نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیست و هفتم، شماره سوم، ۱۳۹۹
۱۳۱-۱۴۸
http://jwfst.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jwfst.2020.18297.1885

بررسی تمایز مواد مؤثره برگ زبان‌گنجشک (*Fraxinus excelsior*) و ارتباط آن با مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در جنگل‌های هیرکانی

معصومه سلیمانی رحیم‌آبادی[۱]، *سید محمد حسینی نصر[۲]، حمید جلیلوند[۳]، سید محمد حجتی[۲] و پوریا بی‌پروا[۴]

[۱]دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،
[۲]دانشیار گروه علوم و مهندسی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،
[۳]استاد گروه علوم و مهندسی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،
[۴]استادیار گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: زبان‌گنجشک، گونه‌ای جنگلی با فعالیت‌های همه‌جانبه بیولوژیکی و دارویی است که از عصاره اندام‌های مختلف آن به‌عنوان الگویی برای ساخت ترکیبات جدید در درمان بیماری‌های مختلف انسان استفاده می‌شود. بین منشأ جغرافیایی گیاهان دارویی و ترکیبات مؤثره تولیدشده در آن‌ها همبستگی بالایی وجود دارد. بنابراین در این پژوهش تلاش شده تا با پی بردن به چگونگی این همبستگی و ارتباط، گامی مؤثر در جهت معرفی مناسب‌ترین شرایط رویشگاهی به‌منظور به‌دست آوردن بالاترین میزان متابولیت‌های ثانویه در این گونه درختی برداشته شود.

مواد و روش‌ها: برای انجام این پژوهش در مجموع هشت رویشگاه از دامنه ارتفاعی ۲۰۰-۱۶۰۰ متر (پرچینک، سه پارسل از سری پنج امره، الندان، لالا، قارنسرا و ایلال) در حوزه‌های آبخیز تجن و سیاهرود واقع در استان مازندران انتخاب شد. در هر یک از رویشگاه‌ها سه پایه درختی که از نظر ویژگی‌های کیفی (قطر و ارتفاع درخت، شادابی و سلامت برگ‌ها، تراکم تاج پوشش) مشابه یکدیگر بودند در نظر گرفته شد. نمونه‌های برگ از قسمت میانی شاخه‌ها در چهار جهت تاج‌پوشش به‌منظور حذف اثر جهت جغرافیایی در نمونه‌گیری برداشت شد. نمونه‌های برگ در هوای آزاد خشک شد و پس از آسیاب کردن و تهیه عصاره با اتانول ابسولوت، عصاره‌های برگ برای تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی آماده شدند. به‌منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک یک نمونه خاک به‌صورت ترکیبی در اطراف هر پایه درختی و از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری برداشت شد. سپس مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مانند وزن مخصوص‌ظاهری، pH، کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر، پتاسیم و کلسیم قابل‌جذب در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد. به‌منظور بررسی اختلاف موجود بین مناطق نمونه‌برداری ازنظر ترکیبات شیمیایی ثانویه موجود در

* مسئول مکاتبه: mhn1949@gmail.com

برگ از تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد. هم‌چنین همبستگی دوگانه پیرسون نیز برای پی بردن به چگونگی ارتباط پارامترهای محیطی و خاکی با ترکیبات شیمیایی مذکور به‌کار گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ویژگی‌های مکان نمونه‌برداری بر مقادیر ترکیبات ثانویه شناسایی‌شده تأثیرگذار بوده است؛ به‌غیراز دو ترکیب Vitamin E و Ferruginol تمامی ترکیبات شناسایی‌شده با عامل ارتفاع از سطح دریا دارای همبستگی مثبت بودند. بیش‌ترین مقادیر ترکیبات Neophytadiene (۲۷/۷ درصد)، Squalene (۲۱/۷ درصد)، n-Hexadecanoic acid (۲٦/۸ درصد)، Octadecatrinoic acid (۲۸/۳ درصد)، Phytol (٦/۳۵ درصد) و Benzeneethanol (۱۰/۳۹ درصد) در رویشگاه ایلال یعنی در بالاترین سطح ارتفاعی موردبررسی مشاهده شد. میان ویژگی‌های فیزیکی خاک مانند درصد رطوبت، وزن مخصوص ظاهری و بافت خاک رابطه معنی‌داری با ترکیبات شیمیایی موجود در برگ مشاهده نشد. هم‌چنین در تمامی رویشگاه‌های موردبررسی بین عناصر غذایی پرمصرف خاک و ترکیبات شناسایی‌شده رابطه منفی معنی‌دار وجود داشت. هم‌چنین تعدادی از ترکیبات شناسایی‌شده تنها در یک یا چند رویشگاه مشاهده شد و در تمامی رویشگاه‌های موردبررسی مشترک نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش بیانگر آن است که ترکیبات شیمیایی تولیدشده در برگ درخت زبان‌گنجشک در واکنش به تغییرات شرایط محیط مانند تغییرات ارتفاع از سطح دریا و مشخصه‌های شیمیایی خاک به‌ویژه عناصر غذایی پرمصرف خاک بیش‌ترین واکنش را نشان داده و دچار تغییر می‌شوند که از این تأثیرپذیری می‌توان در انتخاب رویشگاه مناسب جهت افزایش بازدهی جنگل‌کاری با این گونه با هدف تولید ترکیبات شیمیایی که مواد اولیه صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی هستند سود جست.

واژه‌های کلیدی: جنگل‌کاری چندمنظوره، عصاره‌گیری، عناصر غذایی خاک، کروماتوگرافی گازی، متابولیت‌های ثانویه

مقدمه

در جوامع جنگلی اندام‌های رویشی و زایشی درختان حاوی مواد مؤثره مختلفی هستند (۲۲ و ۲۷). گیاهان طیف وسیعی از این مواد را در واکنش به تعاملاتشان با محیط تولید می‌کنند بنابراین، این مواد از طریق ویژگی‌های مختلف دارویی، آفت‌کشی و ضدمیکروبی حفاظت از گیاه را تضمین می‌نمایند (۳٤). امروزه استفاده از متابولیت‌های ثانویه استخراج‌شده از گیاهان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در صنایع پزشکی، دارویی و غذایی کاربرد وسیعی پیدا کرده است. بر اساس این واقعیت‌ها بسیاری از پژوهشگران اکنون پژوهش‌های خود را بر روی توانایی گیاهان در آزادسازی محصولات طبیعی که در صنایع داروسازی مفید باشد متمرکز کرده‌اند (۸ و ۱۷). در دو دهه اخیر استفاده از داروهای گیاهی به‌طور گسترده‌ای مورد توجه قرار گرفته است و در بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته به‌عنوان داروهای مکمل و جایگزین البته تحت نظارت دقیق و قوانین سخت‌گیرانه مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰).

با توجه به تخریب منابع جنگلی یکی از رویکردهای امیدوارکننده‌ای که برای حفاظت از عرصه‌های جنگلی می‌توان در نظر گرفت برداشت محصولات غیرچوبی توسط ساکنان محلی است که ازجمله این محصولات می‌توان به خواص دارویی گیاهان اشاره نمود (۲). از

طرفی تجاری‌سازی این محصولات می‌تواند انگیزه اقتصادی کافی برای حفاظت از جنگل‌ها را نیز فراهم نماید (٦). عوامل بسیار زیادی ازجمله اقلیم، خاک و ارتفاع، اختلاف در گونه‌های گیاهی، روش‌ها و حلال‌های استخراج و روش‌های مختلف اندازه‌گیری در میزان متابولیت‌های ثانویه دخالت دارند (۲۷).

مواد مذکور اگرچه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها به‌طور بارزی تحت‌تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (۲۰)؛ بنابراین افزون بر آگاهی از نوع و میزان متابولیت‌های ثانویه تولیدشده در اندام‌های مختلف گونه‌های درختی، انجام پژوهش‌هایی در خصوص چگونگی تأثیر منشأ جغرافیایی و عوامل محیطی بر میزان تولید این مواد در درختان ضروری به‌نظر می‌رسد. چراکه همبستگی بالایی بین منشأ جغرافیایی گیاهان دارویی و ترکیبات مؤثره تولیدشده در آن‌ها وجود دارد و به‌عبارتی شرایط رویشگاه و ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی به هم مرتبط هستند (۷). درخت موردبررسی در پژوهش حاضر *Fraxinus excelsior* (با نام انگلیسی Common ash)، گونه‌ای متعلق به جنس زبان‌گنجشک (*Fraxinus*) از خانواده *Oleaceae* است. زبان‌گنجشک در زیستگاه‌های متنوعی ازجمله مناطق نیمه بیابانی تا محیط‌های گرمسیری و معتدل و از سطح دریا تا ارتفاعات دیده می‌شود (۱۲). از درخت زبان‌گنجشک به‌عنوان منبعی برای تولید داروهای زیستی یاد می‌کنند، عصاره استخراج‌شده از این گونه و مواد مشتق شده از آن توانایی مهار سرطان و تغییر فعالیت آنزیم‌های کلیدی مرتبط با پاسخ‌های التهابی را دارند (۲۹). متابولیت‌ها و عصاره‌های این گیاه هم‌چنین دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی ازجمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ترمیم پوست و محافظت‌کننده کبد می‌باشند (۱۵).

به‌طورکلی گونه‌های این جنس در طب سنتی مناطق مختلف جهان برای درمان بیماری‌های مختلف مورداستفاده قرار گرفته‌اند (۱۵). تا به امروز ترکیبات مختلفی ازجمله کومارین‌ها، فلاونوئیدها، کوئرستین، روتین، اسکوپولتین، اسکولتین از گونه *F. excelsior* گزارش شده است (۱۵ و ۳۲). اتانزیو و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهش خود نیز وجود ترکیباتی چون فنولیک‌های ساده، تیروسول و هیدروکسی تیروسول در عصاره اتیل استات شیره درخت *Fraxinus excelsior* گزارش دادند (۵). در ایران علی‌رغم وجود پژوهش‌هایی که در آن به بررسی انواع ترکیبات شیمیایی موجود در گونه‌های دارویی مرتعی و جنگلی و خواص و کاربردهای هر یک پرداخته شده است اما به‌غیراز تعداد اندکی از پژوهش‌ها (۱۱، ١٤، ۲۰ و ٢٤) در سایر پژوهش‌ها توجه چندانی به چگونگی نقش رویشگاه بر خواص دارویی درختان جنگلی صورت نگرفته است.

با توجه به اهمیت چندگانه گونه زبان‌گنجشک از نظر مصارف دارویی، کیفیت بالای چوب و استفاده در صنایع چوبی، سازگاری با طیف وسیعی از شرایط رویشگاهی و کاربرد بسیار در احیای اراضی تخریب‌شده و جنگل‌کاری، انجام پژوهش‌هایی در خصوص تعیین مناسب‌ترین رویشگاه و نیز مؤثرترین مؤلفه‌های محیطی بر خواص دارویی این گونه بااهمیت جنگلی، به‌منظور افزایش بازدهی کاشت آن ضروری به‌نظر می‌رسد. به‌عبارتی انجام چنین پژوهش‌هایی باعث می‌شود تا مدیریت جنگل به‌نوعی از نگرش تک‌بعدی خود در احیای اراضی آسیب‌دیده خارج شود و انتخاب گونه و مکان مناسب برای جنگل‌کاری به‌گونه‌ای صورت پذیرد که کاشت گونه‌های درختی علاوه بر بهبود وضعیت اکوسیستم بیشترین بازدهی را از نظر تولید ترکیبات باارزش شیمیایی نیز داشته باشند.

مواد و روش‌ها

منطقه موردمطالعه: به‌منظور بررسی اثر رویشگاه بر میزان ترکیبات ثانویه گونه زبان‌گنجشک پس از جنگل‌گردشی و بررسی کتابچه‌های طرح جنگلداری در مجموع هشت رویشگاه از دامنه ارتفاعی ۱۶۰۰-۲۰۰ متر شامل پارسل ۱٤ سری یک پرچینک، پارسل‌های ۱۱، ۱٤ و ۱۷ سری پنج امره، پارسل ۲۳ سری ٦ الندان، پارسل ۲۵ سری هفت لالا، پارسل ۲۳ سری چهار قارنسرا و پارسل ۱٦ سری هفت ایلال واقع در حوزه‌های آبخیز تجن و سیاهرود در استان مازندران جهت نمونه‌برداری انتخاب شدند که ویژگی‌های کمی درختان، خصوصیات توپوگرافی، جغرافیایی و اقلیمی (بر اساس اطلاعات ایستگاه‌های هواشناسی کیاسر، سنگده، مهدشت، سلیمان تنگه و امیرکلا) مناطق موردمطالعه در جدول ۱ آورده شده است. پارسل‌های مذکور دارای پایه‌های ون دست‌کاشت بوده و بین سال‌های ۸۰ تا ۸۲ جنگل‌کاری شده‌اند.

جدول ۱- مشخصات محیطی رویشگاه‌های موردمطالعه در استان مازندران.

Table 1. Environmental characteristics of the studied habitats in Mazandaran province.

نام رویشگاه Studied habitats	ویژگی‌های کمی درختان Quantitative characteristics of trees			ویژگی‌های توپوگرافی Topographic characteristics			نوع اقلیم منطقه Climate of the region	بافت خاک Soil texture
	ارتفاع (m) Height	قطر یقه (cm) Collar diameter	قطر سینه (cm) (DBH)	شیب (٪) Slope	جهت Direction	ارتفاع (m) Elevation	دومارتن	
پرچینک Parchinak	12.3	14	12.2	6	جنوب‌غربی Southwest	200	خیلی‌مرطوب Very humid	رسی لومی Clay loam
امره ۱۱ Amre11	7.2	8.7	6.8	7	غربی Western	400	نیمه‌مرطوب Sub humid	رسی- لومی Clay loam
امره ۱٤ Amre 14	8.7	11	9.13	10	شمالی North	600	نیمه‌مرطوب Sub humid	لومی Loam
امره ۱۷ Amre17	11.8	12.8	10.08	15	شمال‌غربی North West	800	نیمه‌مرطوب Sub humid	لومی Loam
الندان Alandan	7.1	11.7	8.7	1	شمال‌شرقی Northeast	1000	خیلی‌مرطوب Very humid	لومی Loam
لالا Lala	3.9	7.6	4.9	29	جنوب‌شرقی Southeast	1200	مدیترانه‌ای Mediterranean	رسی لومی شنی Sandy loamy clay
قارن‌سرا Gharansara	5.7	9.9	7.5	14	جنوب‌غربی Southwest	1400	خیلی‌مرطوب نوع الف Very humid type A	لومی Loam
ایلال Eilal	4.55	4.8	4.04	20	شمال‌غربی North West	1600	مدیترانه‌ای Mediterranean	رسی لومی Clay loam

نمونه‌برداری برگ و خاک: در هر یک از رویشگاه‌ها سه پایه درختی که ازنظر ویژگی‌های کیفی (قطر و ارتفاع درخت، شادابی و سلامت برگ‌ها، تراکم تاج پوشش) مشابه یکدیگر بودند در نظر گرفته شد، نمونه‌های برگ از قسمت میانی شاخه‌ها در چهار جهت تاج پوشش به‌منظور حذف اثر جهت جغرافیایی در نمونه‌گیری برداشت شد. نمونه‌برداری‌ها در فصل تابستان (مرداد) انجام گرفت و برگ‌های جمع‌آوری‌شده در هوای آزاد خشک شد.

پس از آسیاب کردن نمونه‌های خشک‌شده، پنج گرم وزن خشک نمونه در بیست میلی‌لیتر اتانول ابسولوت حل شد و نیم ساعت التراسونیک شد. پس از گذشت سه ساعت نمونه با فیلتر سرسرنگی PTFE ۰/٤٥ میکرومتر صاف شد و نمونه‌های صاف‌شده به دستگاه GC (مدل 7890A دارای طیف‌سنج جرمی به مدل 5975C ساخت شرکت Agilent Technology آمریکا) تزریق شد. سپس شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره موردبررسی با توجه به ترکیبات و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ای دستگاه کروماتوگراف گازی صورت پذیرفت. درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل‌دهنده نیز با توجه به سطح زیر منحنی در طیف کروماتوگرام به‌دست آمد. به‌منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک یک نمونه خاک به‌صورت ترکیبی از اطراف هر پایه درختی و از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری برداشت شد. سپس مشخصه‌های فیزیکوشیمیایی خاک مانند بافت خاک، وزن مخصوص ظاهری، pH، کربن آلی خاک، نیتروژن کل، فسفر، پتاسیم و کلسیم قابل‌جذب در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (۱ و ۱۳).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: پس از مطالعه و بررسی نتایج حاصل از تجزیه نمونه‌ها در دستگاه کروماتوگراف گازی برخی ترکیبات تنها در یک یا چند رویشگاه مشاهده شد و در تمامی مناطق موردمطالعه شناسایی نشد. ماتریس مقایسه رویشگاه‌های دارای ترکیبات کم‌تکرار به کمک شاخص بتا در نرم‌افزار PAST به‌منظور پی بردن به چگونگی ارتباط رویشگاه‌های دارای این ترکیبات انجام گرفت. آن‌دسته از ترکیبات شیمیایی که از بالاترین میزان حضور و اشتراک بین نقاط نمونه‌برداری برخوردار بودند و هم‌چنین داده‌های فیزیکوشیمیایی خاک ابتدا ازنظر نرمالیته به کمک آزمون Shapiro-wilk مورد بررسی قرار گرفتند. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها بررسی چگونگی اختلاف ترکیبات ثانویه و خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در نقاط نمونه‌برداری به کمک تجزیه واریانس یک‌طرفه انجام شد. برای گروه‌بندی داده‌هایی که دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودند آزمون مقایسات میانگین دانکن به‌کار گرفته شد. هم‌چنین به‌منظور بررسی روابط دوگانه میان ویژگی‌های محیطی و فیزیکوشیمیایی خاک و متابولیت‌های ثانویه برگ از همبستگی پیرسون استفاده شد. تمامی تجزیه‌ها در نرم‌افزار SPSS 16.0 صورت گرفت.

نتایج

نتایج بررسی داده‌های حاصل از کروماتوگرافی گازی نشان داد ترکیباتی چون *n-tetracosanol*، *Benzoic acid*، *Behenic alcohol*، *Cyclopentanol*، *methyltricyclo*، *Octadecane*، *Isopropylpodocarpen*، *Heneicosanol*، *heptacosanol*، *Ethylacridine* در تمامی مناطق موردمطالعه شناسایی نشدند. اسامی این ترکیبات به همراه رویشگاه‌هایی که در آن‌ها حضور داشتند در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول ۲- نام ترکیباتی که تنها در تعدادی از رویشگاه‌های موردبررسی یافت شد.

Table 2. The Names of compounds that were found only in some of the studied areas.

رویشگاه Study area	پرچینک Parchinak	امره ۱۱ Am11	امره ١٤ Am14	امره ۱۷ Am17	الندان Alandan	لالا Lala	قارن سرا Gharansara	ایلال Eilal
n-tetracosano	✓			✓				
Beta sitosterol		✓		✓				
Behenic alcohol	✓					✓		
Benzoic acid			✓		✓	✓		✓
Cyclopentanol					✓			
methyltricyclo		✓				✓		✓
Octadecane			✓	✓				
Isopropylpodocarpen				✓				
Heneicosanol	✓					✓		
heptacosanol	✓			✓				
Ethylacridine		✓		✓				

ماتریس مقایسه میزان شباهت و تفاوت رویشگاه‌های موردمطالعه ازنظر دارا بودن این ترکیبات کم‌تکرار به کمک شاخص بتا در نرم‌افزار PAST تشکیل و در قالب جدول ۳ ارائه شد. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود شاخص بتا عددی بین صفر و یک است و هرچه به صفر نزدیک‌تر باشد نشان‌دهنده بیش‌تر بودن شباهت میان دو فاکتوری است که در این ماتریس مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. به این ترتیب بیش‌ترین شباهت بین رویشگاه‌های لالا و ایلال با ضریب بتا ۰/۳ وجود دارد.

جدول ۳- ماتریس مقایسه رویشگاه‌های دارای ترکیبات کم‌تکرار به کمک شاخص بتا.

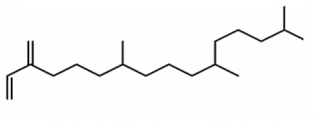
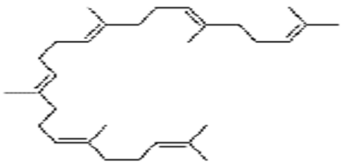
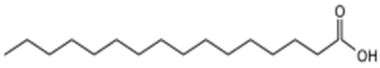
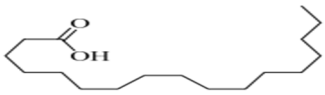
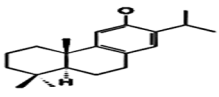
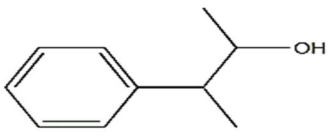
Table 3. Comparison matrix of habitats with low replication compounds using beta index.

رویشگاه Studied Habitats	پرچینک Parchinak	امره ۱۱ Am11	امره ١٤ Am14	امره ۱۷ Am17	الندان Alandan	لالا Lala	قارن‌سرا Gharansara	ایلال Eilal
پرچینک Parchinak	0	1	1	0.6	1	0.5	1	1
امره ۱۱ Am11	1	0	1	0.5	1	0.7	1	0.6
امره ١٤ Am14	1	1	0	0.7	0.5	0.6	1	0.5
امره ۱۷ Am17	0.6	0.5	0.7	0	1	1	1	1
الندان Alandan	1	1	0.5	1	0	0.6	1	0.5
لالا Lala	0.5	0.6	0.7	1	0.6	0	1	0.3
قارن سرا Gharansara	1	1	1	1	1	1	0	1
ایلال Eilal	1	0.6	0.5	1	0.5	0.3	1	0

ترکیبات شیمیایی مشترک در بین مناطق موردمطالعه به همراه ساختار شیمیایی و نتایج آنالیز واریانس در جدول ٤ گزارش شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مناطق موردمطالعه به لحاظ ترکیبات شیمیایی موجود در برگ دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند.

جدول ٤- تجزیه واریانس ترکیبات شیمیایی موجود در برگ زبان‌گنجشک در مناطق موردمطالعه.

Table 4. ANOVA of secondary metabolites in leaves in the studied areas.

ساختار شیمیایی Chemical structure	F	میانگین ± اشتباه معیار Mean±Standard error	درجه آزادی df	نام ترکیب Compound name
	115.60**	19.085±1.107	7	نئوفتادین *Neophytadiene*
	52.115**	14.49±0.900	7	اسکوئالن *Squalene*
	200.68**	18.00±0.910	7	هگزادکانوئیک اسید *n-hexadecanoic acid*
	24.73**	17.39±1.220	7	اکتادکانوئیک اسید *Octadecatrienoic acid*
	155.584**	19.84±1.200	7	ویتامین ای *Vitamin E*
	57.618**	3.97±0.360	7	فروژینول *Ferruginol*
	5.80**	4.23±0.380	7	فیتول *Phytol*
	10.838**	6.38±0.430	7	بنزن ایتانول *Benzeneethanol*

** معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد

نتایج حاصل از مقایسات میانگین متابولیت‌های ثانویه در رویشگاه‌های موردبررسی به کمک آزمون دانکن در جدول ۵ گزارش شده است. مقایسات میانگین ترکیبات شیمیایی نشان داد که ترکیبات *n-hexadecanoic acid*، *Squalene*، *Neophytadiene* *Benzeneethanol* و *Phytol*، *Octadecatrinoic acid* در رویشگاه ایلال بیش‌ترین مقدار و در پرچینک کم‌ترین مقدار را دارا بودند. ویتامین E بیش‌ترین مقدار را در پایین‌ترین سطح ارتفاعی یعنی رویشگاه پرچینک داشت و کم‌ترین مقدار آن در رویشگاه لالا مشاهده شد، رویشگاه‌های ایلال و قارن نیز فاقد این ترکیب بودند. بیش‌ترین مقدار فروژینول در رویشگاه امره ۱۷ و کم‌ترین مقدار آن در رویشگاه پرچینک مشاهده شد. رویشگاه‌های الندان، لالا و ایلال نیز فاقد این ترکیب بودند.

جدول ۵- مقایسات میانگین دانکن متابولیت‌های ثانویه موجود در برگ در مناطق موردمطالعه.

Table 5. Duncan's mean comparisons of secondary metabolites in leaves in the studied areas.

ایلال Eilal	قارنسرا Gharansara	لالا Lala	الندان Alandan	امره ۱۷ Am17	امره ۱٤ Am14	امره ۱۱ Am11	پرچینک Parchinak	F	نام ترکیب name Compound
27.7^{a}	24.4^{b}	22.5^{c}	18.4^{d}	16.5^{e}	15.6^{ef}	14.23^{f}	12.07^{g}	115.60^{**}	نئوفتادین *Neophytadiene*
21.7^{a}	19.17^{b}	12.9^{d}	16.01^{c}	13.96^{d}	12.46^{d}	10.51^{e}	8.58^{f}	52.115^{**}	اسکوئالن *Squalene*
26.8^{a}	21.13^{b}	18.9^{c}	17.57^{d}	15.95^{e}	17.11^{d}	13.77^{f}	12.50^{g}	200.68^{**}	هگزادکانوئیک اسید *n-hexadecanoic acid*
28.3^{a}	21.71^{b}	17.5^{c}	16.70^{c}	17.47^{c}	14.98^{cd}	12.3^{de}	9.41^{f}	24.73^{**}	اکتادکانوئیک اسید *Octadecatrienoic acid*
0.00^{e}	0.00^{e}	14.5^{d}	15.64^{d}	18.36^{c}	19.93^{c}	22.8^{b}	27.81^{a}	155.58^{**}	ویتامین ای *Vitamin E*
0.00^{d}	5.17^{a}	0.00^{d}	0.00^{d}	5.27^{a}	4.09^{b}	3.03^{c}	2.33^{c}	57.618^{**}	فروژینول *Ferruginol*
6.35^{a}	5.67^{ab}	3.3^{cd}	5.74^{ab}	4.5^{abc}	3.64^{bcd}	2.60^{cd}	1.83^{d}	5.80^{**}	فیتول *Phytol*
10.39^{a}	7.69^{b}	6.9^{bc}	6.22^{bcd}	4.78^{d}	5.07^{cd}	4.94^{d}	4.61^{d}	10.838^{**}	بنزن ایتانول *Benzeneethanol*

** معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد

نتایج آنالیز واریانس و مقایسات میانگین خصوصیات فیزیکوشیمیایی رویشگاه‌های موردبررسی در جدول ذیل گزارش شده است (جدول ٦). همان‌طور که در جدول ٦ مشاهده می‌شود به‌غیراز ویژگی‌های هدایت الکتریکی و نیتروژن کل و کلسیم قابل‌جذب رویشگاه‌های موردمطالعه از نظر سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک دارای تفاوت معنی‌دار آماری هستند.

جدول ٦- آنالیز واریانس و گروه‌بندی دانکن خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در مناطق موردبررسی.

Table 6. Analysis of variance and Duncan grouping for physicochemical properties of soil in the study areas

منبع تغییر	F	پرچینک Parchinak	امره ١١ Am11	امره ١٤ Am14	امره ١٧ Am17	الندان Alandan	لالا Lala	قارنسرا Gharansara	ایلال Eilal
رطوبت (٪) Humidity	11.99**	20.24c	35.40a	28.16b	27.28b	20.73c	18.76c	35.59a	24.16bc
وزن مخصوص (g/m^3) Bulk density	3.36*	1.79a	1.56a	1.6a	1.66a	1.09b	1.74a	1.61a	1.47a
رس (٪) Clay	7.64**	37.2a	26.47bc	30.36abc	23.3c	13.08d	23.18c	22.49c	32.45ab
سیلت (٪) Silt	4.158*	41.92a	38.64a	36.91a	38.54a	45.23a	25.92b	40.56a	38.56a
شن (٪) Sand	6.6**	20.88d	34.88bc	32.73bc	38.15bc	40.96ab	50.9a	36.94bc	28.98cd
واکنش خاک pH	4.23**	6.6ab	6.74ab	6.55bc	7.13a	6.24bc	6.67ab	6.01c	6.49bc
هدایت الکتریکی EC	0.97ns	520.66	453.33	527	425	514	533.66	507.66	505.33
کربن آلی (٪) OC	9.62**	5.86ab	5.04b	5.75ab	5.2b	3.01c	6.72a	3.56c	2.98c
مواد آلی (٪) OM	9.62	10.10ab	8.69b	9.9ab	8.96b	5.19c	11.587a	6.152c	5.143c
نیتروژن کل (٪) TN	1.95ns	0.15	0.22	0.18	0.12	0.12	0.16	0.16	0.10
فسفر قابل‌جذب (ppm) AP	14.33**	2.52a	1.42b	2.61a	2.52a	1.19bc	0.63c	0.48c	0.38c
پتاسیم قابل‌جذب (ppm) AK	3.12*	1268.78a	884.7abc	1034.95ab	697.32bc	883.4abc	535.15bc	591.93bc	497.02c
کلسیم قابل‌جذب (ppm) ACa	2.4ns	222.66	216.06	153.05	160.7	183.4	149.83	139.73	153.26

** معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد، * معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد و ns عدم وجود ارتباط معنی‌دار

نتایج همبستگی دوگانه پیرسون بین ویژگی‌های توپوگرافی و فیزیکی و شیمیایی خاک با ترکیبات شیمیایی موجود در برگ زبان‌گنجشک در جدول ذیل ارائه شده است (جدول ۷).

جدول ۷- همبستگی پیرسون بین ترکیبات شیمیایی موجود در برگ با ویژگی‌های توپوگرافی و خاکی مناطق موردمطالعه.

Table 7. Correlation of Pearson between chemical compounds in leaves with topographic and soil characteristics.

کلسیم Ca	پتاسیم K	فسفر P	ازت N	کربن آلی OC	هدایت الکتریکی EC	pH	سیلت Silt	شن Sand	رس Clay	وزن مخصوص Bulk density	رطوبت Moisture	ارتفاع Elevation	شیب Slope	ترکیب Compound
-0.5*	-0.7**	-0.9**	-0.33	-0.4*	0.14	-0.33	-0.24	0.29	-0.16	-0.11	0.00	0.9**	0.6**	Y1
-0.5*	-0.6**	-0.7**	-0.4*	-0.7**	0.04	-0.38	0.10	0.09	-0.20	-0.31	0.14	0.9**	0.26	Y2
-0.5*	-0.6**	-0.7**	-0.37	-0.5**	0.14	-0.32	-0.13	0.11	-0.22	-0.18	0.01	0.9**	0.49*	Y3
-0.4	-0.6**	-0.6**	-0.35	-0.5*	-0.01	-0.23	-0.06	0.11	-0.08	-0.15	0.10	0.9**	0.45*	Y4
0.6**	0.6**	0.7**	0.26	0.6**	-0.10	0.45*	0.01	-0.17	0.10	0.18	-0.19	-0.9**	-0.4	Y6
-0.09	0.08	0.44*	0.19	0.1	-0.27	0.01	0.16	-0.16	0.07	0.31	0.6**	-0.27	-0.18	Y7
-0.4*	-0.4*	-0.5*	-0.6**	-0.7**	-0.18	-0.28	0.14	0.10	-0.24	-0.25	0.12	0.7**	0.08	Y8
-0.4	-0.5*	-0.7**	-0.17	-0.5*	0.19	-0.28	-0.08	0.08	-0.04	-0.19	-0.03	0.8**	0.05*	Y12

Y1: *Neophytadiene;* Y2: *Sgualene;* Y3: *n-hexadecanoic acid;* Y4: *Octadecatrienoic acid;* Y6: *Vitamin e;* Y7: *Ferruginol;* Y8: *Phytol;* Y12: *Benzeneethanol.*

بحث و نتیجه‌گیری

تا به امروز ترکیبات مختلفی ازجمله کومارین‌ها، فلاونوئیدها، کوئرستین، روتین، اسکوپولتین و اسکولتین از گونه *F. excelsior* گزارش شده است (۱۵ و ۳۲)، در پژوهش حاضر نیز ترکیباتی چون *neophytadiene*، *phytol*، *vitamin E*، *hexadecanoic acid* که جز متابولیت‌های اصلی ثانویه هستند (۲۵) در برگ گونه زبان‌گنجشک مشاهده شد. پاتل و همکاران (۲۰۱۷)، در پژوهش خود به وجود ترکیباتی چون *neophytadene*، *phytol* و *n-hexadecanoic acid* در گونه درختی *Terminalia coriacea* اشاره کردند (۲۶) و وجود ترکیباتی چون *sgualene*، *Neophytadiene*، *n-hexadecanoic acid*، *Octadecatrienoic acid* و *Phytol* در گونه درختی *Maytenus heyneana* در پژوهش ماهالاکاشمی و تانگاپاندیان در سال (۲۰۱۹) گزارش شده است (۲۳).

در پژوهشی که توسط سرفراز و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد ترکیباتی چون *Tannic acid*، *Catechin quercetin* و *Rutin* در پوست و برگ گونه *F. angustifolia* گزارش شد که دارای خواصی چون ضد فشار خون، ضد دیابت، ضد التهاب و ضد روماتیسم هستند (۲۹). هم‌چنین وجود ترکیباتی چون *n-Tetratriacont*، *n-Hexatriacontane*، *n-Octatriacont*، *Phytanic acid*، *Hydroxystigmasterol-18-oic acid* و *α-L-xylose* در برگ گونه زبان‌گنجشک توسط سلطانا و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است (۳۲).

در پژوهش حاضر همان‌طور که در بخش نتایج گزارش شد ۱۱ ترکیب شیمیایی در برگ درخت زبان‌گنجشک شناسایی شد که این ترکیبات تنها در تعدادی از رویشگاه‌ها وجود داشتند و در سایر رویشگاه‌ها یافت نشد. نتایج پژوهش نبوی و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی اثر رویشگاه بر کمیت و کیفیت عصاره مخروط‌های گونه دارویی پیرو (*Juniperus communis*) در چهار

رویشگاه مختلف نیز نشان داد که ترکیباتی چون *Dehydroabietic acid*، *α-Terpinene*، *Cinnamaldehyde*، *α-Thujene* و *Trans Caryophyllene* به‌طور انحصاری تنها در یک رویشگاه مشاهده شدند (۲٤).

در بین عوامل محیطی، خاک به خودی خود نشان‌دهنده یک سیستم پیچیده فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی است که نه‌تنها تعیین‌کننده میزان رشد گونه است بلکه بر شدت رشد، توزیع طبیعی آن و چگونگی توسعه و کیفیت گیاه نیز اثرگذار است (۳۷ و ٤۱). ویژگی‌های خاک نقش اساسی در توانایی گیاه برای تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه دارد. بررسی دقیق نتایج حاصل از همبستگی پیرسون نتایج جالب‌توجهی از چگونگی رابطه میان ترکیبات شیمیایی شناسایی‌شده در برگ و ویژگی رویشگاه‌های موردبررسی را نمایش می‌دهد. به‌غیراز ترکیب *Ferruginol* که با رطوبت خاک همبستگی معنی‌دار داشت بین ویژگی‌های فیزیکی خاک در پژوهش حاضر مانند رطوبت، وزن مخصوص ظاهری و بافت خاک با ترکیبات شناسایی‌شده همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. در خصوص ارتباط رطوبت با ترکیبات شیمیایی تولیدشده در گیاهان پژوهشی توسط ام سی کایرنن و همکاران (۲۰۱٤) انجام شد، در این پژوهش که تأثیر سه رژیم رطوبتی (کم، زیاد و متوسط) بر تغییرات متابولیتی برگ دو گونه اکالیپتوس مورد بررسی قرار گرفت، گزارش شد که به‌طورکلی اغلب ترپن‌ها تحت‌تأثیر کاهش آب قابل‌دسترس نبودند و آب قابل‌دسترس کم، تنها سبب کاهش غلظت دو ترکیب ترپنی در هر دو گونه مورد مطالعه شد (۲۱). هم‌چنین سانچوناپیک و همکاران (۲۰۱۷) نیز که به بررسی تغییرات متابولیت‌های ثانویه در سوزن‌های گونه *Pinus sylvestris* در شرایط کاهش میزان رطوبت قابل‌جذب خاک (در ۳ فاز کمبود خفیف، متوسط و شدید آب) پرداختند، مشاهده کردند که غلظت اغلب متابولیت‌ها با کاهش مقدار آب قابل‌جذب خاک تغییر کرد و میانگین مقادیر اغلب مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپنوئیدها با افزایش شدت کمبود آب افزایش پیدا کرد و نیز کمبود آب متوسط (فاز ۲) سطوح ترپن‌های فعال سوزن‌ها را نسبت به فاز اول افزایش داده درحالی‌که کمبود شدید آب (فاز ۳) سبب افزایش پرولین، شکیمیک اسید و آبسیزیک اسید شد (۳۰).

هر چند بین متابولیت‌های ثانویه برگ و هدایت الکتریکی و اسیدیته خاک در پژوهش حاضر ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد (تنها *vitamin E* با اسیدیته خاک همبستگی معنی‌دار نشان داد) اما شاه و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهش خود بیان کردند که pH خاک اثرات مثبتی بر غلظت متابولیت‌های ثانویه‌ای چون *paeonol* و *paeoniflorin* دارد (۳۱). هم‌چنین یوآن و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهش خود pH خاک را عامل اصلی تأثیرگذار بر مقدار فلاونوئیدهای موجود در گیاه معرفی کردند که اثرات مثبت و مستقیم بر غلظت فلاونوئید کل دارد (۳۸). سونی و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهش خود به تحریک بیوسنتز فنول‌ها و ترکیب *oleuropein* در برگ‌های برخی از ارقام مختلف زیتون در اثر افزایش شوری خاک اشاره کردند (۲۸). طی پژوهشی که توسط توهامی و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی گونه *Fraxinus angustifolia* در کشور تونس انجام شد، نتایج نشان داد که خواستگاه متفاوت این گونه سبب تولید مقادیر متفاوتی از پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، تانن کل و تانن تغلیظ شده در عصاره گیاه می‌شوند. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان ترکیبات ذکرشده در پوست درخت رشد یافته در رویشگاهی با خاک قلیایی‌تر و دارای هدایت الکتریکی بیش‌تر ایجاد شده است (۳۵).

تمامی ترکیبات شناسایی‌شده در این پژوهش به‌غیراز دو ترکیب *Vitamin E* و *Ferruginol*، بیش‌ترین همبستگی را با عامل ارتفاع از سطح دریا نشان دادند. تمامی این شش ترکیب با عامل ارتفاع همبستگی مثبت ولی با عناصر پرمصرف خاک همبستگی منفی نشان دادند. ونکوا و همکاران (۲۰۲۰)، در بررسی تأثیر رویشگاه بر متابولیت‌های ثانویه میوه گونه توت آبی (*Vaccinium myrtillus* L.) دریافتند که اگرچه رابطه معنی‌داری بین میزان ترکیبات فنولی با اسیدیته خاک، سطح نیتروژن و جهت شیب رویشگاه وجود ندارد اما رابطه معکوسی بین حاصلخیزی خاک و تجمع تانن‌های متراکم در گیاه وجود دارد. به‌عبارتی سطح آنتوسیانین (آنتوسیانین پیش ماده تولید تانن متراکم می‌باشد) در گیاهان رشدیافته در خاک‌های فقیرتر بالاتر بود (۳۶). در پژوهش لیو و همکاران (۲۰۲۰) نیز به وجود ارتباط منفی میان متابولیت‌های ثانویه موجود در ریشه گیاه شیرین‌بیان با اکثر مواد مغذی خاک مانند کربن، فسفر، پتاسیم و نیتروژن کل، پتاسیم و فسفر قابل‌جذب و مواد آلی خاک اشاره شده است (۱۹).

به‌طورکلی اعتقاد بر این است که کمبود ماده مغذی ازت منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه عاری از ازت مانند فنل‌ها می‌شود؛ اما برعکس، این امر سبب سنتز متابولیت‌های ثانویه حاوی نیتروژن مانند آلکالوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک می‌شود که این امر منعکس‌کننده تعادل بین ماده مغذی نیتروژن و نیاز گیاه می‌باشد (۳۸) در پژوهش حاضر نیز بیش‌ترین مقدار ترکیب *Neophytadiene* که یک ترکیب آلکالوئیدی است در رویشگاه ایلال مشاهده شد. با توجه به این‌که کمبود نیتروژن یکی از دلایل افزایش ترکیبات آلکالوئیدی در گیاهان دارویی است، می‌توان افزایش مقدار این ترکیب را به کمبود این عنصر در رویشگاه ایلال نسبت داد. نئوفتادین موجود در برگ زبان‌گنجشک بیش‌ترین همبستگی را با عوامل ارتفاع از سطح دریا و مقدار فسفر قابل‌جذب در خاک نشان داده است. در پژوهش یوآن و همکاران (۲۰۲۰) نیز فسفر موجود در خاک در کنار حداکثر و حداقل رطوبت نسبی، حداکثر دما و مدت زمان تابش آفتاب به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل اکولوژیکی مؤثر بر کمیت آلکالوئید کل معرفی شده است (۳۸).

در اغلب پژوهش‌ها همواره به تأثیر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به‌عنوان عوامل محیطی مهم و تأثیرگذار بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه گیاهی پرداخته شده است؛ اما نتایج برخی از پژوهش‌ها بیانگر آن است که وجود برخی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان با تغییر کیفیت لاشبرگ می‌تواند بر روی عناصر غذایی خاک و خواص شیمیایی آن اثر بگذارد. به‌عبارتی می‌توان گفت ارتباط بین ویژگی‌های خاک و متابولیت‌های ثانویه گیاه ارتباطی متقابل است.

در یک شرایط اقلیمی مشخص، ویژگی‌های خاک ازجمله میکروارگانیسم‌های خاکی، فعالیت آنزیمی خاک، سطح مواد مغذی و اسیدیته از عوامل مهم کنترل تجزیه لاشبرگ هستند. درحالی‌که مطالعات فعلی نشان می‌دهد متابولیت‌های ثانویه گیاهی نیز می‌تواند بر این ویژگی‌ها اثرگذار باشد (۴۰) متابولیت‌های ثانویه گیاهی آزادشده از نوع خاصی از لاشبرگ‌ها می‌توانند به‌طور غیرمستقیم با تأثیر بر خصوصیات بیولوژیکی و شیمیایی خاک بر تجزیه انواع دیگر لاشبرگ‌ها اثر بگذارند. به‌عنوان‌مثال پلی‌فنول‌ها و استروئیدها می‌توانند منجر به کاهش جمعیت جانوران خاک و در نتیجه کاهش تنوع

عملکردی آن‌ها شوند (۳). فلاونوئیدها ضمن سرعت بخشیدن به رشد باکتری‌ها از رشد قارچ‌ها جلوگیری می‌کنند (۱٦) تانن‌ها می‌توانند باعث کاهش فعالیت پراکسیداز و اسید فسفاتاز شوند (۳۳). درحالی‌که ترپنوئیدها به‌طور قابل‌توجهی فعالیت‌های پروتئاز، آریل سولفاتاز (Arylsulfatase) و کیتیناز را مهار می‌کنند (٤). به‌این‌ترتیب متابولیت‌های ثانویه می‌توانند وضعیت عناصر غذایی و pH خاک را نیز تغییر دهند (۹).

اغلب متابولیت‌های ثانویه شناسایی‌شده در پژوهش حاضر از نوع ترپنوئیدها هستند. از بین عناصر غذایی موردبررسی خاک نیز عنصر فسفر و سپس پتاسیم بالاترین میزان همبستگی منفی را با ترکیبات شناسایی‌شده به خود اختصاص داده‌اند. ازآنجاکه آزاد شدن فسفر از لاشبرگ ارتباط نزدیکی با فعالیت جانوران خاکزی دارد، تأثیرات منفی ترپنوئیدها و مشتقات فنولی بر جانوران خاکزی ممکن است مهار فسفر را تشدید کند (۹). ژانگ و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که پالمیتیک اسید (*hexadecanoic acid*) موجود در گونه *Pinus orientalis* منجر به تغییراتی در ترکیب آنزیم فسفاتاز شده و فعالیت آن را کاهش می‌دهد (٤۰). هم‌چنین لی و همکاران (۲۰۱٤) در پژوهش خود بیان کردند که وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای چون پالمیتیک اسید و بنزوئیک اسید در گیاه باعث کاهش تنوع میکروبی خاک می‌شوند (۱۸). پالمیتیک اسید یک اسید چرب با خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی، تأثیرگذار در دفع آفات و ترکیبی معطر است (۲۵). چنانکه در پژوهش حاضر نیز مشاهده کردیم *hexadecanoic acid* موجود در برگ درخت زبان‌گنجشک همبستگی قوی و معکوسی با عناصر غذایی خاک نشان داد که با نتایج پژوهش‌های ذکرشده همخوانی دارد. همان‌طور که گفته شد متابولیت‌های ثانویه می‌توانند فعالیت آنزیم‌های مرتبط با چرخه کربن خاک (مانند *sucrase*، گلکوسیداز، سلولاز، *xylanase* پلی‌فنول‌اکسیداز) و ظرفیت متابولسیم کربن میکروب‌ها را مهار کنند. در مورد آزادسازی نیتروژن و فسفر، متابولیت‌های ثانویه می‌توانند به‌صورت معنی‌داری پروتئاز، اوره آز و فسفاتاز را کاهش دهند و در نتیجه مانع هیدرولیز پروتئین و مواد حاوی پروتئین و فسفر می‌شوند (٤ و ۳۹). متابولیت‌های ثانویه هم‌چنین ممکن است با پروتئین‌ها واکنش نشان دهند و مواد ضد انسداد تشکیل داده و بنابراین مانع انتشار نیتروژن شوند (۹).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش بیانگر آن است ترکیبات ثانویه موجود در برگ زبان‌گنجشک با عامل ارتفاع از سطح دریا همبستگی مثبت و بالایی دارند. بیش‌ترین مقادیر این ترکیبات نیز اغلب در بالاترین سطح ارتفاعی موردبررسی یافت شد. از دیگر نتایج این پژوهش وجود همبستگی منفی و بالای عناصر پرمصرف خاک با متابولیت‌های ثانویه موجود در برگ بود. بنابراین به‌منظور دستیابی به بیش‌ترین بازدهی تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند که می‌توانند به‌عنوان مواد خام صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی مورد استفاده قرار گیرند، پیشنهاد می‌شود که از این گونه درختی در جنگل‌کاری اراضی تخریب‌یافته و واقع در ارتفاعات بالاتر استفاده شود.

منابع

1. Ahyaei, A.M., and Behbahanizadeh, A.A. 1993. Description of soil chemical decomposition methods. Research Organization. Agricultural education and promotion. J. Soil and Water Research Institute. No. 467. (In Persian)
2. Acebey, A., Kromer, T., Maass, B.L., and Kessler, M. 2010. Ecoregional distribution of potentially useful species of Araceae and Bromeliaceae as non-timber forest products in Bolivia. J. of Biodiversity Conservation. 19: 2553-2564.
3. Adamczyk, S., Kiikkila, O., Kitunen, V., and Smolander, A. 2013. Potential response of soil processes to diterpenes, triterpenes and tannins: nitrification, growth of microorganisms and precipitation of proteins. J. Soil Ecology. 67: 47-52.
4. Adamczyk, S., Adamczyk, B., Kitunen, V., and Smolander, A. 2015. Monoterpenes and higher terpenes may inhibit enzyme activities in boreal forest soil. Soil Biology and Biochemical. 87: 59-66.
5. Attanzio, A., D'Anneo, A., Pappalardo, F., Paolo Bonina, F., Antonia Livera, M., Allegra, M., and Tesoriere, L. 2019. Phenolic composition of hydrophilic extract of Manna from Sicilian Feaxinus angustifolia Vahl and its reducing, antioxidant and anti-inflammatory activity in vitro. J. Antioxidants. 8: 1-13.
6. Belcher, B., Ruiz Peirez, M., and Achdiawan, R. 2005. Global patterns and trends in the use and management of commercial NTFPs: implications for livelihoods and conservation. World Development. 33: 1435-1452.
7. Bertome, J., Arrillage, I.M., and Segura, J. 2007. Essential oil variation within and among natural population of Lavandula latifolia and its relation to their ecological areas. J. Biochemical Systematics and Ecology. 35: 479-488.
8. Bernardini, S., Tiezzi, A., Laghezza, V., Masci, and Ovidi, E. 2017. Natural products for human health: An historical overview of the drug discovery approaches. J. Natural Product Research. 27: 1-25.
9. Chomel, M., Guittonny-Larcheveque, M., Fernandez, C., Gallet, C., DesRochers, A., Pare, D., Jackson, B.G., and Baldy, V. 2016. Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. J. Ecology. 104: 1527-1541.
10. Enioutina, E.Y., Salis, E.R., Job, K.M., Gubarev, M.I., Krepkova, L.V., and Sherwin, C.M. 2017. Herbal Medicines: Challenges in the modern world. Part 5. Status and current directions of complementary and alternative herbal medicine worldwide, Expert Review of Clinical Pharmacology. 10: 327-338.
11. Hemati, Kh., Ghasemnezhad, A., Mashayekhi, K., and Bashiri Sadr, Z. 2012. Site effect on some important flavonoid compounds of Linden tree (*Tilia platifolia* L.). J. Plant Production. 19: 2. 141-148. (In Persian)
12. Hinsinger, D.D., Basak, J., Gaudeul, M., Cruaud, C., Bertolino, P., Frascaria-Lacoste, N., and Bousquet, J. 2013. The phylogeny and biogeographic history of Ashes (*Fraxinus*, *Oleaceae*) highlight the roles of migration and vicariance in the diversification of temperate trees. J. Plos One. 8: 1-14.
13. Jafari Haghighi, M. 2003. Soil decomposition methods. Nedaye Zoha Publications. 236p. (In Persian)
14. Jafari, N., Naderi, Pourandokht and Ebrahimzadeh, M.A. 2015. Evaluation of phenolic content, total flavonoid and survey of antioxidant activity of leaves of *Ficus carica* and *Pterocarya fraxinifolia* trees using spectrophotometry and high performance liquid chromatograph methods. J. Plant Biology. 25: 1-16. (In Persian)
15. Kostova, I., and Iossifova, T. 2007. Chemical components of *Fraxinus* species. Fitoterapia. 78: 85-106.
16. Kong, C., Wang, P., Zhao, H., Xu, X., and Zhu, Y. 2008. Impact of allelochemical exuded from allelopathic rice on soil microbial community. Soil Biology and Biochemical. 40: 1862-1869.

17.Katz, L., and Baltz, R.H. 2016. Natural product discovery: Past, present and future. J. Industrial Microbiology and Biotechnology. 43: 155-176.
18.Li, Y., Ying, Y., Zhao, D., and Ding, W. 2014. Influence of allelochemicals on microbial community in ginseng cultivating soil. J. Herbal Medicines. 6: 313-318.
19.Liu, Y., Li, Y., Luo, W., and Liu, Sh. 2020. Soil potassium is correlated with root secondary metabolites and root-associated core bacteria in licorice of different ages. J. Plant Soil. 456: 61-79.
20.Mir-Azadi, Z., Pilehvar, B., Meshkat-Alsadat, M.H., Karamian, R., Alirezaei, M., and Khansari, A. 2012. The effect of main ecological factors on the percentage of essential oil yield of *Myrtus communis* in different forest habitats of Lorestan province. J. Lorestan University of Medical Sciences. 4: 3. 101-109. (In Persian)
21.Mckiernan, A., Hovenden, M.J., Brodribb, T.J., Potts, B.M., Davies, N.W., and O'reilly-Wapstra, J.M. 2014. Effect of limited water availability on foliar plant secondary metabolites of two *Eucalyptus* species. J. Environmental and Experimental Botany. 105: 55-64.
22.Mehri-Rad, N., Payamenoor, V., and Nazari, J. 2016. Effect of base age and light on callus production of *Betula litwinowii* and induced botulin in vitro. J. Genetic Research and Breeding of Range and Forest Plants of Iran. 23: 93-102. (In Persian)
23.Mahalakashmi, R., and Thangapandian, V. 2018. Gaz chromatography and mass spectrometry analysis of bioactive constituents of *Maytenus heyneana* (Roth) Roju and Babu (Celestraceae). J. Pharmacognosy and Phytochemistry. 8: 1. 2748-2752.
24.Nabavi, S.J., Zali, S.H., Ghorbani, J., and Kazemi, S.Y. 2016. Evaluation of soil physical and chemical properties and their respect with essential cones of *Juniperus Communis* in Mountainous Rangelands of Hezarjarib-Mazandaran province. J. Plant Research. 4: 3. 311-318. (In Persian)
25.Olufunke, O., Adejuwon, A., Akinyele, A., Phillip, K., Olalekan, A., Sunday, S., Alban, M., Ikechukwu, O., Ralph, A., and Hasan, M. 2020. *Irvingia gabonensis* seed extract: an effective attenuator of doxorubichin- mediated cardiotoxicity in wistar rats. J. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Pp: 1-14.
26.Patel, J., Reddy, V., Kumar, G.S., Satyasai, D., and Bajari, B. 2017. Gas chromatography and mass spectroscopy analysis of bioactive components on the leaf extract of *Terminalia coriacea*: A potential folklore medicinal plant. J. Green Pharmacy. 11: 1. 139-143.
27.Payame Noor, V., Amirian, H., and Ramzjoo, F. 2018. The effect of different hosts on secondary metabolites of European mistletoe (*vicsum album* L.). J. Wood and Forest Science and Technology. 25: 3. 19-30.
28.Soni, U., Brar, S., and Gauttam, V.K. 2015. Effect of seasonal variation on secondary metabolites of medicinal plants. J. Pharmaceutical Sciences and Research. 6: 9. 3654-3662.
29.Sarfraz, I., Rasul, A., Jabeen, F., Younis, T., Zahoor, M.K., Arshad, M., and Ali, M. 2017. *Fraxinus*: A plant with versatile pharmacological and biological activities. J. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Pp: 1-12.
30.Sancho-Knapik, D., Sanz, M.A., Peguero-Pina, J.J., Niinemets, U., and Gil-Pelegrin, E. 2017. Changes of secondary metabolites in *Pinus sylvestris* L. needle under increasing soil water deficit. J. Annals of Forest Science. 74: 24.
31.Shah, F.A., Ren, Y., Yuan, Y.J., Fu, S., Wang, Y., and Chen, H. 2018. Effect of plant age and geographical location on active paeonol and paeoniflorin accumulation in the roots of *Paeonia ostii*. Pakistan Journal of Botany. 50: 1785-1790.
32.Sultana, Sh., Ali, M., Jameel, M., and Sharma, P. 2018. Chemical constituents from the leaves of *Fraxinus excelsior* L., *Senna sulfurea* (Collad.) H.S. Irwin et Barneby and *Prosopis cineraria* (L.) Druce. J. Trend Phytochemical Research. 2: 4. 243-252.

33. Triebwasser, D.J., Tharayil, N., Preston, C.M., and Gerard, P.D. 2012. The susceptibility of soil enzymes to inhibition by leaf litter tannins is dependent on the tannin chemistry, enzyme class and vegetation history. New Phytologist Foundation. 196: 1122-1132.
34. Talamond, P., Verdeil, J.L., and Conejero, G. 2015. Secondary metabolite localization by Autofluorescence in living plant cells, J. Molecules. 20: 5024-5037.
35. Touhami, I., Ghazghazi, H., Sellimi, H., Khaldi, A., and Mahmoudi, H. 2017. Antioxidant activities and phenolic contents of bark and leave extracts from Tunisian native tree: *Fraxinus angustifolia* Vahl. Subsp. *Angustifolia*. J. New Sciences. 45: 2496-2501.
36. Vanekova, Z., Vanek, M., Skvarenina, J., and Nagy, M. 2020. The influence of local habitat and microclimate on the levels of secondary metabolites in Slovak bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits. J. Plants. 9: 1-11.
37. Yang, L., Wen, K.S., Ruan, X., Zhao, Y.X., Wei, F., and Wang, Q. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. J. Molecules. 23: 762.
38. Yuan, Y., Tang, X., Jia, Zh., Li, Ch., Ma, J., and Zhang, J. 2020. The Effects of Ecological Factors on the Main Medicinal Components of *Dendrobium officinale* under Different Cultivation Modes. J. Forests. 11: 1-16.
39. Zhang, Z., Qiao, M., Li, D., Zhao, C., Li, Y., Yin, H., and Liu, Q. 2015. Effects of two root-secreted phenolic derivatives from a subalpine coniferous species on soil enzyme activity and microbial biomass. J. Chemical Ecology. 31: 636-649.
40. Zhang, X., Wang, B., and Zenggwen, L. 2018. Impacts of plant secondary metabolites from conifer litter on the decomposition of *Populus purdomii* litter. J. Forest Research. Pp: 1-9.
41. Zhang, D., Qi, Q., Tong, S., Wang, X., An. Y., Zhang, M., and Lu, X. 2019. Soil degradation effects on plant diversity and nutrient in tussock meadow wetlands. J. Soil Science Plant Nutrition. Pp: 1-10.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 27 (3), 2020
http://jwfst.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jwfst.2020.18297.1885

Investigation of differentiation of active ingredients of Common ash and its relationship with soil physicochemical properties in Hyrcanian forests

M. Soleimany Rahim Abadi[1], *S.M. Hossaini Nasr[2], H. Jalilvand[3], S.M. Hojjati[2] and P. Biparva[4]

[1]Ph.D. Student of Forestry and Forest Ecology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran,
[2]Associate Prof., Dept. of Forest Sciences and Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran,
[3]Professor, Dept. of Forest Sciences and Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran,
[4]Assistant Prof., Dept. of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
Received: 09.07.2020; Accepted: 11.10.2020

Abstract

Background and Objectives: Common Ash is a forest species with versatile biological and medicinal activities that extracts of its various organs are used as a model for making new compounds in the treatment of various human diseases. There is a high correlation between the geographical origin of medicinal plants and the active compounds produced in them. Therefore, in this study, using this correlation, the most suitable habitat in terms of production of secondary metabolites is introduced.

Materials and Methods: For this research, eight habitats were selected from an altitude range of 200 to 1600 meters (Parchinak, three parcels of Amre forest district, Alandan, Lala, Gharansara and Eilal) in Tajan and Siahroud watersheds located in Mazandaran province. In each habitat, three trees that were similar to each other in terms of qualitative characteristics (tree diameter and height, leaf freshness and health, canopy density) were selected. Leaf samples were selected from the middle part of the branches. The canopy was harvested in four directions in order to eliminate the effect of geographical direction in sampling. The leaf samples were dried in the open air and after grinding and preparing the extract with absolute ethanol, the leaf extracts were prepared for injection by gas chromatography. In order to study the physical and chemical properties of the soil, a soil sample was taken as a mixture around each tree base from a depth of 0-15 cm. Then physicochemical properties of soil such as bulk density, acidity, organic carbon, total nitrogen, available phosphorus, potassium, and calcium were measured in the laboratory. One-way analysis of variance was used to investigate the differences between the sampling areas in terms of secondary chemical composition in the leaves. Pearson double correlation was also used to find out how environmental and soil parameters relate to these chemical compounds.

Results: The results showed that the characteristics of the sampling location had an effect on the values of the identified secondary compounds. All identified compounds (except Vitamin E and Ferruginol) had a positive correlation with altitude factor. The highest levels of Neophytadiene (27.7%), Squalene (21.7%), n-Hexadecanoic acid (26.8%), Octadecatrinoic acid (28.3%), Phytol (6.35%) and Benzeneethanol (10.39%) were observed in Eilal, which has the

*Corresponding author: mhn1949@gmail.com

highest elevation among the studied sites. There was no significant relationship between soil physical properties such as moisture content, bulk density, and soil texture with chemical compounds in the leaves. In addition, in all studied habitats, there was a significant negative relationship between soil nutrients and identified compounds. Also, a number of identified compounds were observed in only one or more habitats and were not common in all studied habitats.

Conclusion: The results of this study showed that with increasing in altitude, the amount of metabolites in the leaves increased and most of the soil nutrients had a negative correlation with the identified chemical compounds. In other words, reducing soil nutrients can cause some kind of stresses and increases the production of secondary metabolites in the plant.

Keywords: Extraction, Gas chromatography, Multipurpose afforestation, Secondary metabolites, Soil nutrients