱۰-۲۰۰ پی پی ام) از گالیک اسید در متانول تهیه و منحنی استاندارد با نرم افزار اکسل رسم گردید. سپس معادله خط $y=ax+b$ به‌دست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x (غلظت) به‌دست آمد (Kamtekar et al., 2014). در این روش از واکنش‌گر کلرید آلومینیوم (AlCl_3) برای سنجش فلاونوئیدها استفاده شد. به همین منظور به ۲۵ میکرولیتر از نمونه مورد آزمایش به ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۷/۵ میکرولیتر از محلول ۵ درصد نیتريت سدیم (Na_2No) اضافه شد. بعد از گذشت ۶ دقیقه آنکوباسیون، ۷/۵ میکرولیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر سدیم هیدروکسید (NaOH) ۴ درصد و ۱۰ میکرولیتر آب مقطر به هر چاهک اضافه شد. پلیت توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد و جذب محلول‌ها پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت‌گر الایزا^۳ خوانده شد. از ترکیب فلاونوئیدی روتین برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. به همین منظور منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف (۱۰-۲۵۰ پی پی ام) از کوئرستین در متانول تهیه و منحنی استاندارد با نرم افزار اکسل رسم گردید. سپس معادله خط $y=ax+b$ به‌دست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x (غلظت) به‌دست آمد (Kamtekar et al., 2014).

اندازه‌گیری مقدار رزمارینیک اسید

جهت جداسازی و تعیین مقدار رزمارینیک اسید از دستگاه HPLC مدل Waters 2695 ساخت آمریکا، مجهز به دکتور PDA و ستون C₁₈، با ابعاد ۱۵۰×۴/۶ میلی‌متر و ۳/۵ میکرومتر و نرم افزار Millennium32 استفاده شد. فاز متحرک شامل محلول A، آب اچ پی ال سی همراه با ۰/۰۲ درصد تری فلورو استیک اسید (TFA) و محلول B، متانول همراه با ۰/۰۲ درصد تری فلورو استیک اسید بود. سرعت جریان حلال در ستون ۰/۵ میلی لیتر بر دقیقه، دما ۲۵ درجه سلسیوس، طول موج ۱۹۵ تا ۴۰۰ نانومتر و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود. به منظور رسم منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری کمی، غلظت‌های ۱، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام از استاندارد رزمارینیک اسید در متانول تهیه گردید و هر کدام طبق روش بهینه شده در سه تکرار به ستون C₁₈ تزریق شد. مساحت پیک غلظت های استاندارد حساب شد و منحنی استاندارد با نرم افزار اکسل رسم گردید. سپس معادله خط $y=ax+b$ به دست آمد. مساحت پیک خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x (غلظت) به دست آمد.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH و دستگاه پاورویو اچ تی میکروپلیت اسپکتوفوتومتر استفاده شد، در این روش رنگ ارغوانی رادیکال آزاد DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر، توسط آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش یافته و به رنگ زرد تبدیل می‌شود. درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام‌اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان مربوط می‌باشد (Brand-Williams *et al.*, 1995).

برای بررسی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی عصاره از شاخص IC₅₀ نیز استفاده شد. IC₅₀ بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد (Kulisic *et al.*, 2004). برای محاسبه آن ابتدا نموداری از رابطه میان مقادیر غلظت عصاره و درصد DPPH باقیمانده رسم نموده و با توجه به نمودار حاصل و به صورت ترسیمی غلظتی از عصاره را که قادر است ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی بکند، تعیین می‌شود. لازم به ذکر است که شاخص IC₅₀ نسبت معکوس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس یا عصاره دارد. همچنین ترکیب BHT به عنوان استاندارد استفاده گردید.

واکاو آماری

ضریب همبستگی پیرسون توسط نرم افزار Minitab نسخه ۱۶ به دست آمد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

مشخصات اکولوژیکی محل کشت

محل کشت این گیاه در این پژوهش دارای میانگین دمای سالانه ۱۷/۳ درجه سلسیوس بود. نتایج کشت مرزنگوش یونانی در یونان نشان داده است که دمای بهینه برای رشد این گیاه ۱۸ تا ۲۲ درجه سلسیوس می‌باشد و دمای زیر ۴ درجه و بالای ۳۳ درجه سلسیوس رشد گیاه را محدود می‌کند (Skoufogianni *et al.*, 2019). همچنین گزارش شده است این گیاه از خاک‌های غنی تا خاک‌های فقیر آهکی قابلیت رشد دارد و pH بهینه برای این گیاه ۶/۸ می‌باشد (Skoufogianni *et al.*, 2019). در این مطالعه مشخص شد که در pH بالاتر (pH = ۷/۸) نیز به خوبی رشد می‌کند. بیان شده است که این گیاه نقاط آفتابی را ترجیح می‌دهد و تا ارتفاع ۱۵۰۰ متر از سطح دریا رشد می‌کند (Karamanos & Sotiropoulou, 2013). ارتفاع محل کشت این گیاه در این پژوهش ۱۱۹۰ متر بود. همچنین مقدار درصد اسانس برای این گیاه بین ۱/۱ تا ۸/۲ درصد گزارش شده است (Sarrou *et al.*, 2017) که با توجه به شرایط محیطی محل کشت این گیاه در این پژوهش، حداکثر درصد اسانس ۱/۵ درصد به دست آمد. اگرچه مواد مؤثره گیاهان دارویی اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آنها به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. به طوریکه این عوامل سبب تغییر در رشد گیاهان دارویی و مقدار و کیفیت مواد مؤثره آنها می‌گردد. ترکیب و ساختار هر جامعه گیاهی تا حد زیادی تحت کنترل و تأثیر عوامل محیطی قرار دارد. در حقیقت این عوامل موجب استقرار انواع مختلف گونه‌های گیاهی در زیستگاه‌های متفاوت می‌شوند. عوامل آب و هوایی به صورت کمی و کیفی در رشد و نمو گیاهان تأثیر دارند. به طوری که از نظر کمی باعث تسریع در رشد یا عدم رشد گیاه شده، میزان محصول را به اندازه قابل توجهی تغییر می‌دهند و به صورت کیفی نیز محیط را برای توسعه تعدادی از گیاهان، مساعد تر ساخته، برای برخی محدود تر می‌کند. عامل به وجود آمدن

این اختلافها، تغییرات ارتفاع از سطح دریا یا تغییرات عرض جغرافیایی است که باعث تغییرات درجه حرارت شده که این امر، بر شروع و طول دوره رشد گیاهان، تاثیر مستقیم خواهد داشت.

جدول ۱- شرایط جغرافیایی و ویژگی‌های اداپیکه محل کشت مرزنگوش یونانی.

Table 1. Climatic conditions and soil characteristics of the *O. vulgare* spp. *hirtum* cultivation site.

Meteorological and climatic conditions	عرض جغرافیایی Latitude (N)	35°48'20.6"	
	طول جغرافیایی Longitude (E)	51°23'35.3"	
	ارتفاع Altitude (m)	1190	
	شرایط هواشناسی و آب و هوایی Mean annual temperature (°C)	17.3	
	میانگین حداقل دمای سالانه Average minimum annual temperature (°C)	13.3	
	میانگین حداکثر دمای سالانه Average maximum annual temperature (°C)	22.9	
	میانگین بارش سالانه Mean Annual Precipitation (mm year ⁻¹)	395.5	
	مشخصات اداپیکه Edaphological characteristics	نیترژن کل N _{total} (%)	0.26
		فسفر P _{ava} (ppm)	66.5
		پتاسیم K _{ava} (ppm)	350
واکنش شیمیایی عصاره اشباع pH		8.7	
شوری عصاره اشباع EC (ds m ⁻¹)		0.71	
کربن آلی OC (%)		2.04	
شن Sand (%)		49	
سیلت Silt (%)		32	
رس Clay (%)		19	
بافت Texture		Loamy	

صفات مورفولوژیکی

نتایج اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی نشان داد که میانگین ارتفاع بوته ۵۵ سانتی‌متر، میانگین طول برگ ۲/۵ سانتی‌متر، میانگین عرض برگ ۱/۷۵ سانتی‌متر، میانگین طول دم‌برگ ۰/۷۵ میلی‌متر، میانگین قطر گل ۰/۵ میلی‌متر و میانگین طول دم‌گل ۰/۳ سانتی‌متر است. همچنین میانگین صفات اندازه‌گیری شده برای وزن تر بوته ۳۵۰ گرم، وزن خشک بوته ۱۳۸/۳۳ گرم و نسبت وزن تر بوته به وزن خشک آن ۲/۵۳ درصد بود (جدول ۲). تراکم بوته‌های مرزنگوش یونانی در واحد سطح ۶ بوته در متر مربع در

نظر گرفته شده بود که مناسب رشد کپه‌ای و گسترده این گیاه در سال‌های دوم و سوم رویش خود است. با توجه به نتایج، عملکرد این گیاه ۲۸۹۹/۸ کیلوگرم در هکتار اندازه‌گیری شد. بررسی صفات اپیدرم برگ گیاه مرزنگوش یونانی نشان داد تراکم کرک‌های پوششی سطح تحتانی و فوقانی به ترتیب ۴۷۰/۴۵ و ۳۷۳/۳، تراکم کرک‌های غده‌ای تحتانی و فوقانی به ترتیب ۲۴/۷ و ۶۰/۹ و تراکم روزنه تحتانی و فوقانی به ترتیب ۳۶۶۳/۸ و ۱۵۶۵/۶ در میلی‌متر مربع بود (جدول ۲). گزارش‌ها نشان داده است که میانگین عملکرد محصول یک تا سه تن در هکتار است (Skoufogianni et al., 2019). بررسی صفات مورفولوژیکی همچون ارتفاع گیاه، ویژگی‌های برگ‌ی-عملکردی و همچنین پراکندگی کرک و روزنه در مدیریت ژرم پلاسماهای گیاهی مفید بوده و ابزاری برای بررسی میزان اثرگذاری محیط بر گیاه و نحوه پاسخ آن است. رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه گیاهی و اقلیم منطقه قرار دارد که هر یک از این عوامل می‌تواند اثر بسزایی بر عملکرد محصولات داشته باشد. بررسی وجود یا فقدان کرک روی قسمت‌های مختلف گیاه از اهمیت ویژه‌ای در تشخیص گونه‌های مختلف برخوردار است. در این مطالعه تراکم کرک در سطح زیرین و فوقانی برگ مورد بررسی قرار گرفت. چاپلاق پریدی و همکاران (2012) گزارش کردند که ابعاد و تراکم کرک در ارتباط مستقیم با شرایط اکولوژیکی بوده و متغیر است، یافته‌های این مطالعه در مورد گونه لور (*Capris orientalis*)، کرک‌های بسیار ریز با تراکم بالا در سطح دمبرگ و پشت برگ، در گونه‌های ممرز (*Carpinus betulus*) کرک‌های بلند با تراکم پایین و در مورد کچف (*Capris schuschaensis*) حالت بینابینی را تایید کرده است. کرک‌های مترام با ابعاد کوتاه‌تر در صفات ریختی برگ، در جهت سازگاری گیاه به شرایط محیطی اهمیت دارد.

جدول ۲- برخی از صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده گیاه مرزنگوش یونانی کشت شده در شمال تهران.

Table 2. Some of the measured morphological traits of cultivated *O. vulgare* spp. *hirtum* in the north of Tehran.

صفات	میانگین	صفات	میانگین
Traits	Mean	Traits	Mean
ارتفاع بوته	55 ± 2.41	نسبت وزن تر به وزن خشک	4.34 ± 0.94
Plant height (cm)		Fresh weight dry weight ⁻¹	
طول برگ	2.5 ± 0.22	تراکم کرک پوششی تحتانی	470.45 ± 11.45
Leaf length (cm)		Non-glandular trichome density in under layer (Number per mm ²)	
عرض برگ	1.75 ± 0.19	تراکم کرک پوششی فوقانی	373.31 ± 9.64
Leaf width (cm)		Non-glandular trichome density in upper layer (Number per mm ²)	
طول دمبرگ	0.75 ± 0.03	تراکم کرک غده‌ای تحتانی	24.70 ± 2.44
Petiole length (mm)		Glandular trichome density in under layer (Number per mm ²)	
قطر گل	0.5 ± 0.02	تراکم کرک غده‌ای فوقانی	60.99 ± 5.71
Flower diameter (mm)		Glandular trichome density in upper layer (Number per mm ²)	
طول دمگل	0.3 ± 0.01	تراکم روزنه تحتانی	3663.80 ± 88.9
Pedicle length (cm)		Stomatal density in under layer (Number per mm ²)	
وزن تر بوته	210 ± 8.72	تراکم روزنه فوقانی	1565.64 ± 75.6
Plant fresh weight (g)		Stomatal density in upper layer (Number per mm ²)	
وزن خشک بوته	48.33 ± 2.92	عملکرد گیاه	2899.8 ± 65.81
Plant dry weight (g)		Plant yield (Kg ha ⁻¹)	

نتایج ما در این پژوهش نشان داد تراکم کرک در سطح زیرین برگ، بیشتر از سطح فوقانی آن است. در پژوهشی، Kofidis و همکاران (2003) گزارش کردند مرزنگوش یونانی که در ارتفاعات پایین‌تری در یونان (۲۰۰ متر) رشد می‌کند و نسبت به زیرگونه دیگر مرزنگوش (*O. vulgare* spp. *vulgare*) که در ارتفاعات ۱۷۶۰ متر رشد دارد دارای تراکم بالاتری از کرک‌های غده‌ای سپری است؛ این در حالیست که آنها تعداد بیشتری از روزنه و کرک‌های پوششی در زیر گونه وولگار گزارش کرده‌اند.

مشخص شده است که پاسخ تراکم روزنه به عوامل مختلف محیطی مانند غلظت دی‌اکسیدکربن، تنش گرمایی، شوری، خشکی، تغییرات بارندگی و تراکم گیاهی بستگی دارد (Yang et al., 2007). نتایج نشان داده است که کمبود آب منجر به افزایش تراکم

روزنه می‌شود (Boughalleb *et al.*, 2014). همچنین تراکم روزنه ای با افزایش دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد و در مقایسه با برگ‌های توسعه یافته در شدت نور کم، برگ‌هایی که در معرض خورشید هستند، تراکم روزنه‌ای بالاتری دارند (Givnish, 1988). تغییرات در تراکم روزنه، اندازه روزنه‌ای را تحت تاثیر قرار می‌دهد، دانستن چگونگی پراکندگی روزنه در سطح برگ (یک یا هر دو طرف برگ) به دلیل تاثیر در انتشار گاز دی‌اکسیدکربن جهت تثبیت کربن و همچنین انتقال گرمای حاصل از تعرق دارای اهمیت است. تحقیق در زمینه اثر رویشگاه‌ها روی تراکم روزنه‌های برگ گونه راش اروپایی در کشور ایتالیا نشان داد که این صفت با عوامل دما و بارندگی، همبستگی معنی‌داری داشتند (Bussotti *et al.*, 2005). بررسی همبستگی بین خصوصیات روزنه راش شرقی و عوامل اقلیمی شامل دما و بارندگی و همچنین ارتفاع از سطح دریا نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین این دو عامل وجود دارد. به طوری که با افزایش بارندگی در مناطق مورد مطالعه، مساحت روزنه بسته و باز، طول سلول محافظ روزنه، تراکم کل و تراکم روزنه باز و بسته افزایش یافت. ولی با افزایش ارتفاع از سطح دریا، تراکم کل و تراکم روزنه بسته کاهش می‌یابد (Saeedi *et al.*, 2015). اشکال زیستی گیاهان و گوناگونی مورفولوژیکی یک گونه گیاهی نشانه‌ی سازگاری به رویشگاه‌های مختلف بوده و گونه‌هایی که گوناگونی مورفولوژیکی بیشتری دارند، سازگاری قابل ملاحظه‌ای را نیز نشان می‌دهند. این ویژگی اهمیت به‌سزایی در برنامه‌های ترویجی، اصلاحی و حفاظت ژنتیکی دارد.

بازده و ترکیبات شیمیایی اسانس

محتوای اسانس گیاه مرزنگوش یونانی در منطقه شمال تهران، در مرحله گلدهی کامل ۱/۵ درصد بود. در مورد این گیاه گزارش شده است که اختلاف معنی‌داری بین میزان اسانس و عملکرد اسانس در طول دوره گلدهی وجود ندارد (Skoufogianni *et al.*, 2019). در مجموع ۱۴ ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی شد که ترکیبات کارواکرول، گاما-ترپینن و پارا-سیمن به ترتیب با مقادیر ۷۱، ۱۲/۷ و ۶/۹ درصد بیشترین مقدار ترکیبات اسانس را به خود اختصاص دادند. از نظر گروه‌بندی ترکیبات نیز، اسانس مورد مطالعه غنی از مونوترپن‌های اکسیژنه (۷۳/۴٪) و مونوترپن‌های هیدروکربنه (۲۵/۵٪) بود (جدول ۳).

گیاهان جنس مرزنگوش به دلیل داشتن مقدار قابل توجهی تیمول و کارواکرول در اسانس‌شان، در صنعت داروسازی و همچنین به عنوان ادویه استفاده گسترده‌ای دارند (Skoufogianni *et al.*, 2019). در پژوهشی، Raina و Negi (2012) بازده اسانس مرزنگوش یونانی جمع‌آوری شده از هند را ۰/۲۵ درصد بیان کردند. آنها ترکیبات اصلی اسانس را تیمول (۳۳/۹۲ درصد)، کارواکرول (۶/۹۰ درصد)، گاما-ترپینن (۱۷/۶۷ درصد) و پارا-سیمن (۱۱/۹۹ درصد) گزارش کردند. مقدار تیمول و کارواکرول اسانس گیاه در مناطق مدیترانه‌ای به ترتیب ۴۹/۳ و ۲۴/۶ درصد گزارش شده است (Mastelić *et al.*, 2000). آنالیز اسانس به‌دست آمده از گیاه مرزنگوش یونانی که از مناطق جنوبی ایتالیا جمع‌آوری شده بود سه تیپ شیمیایی مختلف کارواکرول/تیمول، تیمول/آلفا-ترپیننول و لینالیل استات/لینالول را نشان داد (Martino *et al.*, 2009). ترکیبات اسانس موجود در این گیاه به دلیل فعالیت بیولوژیکی بالا و خواص آنتی‌اکسیدان بسیار با اهمیت هستند.

محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و رزمارینیک اسید

محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و رزمارینیک اسید در گیاه مرزنگوش یونانی کاشته در منطقه شمال تهران در مرحله گلدهی کامل به ترتیب ۲۹/۳۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک، ۲۱/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک و ۱۳/۳۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک اندازه‌گیری شد.

بررسی مقدار فنول و فلاونوئید مرزنگوش یونانی کشت شده در نواحی سرد در مراحل مختلف فنولوژیکی نشان داد که مقدار اسیدهای فنولی از ۱/۴ تا ۱۰/۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک در سال اول و از ۲۳/۴ تا ۵۱/۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک در سال دوم متغیر بود. همچنین آنها مقدار فلاونوئید را از ۴/۸ تا ۷/۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک در سال اول و از ۸/۹ تا ۱۲/۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک در سال دوم متغیر دانستند. آنها بیشترین مقدار فلاونوئید را در مرحله گلدهی کامل و بیشترین مقدار فنول را در مرحله نزدیک به گلدهی کامل زمانی که ۱۰-۲۰ درصد گلها باز شده بود، مشاهده کردند. مقدار رزمارینیک اسید در سال اول از ۰/۱ تا ۰/۲ درصد وزن خشک در سال اول متغیر بود که این مقدار به ۳/۵ درصد در سال دوم افزایش یافت (Grevsen *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای دیگر، در بررسی حلال‌های مختلف برای استخراج فنول کل در گیاه مرزنگوش یونانی بالاترین مقدار فنول کل با استفاده از حلال آب (۳۶۱/۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و به دنبال آن حلال متانول (۲۲۷/۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و اتانول (۲۱۷/۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) به‌دست آمد. همچنین بالاترین میزان

فلاونوئید کل (۱۱۱/۹ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) در استخراج بوسیله آب به دست آمد (Karaboduk *et al.*, 2014). در پژوهشی که روی میزان فنول و فلاونوئید کل در گیاه مرزنگوش وحشی انجام گرفته است، مشخص شد که بیشترین محتوای فنول کل در مرحله بعد از رشد رویشی و معادل ۶/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک بود (Sellami *et al.*, 2009). افزایش محتوای فلاونوئید کل در مرحله گلدهی کامل می‌تواند با نقش زیست محیطی مانند افزایش دفاع علیه عوامل بیماری‌زا و جذب حشرات گرده افشان مرتبط باشد (Langenheim, 1994).

جدول ۳- ترکیبات اسانس گیاه مرزنگوش یونانی کشت شده در شمال تهران در مرحله گلدهی کامل

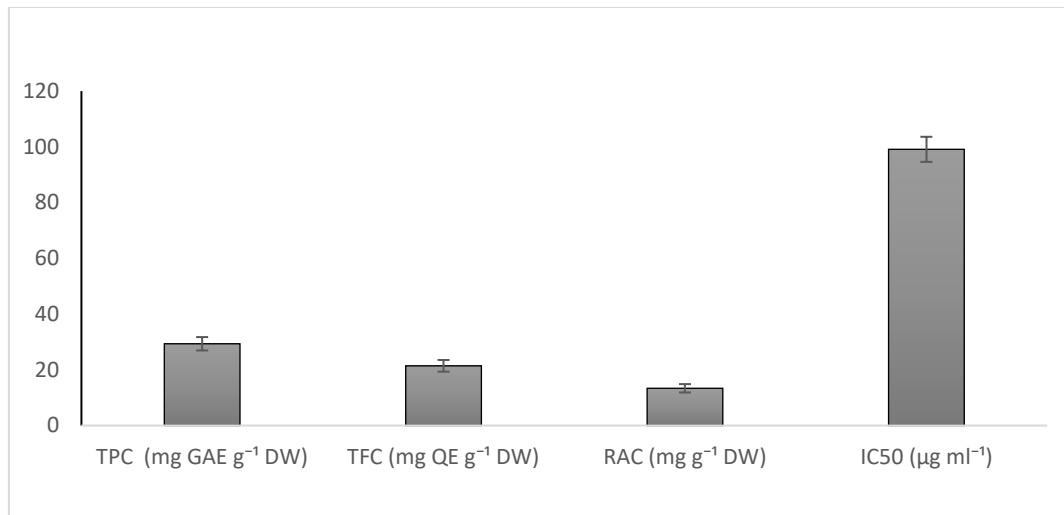
Table 3. Essential oil composition of cultivated *Origanum vulgare* spp. *hirtum* in the north of Tehran

ردیف No.	نام ترکیبات Compounds	CRI ^a	LRI ^b	درصد ترکیبات Content (%)
1	α -Thujene	928	924	0.8
2	α -Pinene	937	932	0.4
3	Camphene	950	946	0.8
4	β -Pinene	980	974	0.1
5	Myrcene	999	988	1.8
6	α -Phellanderene	1005	1002	0.3
7	α -Terpinene	1015	1014	1.5
8	ρ -Cymene	1025	1020	6.9
9	(Z)- β -Ocimene	1044	1032	0.2
10	γ -Terpinene	1059	1054	12.7
11	α -Terpineol	1189	1186	1.0
12	Carvacrol methyl ether	1252	1241	1.4
13	Carvacrol	1300	1298	71.0
14	<i>E</i> -Caryophyllene	1425	1417	0.9
	Monoterpene hydrocarbons			25.5
	Oxygenated monoterpenes			73.4
	Sesquiterpene hydrocarbons			0.9
	Total identified (%)			99.8
	Essential oil content (% w w ⁻¹)			1.50

^aCRI, calculated retention index (RI), ^bLRI, literature RI, retention indices determined in the present work relative to *n*-alkanes C₆-C₂₄ on DB-5 column

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه

نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره مرزنگوش یونانی در منطقه مورد مطالعه از شاخص IC₅₀ ۹۹/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برخوردار است. در مطالعات قبلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی این گیاه گزارش شده است (Lagouri *et al.*, 1993). همچنین ترکیب BHT به عنوان آنتی‌اکسیدانت استاندارد دارای شاخص IC₅₀ معادل ۱۱/۶۴ بود. در این مطالعه، آنالیز همبستگی پیرسون نشان داد که همبستگی مثبت معنی داری بین تراکم کرک غده‌ای تحتانی با بازده اسانس وجود دارد. همچنین همبستگی منفی معناداری بین مقدار فنول کل و شاخص IC₅₀ وجود داشت که تایید کننده فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی است. مشخص شده است که بین تراکم کرک‌های غده‌ای و مقدار اسانس در گیاهان مختلف جنس مرزنگوش (*Origanum*) ارتباط مثبت معنی داری وجود دارد (Werker *et al.*, 1985).



شکل ۲- مقادیر فنول کل (TPC)، فلاونوئید کل (TFC)، محتوای رزمارینیک اسید (RAC) و فعالیت آنتی اکسیدانی (IC₅₀) در گیاه مرزنگوش یونانی کشت شده در شمال تهران.

Fig 2. Total phenolics (TPC), total flavonoids (TFC), rosmarinic acid content (RAC) and antioxidant activity (IC₅₀) of Greek marjoram cultivated in the north of Tehran.

گزارش‌های قبلی نشان داده است که عصاره گیاهان غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی برخوردار هستند. Pirbalouti و همکاران (2013) ترکیبات تشکیل دهنده و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس جمعیت‌های مختلف درمنه را در دو مرحله رشدی بررسی نمودند و گزارش کردند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه در مرحله پیش از گلدهی بیشتر از فاز زایشی می‌باشد. ترکیبات فنولی مانند تیمول و کارواکرول موجود در اسانس مرزنگوش دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان قوی و فعالیت مهار رادیکال می‌باشند (Ruberto and Baratta, 2000). اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد، نشان داده است که عصاره‌های گیاهی بومادران در مراحل مختلف رشد دارای توانایی پاکسازی رادیکال‌های آزاد بوده و قدرت بازدارندگی آنها ارتباط مثبت معنی‌دار با فلاونوئید کل دارد (Nagendrappa, 2005).

ترکیبات تیمول، کارواکرول، گاماترپینن و لینالول به عنوان ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی شناخته می‌شوند (Ruberto and Baratta, 2000). در مطالعه دیگری روی مرزنگوش معمولی، ترکیبات اصلی اسانس کارواکرول، بتا فنچیل‌الکل، تیمول و گاما ترپینن معرفی شدند. همچنین آنها بیان کردند که عصاره‌گیری با آب داغ دارای بالاترین ترکیبات فنولی و بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بود (Teixeira et al., 2013).

با توجه به خواص بیولوژیکی بسیار مهم این گیاه و مقدار بالای ترکیبات مهمی چون رزمارینیک اسید در عصاره و کارواکرول در اسانس، و خصوصیات مطلوب مورفولوژیکی گیاه کشت شده در شرایط آب و هوایی شمال تهران، این نتایج می‌تواند در توسعه کشت گیاه و استفاده تجاری از آن در صنایع دارویی و غذایی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

ترکیبات اسانس موجود در گیاه مرزنگوش یونانی به دلیل فعالیت بیولوژیکی بالا و خواص آنتی‌اکسیدانی، بسیار با اهمیت هستند. کشت این گیاه در شمال تهران نشان داد که ترکیب غالب اسانس آن در این منطقه، کارواکرول است که یک ترکیب فنولی شناخته شده در فراورده‌های دارویی و غذایی می‌باشد. همچنین درصد اسانس نسبتاً بالایی (۱/۵ درصد) از این گیاه در مرحله گلدهی کامل به دست آمد. مقدار رزمارینیک اسید ۱۳/۳۷ میلی‌گرم بر ماده خشک بود. همچنین مقدار فنول کل بالا رابطه مستقیمی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی این گیاه داشت. این گیاه قدرت سازگاری بالایی با شرایط محیطی شمال تهران نشان داد و به نظر می‌رسد با توجه به اهمیت اقتصادی آن می‌توان در سطح وسیع مورد کشت و کار و بهره‌برداری قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است که نویسندگان مقاله، کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌نمایند. همچنین از آقایان محمد فتحی و مهندس حمید احدی به ترتیب جهت همکاری در آماده سازی محل کشت و آنالیزهای فیتوشیمیایی تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

References

منابع

- Adams, R. P. (2017). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. Gruver, TX USA: *Texensis Publishing*.
- Bernath, J. (2001). Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. In *International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant*, 576 (pp. 115-128).
- Boughalleb, F., Abdellaoui, R., Ben-Brahim, N., & Neffati, M. (2014). Anatomical adaptations of *Astragalus gombiformis* Pomel. under drought stress. *Open Life Sciences*, 9(12), 1215-1225.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- British Pharmacopoeia Commission. (1993). British pharmacopoeia 1993.
- Bussotti, F., Prancrazi, M., Matteucci, G., & Gerosa, G. (2005). Leaf morphology and chemistry in *Fagus sylvatica* (beech) trees as affected by site factors and ozone: results from CONECOFOR permanent monitoring plots in Italy. *Tree Physiology*, 25(2), 211-219.
- Canter, P. H., Thomas, H., & Ernst, E. (2005). Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 23(4), 180-185.
- Chapolagh Paridari, I., Jalali, S. G., Sonboli, A., & Zarafshar, M. (2012). Leaf, Stomata and Trichome morphology of the species in *Carpinus* Genus. *Taxonomy and Biosystematics*, 4(10), 11-26.
- Clout, M. N., & Williams, P. A. (Eds.). (2009). *Invasive species management: a handbook of principles and techniques*. Oxford University Press.
- Davoodi, K., Ghasemi Pirbalouti, A., & Malekpoor, F. (2019). Phytochemical diversity of *Rosa damascene* Mill populations in the north of Chaharmahal and Bakhtiari province. *Journal of Medicinal Herbs*, 10(2), 57-63.
- Esmaeili, H., Karami, A., Hadian, J., Saharkhiz, M. J., & Ebrahimi, S. N. (2019). Variation in the phytochemical contents and antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* populations collected in Iran. *Industrial Crops and Products*, 137, 248-259.
- Givnish, T. J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Functional Plant Biology*, 15(2), 63-92.
- Grevsen, K., Fretté, X. C., & Christensen, L. P. (2009). Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate. *European Journal of Horticultural Science*, 74(5), 193-203.
- Kamtekar, S., Keer, V., & Patil, V. (2014). Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(9), 061-065.
- Karaboduk, K. U. D. D. U. S. İ., Karabacak, O., Karaboduk, H. A. T. İ. C. E., & Tekinay, T. (2014). Chemical analysis and antimicrobial activities of the *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 15(3A), 1283-1292.
- Karamanos, A. J., & Sotiropoulou, D. E. (2013). Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart) essential oil during two cultivation seasons. *Industrial Crops and Products*, 46, 246-252.
- Kofidis, G., Bosabalidis, A. M., & Moustakas, M. (2003). Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany*, 92(5), 635-645.
- Kulusic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633-640.
- Lagouri, V., Tsimidou, M., Kokkini-Gkouzkouni, S., Boskou, D. C., & Blekas, G. (1993). Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 197(IKEEART-2019-685), 20-23.

- Langenheim, J. H. (1994). Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 1223-1280.
- Limin, Y., Mei, H., Guangsheng, Z., & Jiandong, L. (2007). The changes in water-use efficiency and stoma density of *Leymus chinensis* along Northeast China Transect. *Acta Ecologica Sinica*, 27(1), 16-23.
- Martino, L. D., Bruno, M., Formisano, C., Feo, V. D., Napolitano, F., Rosselli, S., & Senatore, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Thymus* growing wild in southern Italy. *Molecules*, 14(11), 4614-4624.
- Mastelić, J., Milos, M., & Jerković, I. (2000). Essential oil and glycosidically bound volatiles of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart. *Flavour and Fragrance Journal*, 15(3), 190-194.
- Mombeini, T., Mombeini, M., & Aghayi, M. (2009). Evaluation of pharmacological effects of *Origanum* genus (*Origanum* spp.). *Journal of Medicinal Plants*, 8(29), 18-189.
- Nagendrappa, G. (2005). An appreciation of free radical chemistry 3. Free radicals in diseases and health. *Resonance*, 10, 65-74.
- Pirbalouti, A. G., Firoznejhad, M., Craker, L., & Akbarzadeh, M. (2013). Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(6), 861-869.
- Raina, A. P., & Negi, K. S. (2012). Essential oil composition of *Origanum majorana* and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* growing in India. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 1015-1017.
- Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2), 167-174.
- Saeedi, Z. (2015). Leaf stomata characteristics Diversity of Oriental beech in Hyrcanian forests. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 22(1), 167-184.
- Sarrou, E., Tsivelika, N., Chatzopoulou, P., Tsakalidis, G., Menexes, G., & Mavromatis, A. (2017). Conventional breeding of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) and development of improved cultivars for yield potential and essential oil quality. *Euphytica*, 213, 1-16.
- Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannas, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*, 30(3), 395-402.
- Skoufogianni, E., Solomou, A. D., & Danalatos, N. G. (2019). Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(3), 545-552.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J.M., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2707-2714.
- Werker, E., Putievsky, E., & Ravid, U. (1985). The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. *Annals of Botany*, 55(6), 793-801.

The study of Morphological, Phytochemical and Antioxidant Capacity of Greek marjoram (*Origanum vulgare* spp. *hirtum*) Cultivated in the North of Tehran

Fariba Allahbakhshi¹, Mohammad Hossein Mirjalili^{1*}, Hassan Esmaeili¹, Javad Hadian¹
Samad Nejad Ebrahimi²

1. Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, 1983969411, Tehran, Iran

2. Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, 1983969411, Tehran, Iran

*Corresponding author. m-mirjalili@sbu.ac.ir (M.H. Mirjalili)

Greek marjoram (*Origanum vulgare* L. spp. *hirtum*) is a well-known aromatic plant belongs to the Lamiaceae family which is widely used in pharmaceutical, food, and cosmetic industries. Due to the economic importance of the plant, in the present study, morphological, phytochemical and antioxidant capacity of the plant were evaluated through the introducing of the plant to the climate of northern Tehran. According to the results, the mean plant height, leaf length, leaf width and pedicle length were 55, 2.5, 1.75 and 0.3 cm, respectively. Also, the average measured traits for plant fresh weight were 350 g, plant dry weight was 138.33 g and the ratio of plant fresh weight to dry weight was 2.53%. The yield of the plant in second year was 2899.8 kg ha⁻¹. The essential oil content of the plant at full flowering stage was 1.5%. Carvacrol (71.0 %), γ -terpinene (12.7 %) and p -cymene (6.9%) were the major compounds of the plant oil. The content of total phenol, total flavonoids and rosmarinic acid at full flowering stage were 29.34 mg GAE g⁻¹ DW, 21.42 mg QE g⁻¹ DW and 13.37 mg g⁻¹ DW, respectively. The antioxidant activity of Greek marjoram extract showed the IC₅₀ index of 99.11 μ g ml⁻¹.

Keywords: Lamiaceae family, Oregano, Essential oil, Total phenol, Rosmarinic acid.