نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲، ص. ۴۴۳-۴۳۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 27, No. 4, Winter 2014, P. 433-443
ISSN: 2008 - 4730

بررسی تنوع بیوشیمیایی عصاره تعدادی از جمعیت‌های نعنای خوراکی (*Mentha spicata* L.)

عسکر غنی[۱*]- سید حسین نعمتی[۲]- مجید عزیزی[۳]- محمد جمال سحرخیز[۴]- محمد فارسی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۶/۳۱

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی تنوع بیوشیمیایی عصاره ۲۵ جمعیت نعنای خوراکی، آزمایشی بر پایه طرح کاملا تصادفی با ۲۵ تیمار (جمعیت‌ها) و ۳ تکرار به صورت گلدانی در شرایط طبیعی، به اجرا درآمد. بدین منظور، درون هر گلدان ۳ عدد استولون به طول ۵ سانتی‌متر انتخاب و کشت گردید. در مرحله گلدهی کامل، بوته‌های مربوط به هر تیمار برداشت شدند و مهم‌ترین صفات بیوشیمیایی عصاره شامل: میزان کلروفیل (b,a و کل)، کاروتنوئید، فلاون و فلاونول، فلاونوئید کل، میزان ترکیبات فنلی کل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان کربوهیدرات اندازه‌گیری شد. همچنین جمعیت‌ها از نظر صفات فوق مورد تجزیه خوشه‌ای قرار گرفتند و همبستگی بین صفات بیوشیمیایی عصاره در این جمعیت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌ها از نظر خصوصیات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بود. بیشترین و کمترین میزان محتوای کلروفیل کل (۳۵/۷۷ و ۱۰/۵ میلی‌گرم بر گرم نمونه تر) به ترتیب مربوط به تیمارهای فارس (منطقه خفر ۲) و مازندران (منطقه نور) بود. در بین جمعیت‌های مورد مطالعه، تیمارهای اصفهان ۲، مازندران- قائمشهر، مازندران- نور و یاسوج از نظر صفات ارزشمند بیوشیمیایی عصاره (فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و میزان کربوهیدرات) برتر بودند. همچنین برخی از جمعیت‌های مربوط به استان فارس از نظر رنگیزه‌های کاروتنوئید و محتوای کلروفیل نسب به سایر جمعیت‌ها دارای برتری بودند. همچنین بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی، میزان فلاونوئید کل همبستگی مثبتی وجود داشت.

واژه‌های کلیدی: نعنای خوراکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، کربوهیدرات، همبستگی

مقدمه

جنس منتا (*Mentha*) یکی از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان متعلق به خانواده نعنائیان می‌باشند و قدمت استفاده از گونه‌های آن به دو هزار سال قبل بر می‌گردد. از برگ‌ها، پیکر رویشی و اسانس گونه‌های نعنا به عنوان ماده دارویی استفاده می‌شود. از مواد موثره نعنا، در صنایع داروسازی جهت ساخت داروهایی برای مداوای دل درد و نفخ شکم استفاده می‌شود. همچنین از عطر و طعم نعنا برای خوش طعم شدن داروهای بد مزه استفاده می‌شود (۱). از جمله خواص دیگری که به گونه‌های مختلف نعنا نسبت داده‌اند شامل: ضد باکتریایی، ضد خارش، ضد تورم، ضد نفخ، مسکن، درمان ناراحتی‌های معده، محرک، ضد تهوع، درمان تب، سردرد، سرماخوردگی، درمان ناراحتی‌های کبدی، خنثی کننده رادیکال‌های آزاد و ... می‌باشد. همچنین از رایحه دلپذیر آن در صنایع عطر سازی، آرایشی (ساخت صابون، شامپو، کرم و غیره) و سایر فراورده‌های اقتصادی استفاده می‌شود. استفاده از اسانس آن در صنایع بهداشت دهان و دندان باعث افزایش بازار پسندی محصولات می‌گردد (۱۰، ۱۶، ۱۹ و ۲۲). گیاهان جنس نعنا منبع مهمی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند و از مهم‌ترین سبزی‌های مصرفی در سراسر جهان هستند که از زمان‌های بسیار دور به عنوان دارو، سبزی معطر و ادویه مورد استفاده بشر قرار داشته‌اند (۲۶).

نعنای سبز یا نعنای خوراکی (*Mentha spicata* L.)، گیاهی است چند ساله، علفی، پایا، با ساقه‌های چهارگوش و برگ‌های متقابل و دندانه‌دار و بدون دمبرگ و یا دارای دمبرگ کوتاه، گلها به صورت سنبله‌های باریک و نوک‌دار، سیستم ریشه‌ای خزنده و تکثیر آن از طریق ساقه‌های زیرزمینی یا ریزوم‌ها صورت می‌گیرد (۱ و ۲). نعنای خوراکی که در برخی منابع نامهای دیگری از جمله: نعنای سبز، پونه سنبله‌ای، نعنای باغی، نعنای دشتی، نعنای بستانی برای آن ذکر

۱ – دانشجوی سابق دکتری علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه جهرم
(* – نویسنده مسئول: ghani_askar@yahoo.com (ilEma
۲ و ۳– به ترتیب استادیار و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴– دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۵– استاد گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

کرده‌اند (۲، ۷ و ۸). در برخی منابع *Mentha viridis* را نیز مترادف آن ذکر کرده اند. در ایران و سایر کشورهای جهان مانند آمریکا، برزیل و اسپانیا سطح زیادی از زمین‌های زراعی به کشت نعنای خوراکی اختصاص می‌یابد. از برگ‌های این گیاه بصورت خام یا پخته به عنوان ادویه در تهیه سس نعنا و یا به عنوان طعم دهنده انواع سالاد و خوراک بکار می‌رود. از برگ تازه و خشک نعنا، به عنوان چای نعنا استفاده می‌کنند که طعم دلنشینی دارد و موجب رفع خستگی می‌شود و اسانس حاصل از برگ و گل آن بعنوان طعم دهنده در تهیه انواع نوشیدنی، شیرینی و بستنی بکار می‌رود (۳ و ۲۲). لیمونن، کارون و ۱و۸-سینئول به عنوان مهم‌ترین اجزاء اسانس این گونه گزارش شده است (۱، ۵، ۱۰ و ۱۳).

تحقیقات مختلف نشان دهنده فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف نعنا می‌باشد (۱۱، ۱۴، ۱۸ و ۲۱) این گیاهان همچنین دارای مقادیر بالایی عناصر مورد نیاز بدن (آهن، منگنز، کلسیم، فسفر و پتاسیم) می‌باشند (۳۶). به دلیل تلاقی‌های زیادی که بین گونه‌های این جنس صورت گرفته است از نظر مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و ژنتیکی تنوع زیادی بین آنها مشاهده می‌شود (۳۱). با توجه به اینکه تنوع ژنتیکی اساس و پایه کار بهنژادی گیاهان است و بدین منظور نیاز به مواد ژنتیکی مناسب و غنی می‌باشد تا امکان بهره جستن از صفات مطلوب آنها که طی سالیان متمادی صفاتی را در خود ذخیره کرده‌اند، فراهم باشد (۹). به طور کلی اهداف بهنژادی در تیره نعنا را می‌توان سازگاری وسیع نسبت به عوامل گوناگون محیطی، افزایش محصول، افزایش میزان اسانس و بهبود کیفیت آن بیان کرد (۲۳). نشانگرهای مورفولوژیکی عموما متناظر با صفات کیفی هستند که به صورت چشمی رتبه بندی می‌شوند. این نشانگرها در جمعیت‌های طبیعی یافت می‌شوند و یا در نتیجه آزمایش‌های جهش زایی به وجود می‌آیند. این نشانگرها دارای توارث غالب و مغلوبی می‌باشند (۶) که البته دارای معایبی نیز هستند. عباس زاده و همکاران (۱۰)، تنوع میزان اسانس را در برگهای گونه‌های مختلف نعنا مورد بررسی قرار دادند و نتایج تحقیق آنها نشان داد که گونه‌های مختلف نعنا از نظر میزان اسانس برگ دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند. در تحقیق دیگری صفات زراعی و شیمیایی پونه سنبله‌ای *M. spicata* را مورد بررسی قرار دادند و نتایج تحقیقات شان نشان داد که تمامی توده‌های رشد کرده به صورت وحشی از نظر صفات زراعی و محتوای اسانس تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند (۳۲). از آگلیکن فلاونوئیدها برای شناسایی گونه‌ها و هیبریدهای جنس نعنا به روش اسپکتروفتومتری استفاده شده است و روش مورد استفاده را روش موثری برای این منظور ارزیابی نمودند همچنین نتایج به دست آمده با نتایج ژنتیکی مطابقت داشت (۳۳). بدر و همکاران (۱۲) تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های نعنا را با استفاده از تنوع مورفولوژیکی و پروتئین‌های الکتروفورز شده مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق ۳۸ جمعیت از ۳ گونه نعنا (*M. longifolia, M. spicata, M.* × *piperita*) از مناطق مختلف مصر جمع‌آوری شد و ۱۰ ویژگی از صفات مورفولوژیکی آنها مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه خوشه‌ای مربوط به هر دو روش شناسایی نشان داد که تغییرات محیطی تاثیر شدیدی بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد آزمایش دارد.

با توجه به اینکه در مناطق مختلف ایران جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی مورد کشت و کار قرار می‌گیرد و تاکنون تحقیق جامعی در رابطه با مواد موثره و خصوصیات بیوشیمیایی عصاره این جمعیت‌ها در شرایط کشت یکسان صورت نگرفته است این تحقیق بدین منظور انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در طی سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ بصورت گلدانی در محل مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی به اجرا درآمد. ریزوم‌های مربوط به ۲۵ جمعیت از نعنای خوراکی مربوط به ۸ استان کشور (استان‌های فارس، اصفهان، مازندران، خراسان رضوی، یزد، کرمان، بوشهر و کهکیلویه و بویر احمد) در طی پاییز و زمستان ۱۳۹۰ جمع‌آوری گردید و به منظور تکثیر و دسترسی به مواد گیاهی کافی جهت انجام آزمایش درون گلدان‌های ۷ کیلوگرمی حاوی پیت-پرلایت کشت گردیدند. اطلاعات مربوط به محل جمع‌آوری نمونه‌ها و برخی خصوصیات ظاهری جمعیت‌های مورد تحقیق در جدول شماره ۱ آورده شده است. در اوایل خرداد ماه از هر جمعیت، ۳ عدد استولون به طول ۵ تا ۷ سانتی‌متر انتخاب و درون گلدانهای پلاستیکی کشت شدند. گلدانها تا پایان آزمایش در شرایط طبیعی و در هوای آزاد نگهداری شدند. آبیاری گلدانها بسته به شرایط آب و هوایی ۲ تا ۳ مرتبه در هفته به میزان ۴۰۰ میلی‌لیتر انجام گردید. آبیاری و کلیه عملیات داشت برای تمامی گلدانها به صورت یکسان تا پایان آزمایش انجام شد. در شهریور ماه، همزمان با مرحله گلدهی کامل گیاهان، بوته‌های مربوط به هر تیمار برداشت شدند و مهم‌ترین صفات بیوشیمیایی عصاره شامل: میزان کلروفیل (b,a و کل)، رنگیزه کاروتنوئید، فلاون و فلاونول، فلاونوئید کل، میزان ترکیبات فنلی کل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان کربوهیدرات کل به شرحی که در ذیل خواهد آمد اندازه‌گیری شد. طرح آماری مورد استفاده، طرح کاملا تصادفی (RCD) با ۲۵ تیمار و ۳ تکرار بود که تیمارها شامل جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی بودند.

برای اندازه گیری میزان کلروفیل، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ تازه از برگ‌های جوان کاملا توسعه یافته جدا و استخراج با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر متانول انجام شد. میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) انجام شد.

جدول ۱- اطلاعات مربوط به محل جمع‌آوری و برخی خصوصیات ظاهری جمعیت‌های نعنای خوراکی*Mentha spicata*

شماره تیمار	محل جمع‌آوری	شکل برگ	رنگ ساقه	وضعیت دمبرگ
T1	فارس- مرودشت	نیمه چروکیده	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T2	مازندران - قائمشهر	چروکیده	نیمه بنفش	بدون دمبرگ
T3	خراسان رضوی- نیشابور	نیمه چروکیده	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T4	اصفهان ۱	چروکیده	سبز	بدون دمبرگ
T5	مازندران- نور	چروکیده	نیمه بنفش	بدون دمبرگ
T6	اصفهان- خوراسگان	نیمه چروکیده	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T7	اصفهان ۲	چروکیده	سبز	بدون دمبرگ
T8	اصفهان ۳	نیمه چروکیده	سبز	دارای دمبرگ
T9	فارس- کازرون ۱	نیمه چروکیده	بنفش	دارای دمبرگ
T10	خراسان رضوی- بجستان	چروکیده	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T11	اصفهان ۴	چروکیده	بنفش	دارای دمبرگ
T12	کهکیلویه و بویر احمد- یاسوج	نیمه چروکیده	بنفش	دارای دمبرگ
T13	اصفهان ۵	چروکیده	سبز	بدون دمبرگ
T14	بوشهر- جم	چروکیده	بنفش	دارای دمبرگ
T15	اصفهان ۶	صاف	سبز	دارای دمبرگ
T16	مازندران- تنکابن	چروکیده	بنفش	بدون دمبرگ
T17	یزد- طبس	صاف	سبز	دارای دمبرگ
T18	فارس- استهبان	چروکیده	نیمه بنفش	بدون دمبرگ
T19	فارس- خفر ۱	صاف	نیمه بنفش	بدون دمبرگ
T20	فارس- کازرون ۲	صاف	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T21	اصفهان ۷	نیمه چروکیده	بنفش	دارای دمبرگ
T22	فارس- خفر ۲	صاف	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T23	فارس- خفر ۳	صاف	نیمه بنفش	دارای دمبرگ
T24	کرمان	نیمه چروکیده	بنفش	دارای دمبرگ
T25	فارس- خفر ۴	صاف	بنفش	دارای دمبرگ

در نهایت نیز بر اساس روابط زیر مقدار کلروفیل a و b، محاسبه گردید (۱۵).

$C_a = 15.65A_{666} - 7.34\ A_{653}$

$C_b = 27.05\ A_{653} - 11.21\ A_{666}$

$C_{total} = C_a + C_b$

$Carotenoide = 1000\ A_{470} - 2.86\ C_a - 129.2\ C_b / 245$

C_a: میزان کلروفیل (a)، C_b: میزان کلروفیل (b)، C_{total}: کلروفیل کل و Carotenoide: کاروتنوئید

عصاره‌گیری از نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری سایر فاکتورهای بیوشیمیایی به صورت زیر انجام شد. عصاره توسط حلال متانولی به نسبت ۵ به ۱ (حجمی- وزنی) با استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد انجام شد. برای تمامی تیمارها میزان ۱ گرم نمونه خشک توزین گردید و به لوله فالکون انتقال یافت سپس میزان ۵ میلی‌لیتر حلال به آنها اضافه گردید و مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه (rpm) نگهداری شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه داخل سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ قرار گرفتند و سپس قسمت روشناور صاف گردید و به عنوان عصاره جهت انجام آزمایشات بعدی در دمای ۲۰- نگهداری شدند.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl, Sigma, Aldrich) با استفاده از روش اک و همکاران (۲۵) با اندکی تغییر انجام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به وسیله روش اسپکتروفتومتری بر پایه کاهش رادیکال‌های آزاد انجام شد. ۱۰۰ ماکرو لیتر از عصاره‌های مذکور با غلظت‌های متفاوت (۲۵۰ تا ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام) به ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (با غلظت ۰/۰۰۴ درصد) اضافه شد. در محلول شاهد (بلانک) به جای عصاره، ۱۰۰ ماکرو لیتر متانول اضافه شد. محلولها به مدت ۱۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه جهت واکنش در دمای اتاق و در محیط تاریک نگهداری شدند و سپس در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. اعداد جذب پایین‌تر نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر بود. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (AOA) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

۱۰۰ × عدد جذب شاهد/ (عدد جذب نمونه- عدد جذب شاهد) = (%AOA) درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی

غلظت عصاره‌ای که بتواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی کند (IC_{50}) با استفاده از رسم نمودار و محاسبه توالی یابی خطی محاسبه شد (۲۰).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی بر اساس روش فولین (Folin-Ciocalteu) انجام شد (۳۴). تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف گالیک اسید با رسم منحنی استاندارد گالیک اسید (غلظت‌های ۰ تا ۴۰۰ پی‌پی‌ام) انجام شد و داده‌ها به صورت میلی‌گرم اکی والانت گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک بیان شد (mg GA/100 g DW). اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل به روش مینیچین و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد. تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف کوئرستین با رسم منحنی استاندارد کوئرستین (غلظت‌های ۰ تا ۴۰۰ پی‌پی‌ام) انجام شد و داده‌ها به صورت میلی‌گرم اکی والانت کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک بیان شد (۲۴). میزان فلاون و فلاونول به روش پوپوا و همکاران (۲۰۰۴) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد و نتایج به صورت میلی‌گرم اکی والانت کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک بیان شد (۲۸). برای اندازه‌گیری کربوهیدرات کل (قندهای محلول)، ۱۰۰ ماکرو لیتر از عصاره برداشته شد، سپس ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون به نمونه‌ها اضافه گردید. در نهایت پس از اعمال ۱۰ دقیقه دمای آب جوش، نمونه‌ها را داخل آب سرد گذاشته و سپس میزان جذب نور در ۶۳۰ نانومتر انجام گرفت. جهت تهیه محلول استاندارد در این آزمایش از گلوکز خالص (غلظت‌های ۰ تا ۴۰۰ پی‌پی‌ام) استفاده شد (۳۴).

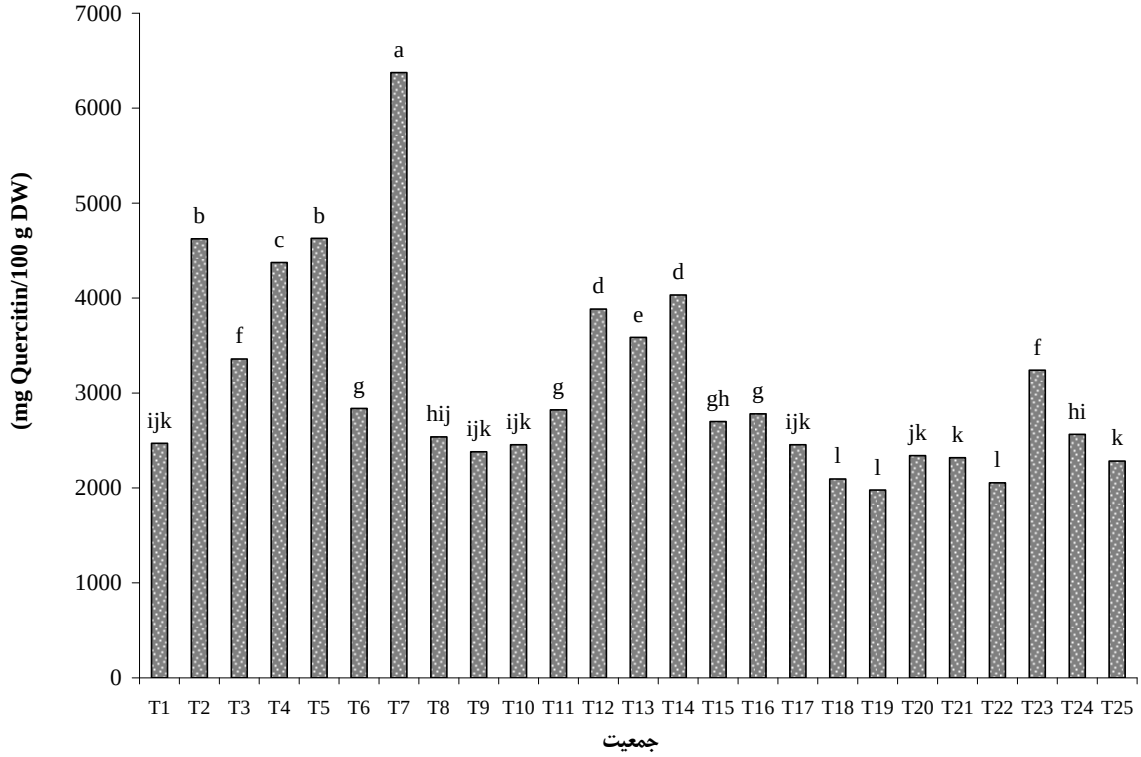
تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم افزار MINITAB و مقایسه میانگین‌ها با نرم افزار MSTAT-C، انجام شد. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای تیمارها و محاسبه همبستگی بین صفات با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مندرج در جدول ۲ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌ها از نظر میزان محتوای کلروفیل (b,a و کل) میزان کاروتنوئید ($p<0.01$) و میزان فلاون و فلاونول ($p<0.05$) می‌باشد. از نظر محتوای کلروفیل a، بالاترین میزان (۲۳/۹ تا ۲۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای فارس- خفر ۲، اصفهان- خوراسگان، فارس- کازرون ۱، اصفهان ۶ و مازندران- قائمشهر بود در حالی که کمترین میزان (۷/۴۴ تا ۸/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای مازندران- نور، فارس- مرودشت، فارس- خفر ۴ و اصفهان ۱ بود. از نظر میزان کلروفیل b، بیشترین میزان (۹/۷ تا ۱۱/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای فارس- کازرون ۲، مازندران- قائمشهر، خراسان رضوی- نیشابور و فارس- کازرون ۱ بود و کمترین میزان (۱/۲۳ تا ۲/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای مازندران- تنکابن، کرمان، فارس- استهبان و اصفهان ۴ بود. بالاترین میزان محتوای کلروفیل کل (۳۵/۲۶ تا ۳۵/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای فارس- خفر ۲، فارس- کازرون ۱ و مازندران- قائمشهر بود و کمترین میزان (۱۰/۵ تا ۱۳/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای مازندران- نور، فارس- مرودشت، فارس- خفر ۴ و مازندران- تنکابن بود. از نظر میزان کاروتنوئید، بالاترین میزان (۴/۵۲ تا ۵/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای فارس- خفر ۳، فارس- خفر ۲، بوشهر- جم، فارس- استهبان، فارس- کازرون ۱ و مازندران- تنکابن بود در حالی که کمترین میزان (۰/۳ تا ۱/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمارهای فارس- کازرون ۲، اصفهان ۵، اصفهان ۳، یزد- طبس و اصفهان ۷ بود. بالاترین میزان فلاون و فلاونول (۳۰۸/۸ تا ۳۱۶/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه خشک) مربوط به تیمارهای اصفهان ۲ و اصفهان ۷ بود و بقیه تیمارها اکثرا در یک گروه قرار داشتند و تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود نداشت. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، بالاترین میزان فلاونوئید کل مربوط به تیمارهای اصفهان ۲، مازندران- نور، مازندران- قائمشهر و اصفهان ۱ و کمترین میزان مربوط به تیمارهای فارس- خفر ۱، فارس- استهبان و فارس- خفر ۲ می‌باشد. نتایج مندرج در نمودار ۲، در رابطه با میزان ترکیبات فنلی کل نشان می‌دهد که بالاترین میزان مربوط به تیمارهای اصفهان ۲، مازندران- نور، مازندران- قائمشهر و یاسوج و کمترین میزان مربوط به تیمارهای اصفهان ۳، فارس- خفر ۴، فارس- استهبان، فارس- خفر ۱ و فارس- خفر ۲ می‌باشد. نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمودار ۳ آورده شده است. همانطور که قبلا نیز ذکر گردید IC_{50} رابطه معکوسی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد و پایین بودن میزان این عدد بیانگر ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی آن تیمار می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین میزان IC_{50}) مربوط به تیمارهای مازندران- قائمشهر، اصفهان ۱، فارس- مرودشت، مازندران- نور و اصفهان ۵ می‌باشد در حالی که کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمارهای فارس- خفر ۲، فارس- خفر ۴، فارس- خفر ۳، اصفهان ۷ و فارس- کازرون ۲ بود. بالاترین میزان کربوهیدرات، مربوط به تیمارهای یاسوج، اصفهان ۲، اصفهان ۵ و اصفهان ۷ بود در حالی که کمترین میزان مربوط به تیمارهای خراسان رضوی- بجستان، مازندران- تنکابن، فارس- کازرون ۲ و فارس- خفر ۴ بود (نمودار ۴). روابط همبستگی بین صفات بیوشیمیایی عصاره جمعیت‌های نعنا در جدول ۳ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود بین میزان IC_{50} و فلاونوئید کل و میزان ترکیبات فنلی کل همبستگی منفی و معنی‌داری ($p<0.01$)

وجود دارد به عبارت دیگر همبستگی مثبتی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید کل و همچنین میزان ترکیبات فنلی وجود دارد. در حالی که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سایر خصوصیات بیوشیمیایی عصاره همبستگی معنی‌داری وجود نداشت. میزان کلروفیل a با میزان کلروفیل b و کاروتنوئید در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد و با کلروفیل کل در سطح معنی‌داری ۹۹ درصد همبستگی مثبتی وجود داشت. همچنین میزان کلروفیل b نیز با میزان کلروفیل کل همبستگی مثبت و معنی‌داری ($p<0.01$) داشت. میزان فلاون و فلاونول نیز با میزان فلاونوئید کل، ترکیبات فنلی کل و کربوهیدرات کل همبستگی مثبت و معنی‌داری ($p<0.01$) داشت. میزان فلاونوئید کل نیز با ترکیبات فنلی کل و کربوهیدرات کل رابطه مثبت و معنی‌داری ($p<0.01$) داشت. میزان ترکیبات فنلی کل نیز با کربوهیدرات کل رابطه مثبت و معنی‌داری ($p<0.01$) داشت.

نتایج مربوط به تجزیه خوشه‌ای در نمودار شماره ۵ منعکس شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در فاصله ۱۰، جمعیت‌ها به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند که یک گروه شامل تیمارهای اصفهان ۲ و یاسوج می‌باشد و سایر جمعیت‌ها در گروه دیگر قرار می‌گیرند. در فاصله نزدیک به ۵، جمعیت‌ها به پنج گروه اصلی تقسیم می‌شوند. گروه اول شامل جمعیت یاسوج، گروه دوم شامل جمعیت اصفهان ۲، که این دو گروه بیشترین شباهت را از نظر خصوصیات بیوشیمیایی عصاره به هم دارند. جمعیت‌های اصفهان ۲ و یاسوج (به ترتیب تیمارهای T7 و T12) از نظر صفاتی مانند ترکیبات فلاون و فلاونول، فلاونوئید کل، ترکیبات فنلی کل و کربوهیدرات در مقایسه با سایر تیمارها در سطح بالاتری قرار داشتند. گروه سوم شامل جمعیت‌های اصفهان ۴، اصفهان ۷ و اصفهان ۵ می‌باشند (به ترتیب تیمارهای T11، T21 و T13). گروه چهارم شامل جمعیت‌های مازندران- قائمشهر، بوشهر-جم و مازندران- نور می‌باشند (به ترتیب تیمارهای T2، T14 و T5). با دقت در نتایج صفات بیوشیمیایی، مشاهده می‌شود که این جمعیت‌ها بعد از دو گروه قبل دارای میزان بالاتری مواد بیوشیمیایی نسبت به سایر تیمارها می‌باشند و جمعیت‌های این گروه با جمعیت‌های گروه سوم از نظر صفات بیوشیمیایی به هم نزدیک می‌باشند. سایر جمعیت‌ها نیز در گروه پنجم طبقه‌بندی می‌شوند که در فواصل کمتر از ۵، خود شامل چندین زیر گروه دیگر می‌شوند. مثلا تیمارهای T22، T23 و T25 که هر سه مربوط به فارس-خفر می‌باشند در یک زیر گروه قرار گرفته اند که نشان دهنده کمترین تنوع بین این جمعیت‌ها می‌باشد.



نمودار ۱- بررسی میزان فلاونوئید کل در جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی (*Mentha spicata*)

(وجود حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد)

جدول ۲- تغییرات محتوای کلروفیل (a ,b و کل)، میزان کاروتنوئید و فلاون و فلاونول در جمعیت‌های نعنای خوراکی

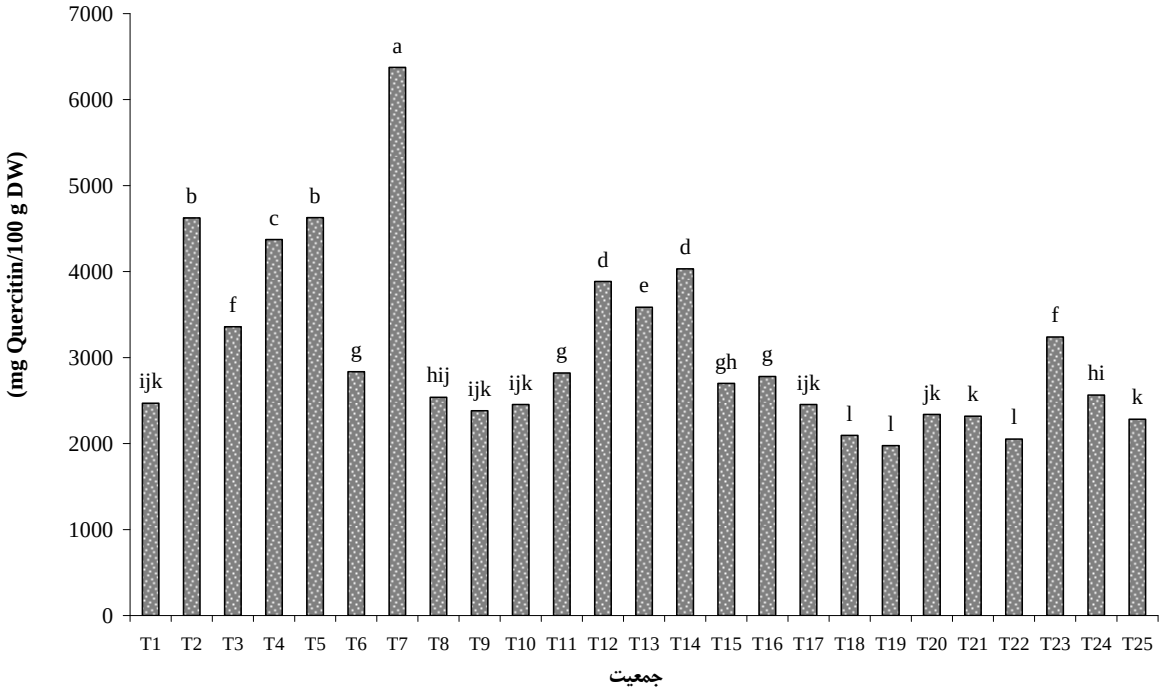
تیمار	محتوای کلروفیل a (mg/g FW)	محتوای کلروفیل b (mg/g FW)	محتوای کلروفیل کل (mg/g FW)	کاروتنوئید (mg/g FW)	فلاون و فلاونول (mg/100g DW)
T1	۸/۲ mn	۴/۱۵ ef	۱۲/۳۵ j	۱/۴۳ hi	۱۶۰/۳ bcd
T2	۲۳/۹ bc	۱۱/۳۶ a	۳۵/۲۶ a	۳/۹۴ d	۲۷۷/۳ ab
T3	۲۱/۳۶ d	۱۱ a	۳۲/۳۶ b	۲/۴۱ g	۱۳۳ d
T4	۸/۹۶ lm	۵/۸ cd	۱۴/۷۵ h	۱/۶۱ h	۱۶۸ bcd
T5	۷/۴۴ n	۳/۰۶ hi	۱۰/۵ k	۱/۷۲ h	۲۶۴/۸ abc
T6	۲۵/۲۸ ab	۳/۱۵ ghi	۲۸/۴۳ c	۲/۶ fg	۱۶۲/۱ bcd
T7	۱۳/۴۷ ij	۴/۰۱ efg	۱۷/۴۸ g	۳/۳۵ e	۳۱۶/۵ a
T8	۱۶/۵۲ f	۴/۵۹ ef	۲۱/۱۱ f	۰/۷۹ jk	۱۳۳ d
T9	۲۴/۴۲ b	۱۰/۹۸ a	۳۵/۴ a	۴/۵۴ bc	۲۰۷/۲ a-d
T10	۱۵/۵۹ fg	۶/۳۵ c	۲۱/۹۴ f	۳/۰۵ ef	۱۴۳/۷ cd
T11	۱۵/۰۱ gh	۲/۷۲ ij	۱۷/۷۲ g	۴/۴۵ cd	۱۳۱/۲ d
T12	۱۱/۰۴ k	۴/۱۹ ef	۱۵/۲۳ h	۲/۳۴ g	۲۵۳/۶ a-d
T13	۱۷ f	۵ ef	۲۲ f	۰/۵۶ jk	۱۶۲/۷ bcd
T14	۲۲/۶۳ cd	۴/۹۶ de	۲۷/۵۹ c	۵/۰۱ abc	۲۱۷/۹ a-d
T15	۲۴/۲۹ b	۳/۸۶ fgh	۲۸/۱۵ c	۲/۴ g	۱۵۶/۲ bcd
T16	۱۲/۵ j	۱/۲۳ k	۱۳/۷۳ hij	۴/۵۲ bc	۲۰۳/۷ a-d
T17	۹/۹۸ kl	۴/۰۴ efg	۱۴/۰۲ hi	۰/۸۹ ij	۱۷۷/۵ bcd
T18	۱۴/۳۶ hi	۲/۶۷ ij	۱۷/۰۳ g	۴/۶۴ bc	۱۵۹/۷ bcd
T19	۱۸/۹۲ e	۶/۲۹ c	۲۵/۲۱ d	۲/۸۵ efg	۱۳۸/۹ cd
T20	۱۰/۷۶ k	۱۱/۷۶ a	۲۲/۵۲ ef	۰/۳ k	۱۶۰/۳ bcd
T21	۱۷/۰۶ f	۴/۳۷ ef	۲۱/۴۳ f	۱/۰۱ ij	۳۰۸/۸ a
T22	۲۶/۰۷ a	۹/۷ b	۳۵/۷۷ a	۵/۰۶ ab	۱۷۲/۲ bcd
T23	۱۹/۱۳ e	۴/۴۶ ef	۲۳/۵۹ e	۵/۲۵ a	۱۷۲/۸ bcd
T24	۱۲/۳۹ j	۱/۸۷ jk	۱۴/۲۷ hi	۳/۹۲ d	۱۷۱ bcd
T25	۸/۴۶ mn	۴/۴ ef	۱۲/۸۶ ij	۱/۴۳ hi	۱۵۱/۴ bcd

وجود حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد.

جدول ۳- بررسی روابط همبستگی بین صفات بیوشیمیایی عصاره در جمعیت‌های نعنای خوراکی

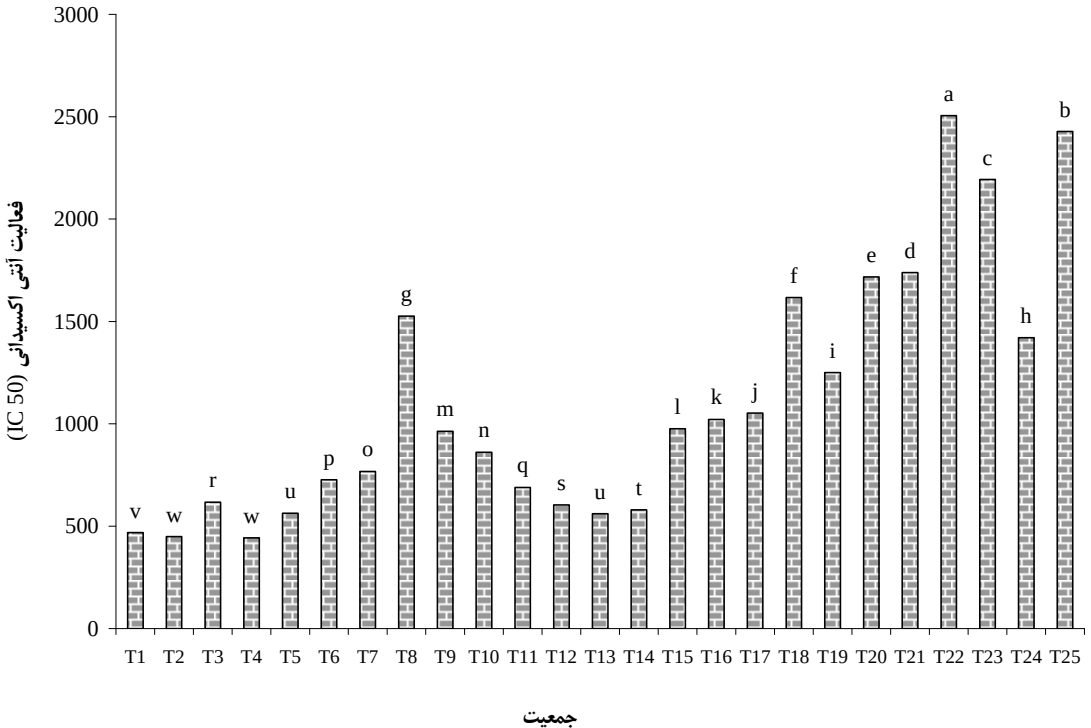
	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50)	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	میزان کاروتنوئید	فلاون و فلاونول	فلاونوئید کل	ترکیبات فنلی کل
محتوای کلروفیل a	۰/۰۵۳	۱						
محتوای کلروفیل b	۰/۰۵۳	۰/۴۱۴*	۱					
محتوای کلروفیل کل	۰/۰۶۲	۰/۹۳۲**	۰/۷۱۵**	۱				
میزان کاروتنوئید	۰/۱۱۳	۰/۴۶۹*	-۰/۰۲۱	۰/۳۵۱	۱			
فلاون و فلاونول	-۰/۱۸۷	-۰/۰۴۵	-۰/۰۲۴	-۰/۰۴۴	۰/۰۶	۱		
فلاونوئید کل	-۰/۵۳۵**	-۰/۱۰۸	-۰/۰۲۷	-۰/۰۹۳	۰/۰۴۴	۰/۶۲۴**	۱	
ترکیبات فنلی کل	-۰/۵۹۸**	-۰/۰۷	-۰/۰۳۳	-۰/۰۶۷	۰/۱۱۶	۰/۷**	۰/۹۳۵**	۱
کربوهیدرات کل	-۰/۳۴۶	-۰/۰۶۸	-۰/۱۶۶	-۰/۱۱۸	-۰/۱۴۲	۰/۵۴**	۰/۵۲۶**	۰/۶۳۱**

* و **- به ترتیب دارای همبستگی در سطح معنی‌داری ۵٪ و ۱٪



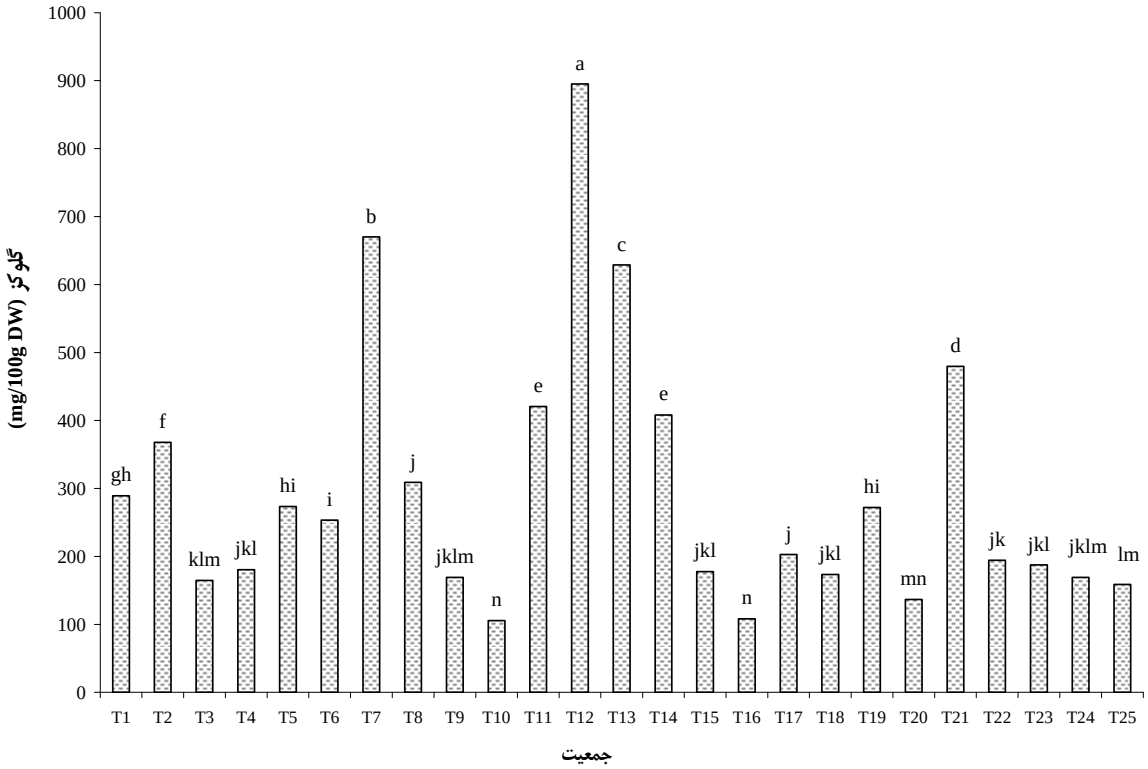
نمودار ۲- بررسی میزان ترکیبات فنلی کل در جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی (*Mentha spicata*)

(وجود حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد)



نمودار ۳- بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی (*Mentha spicata*)

(وجود حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد)

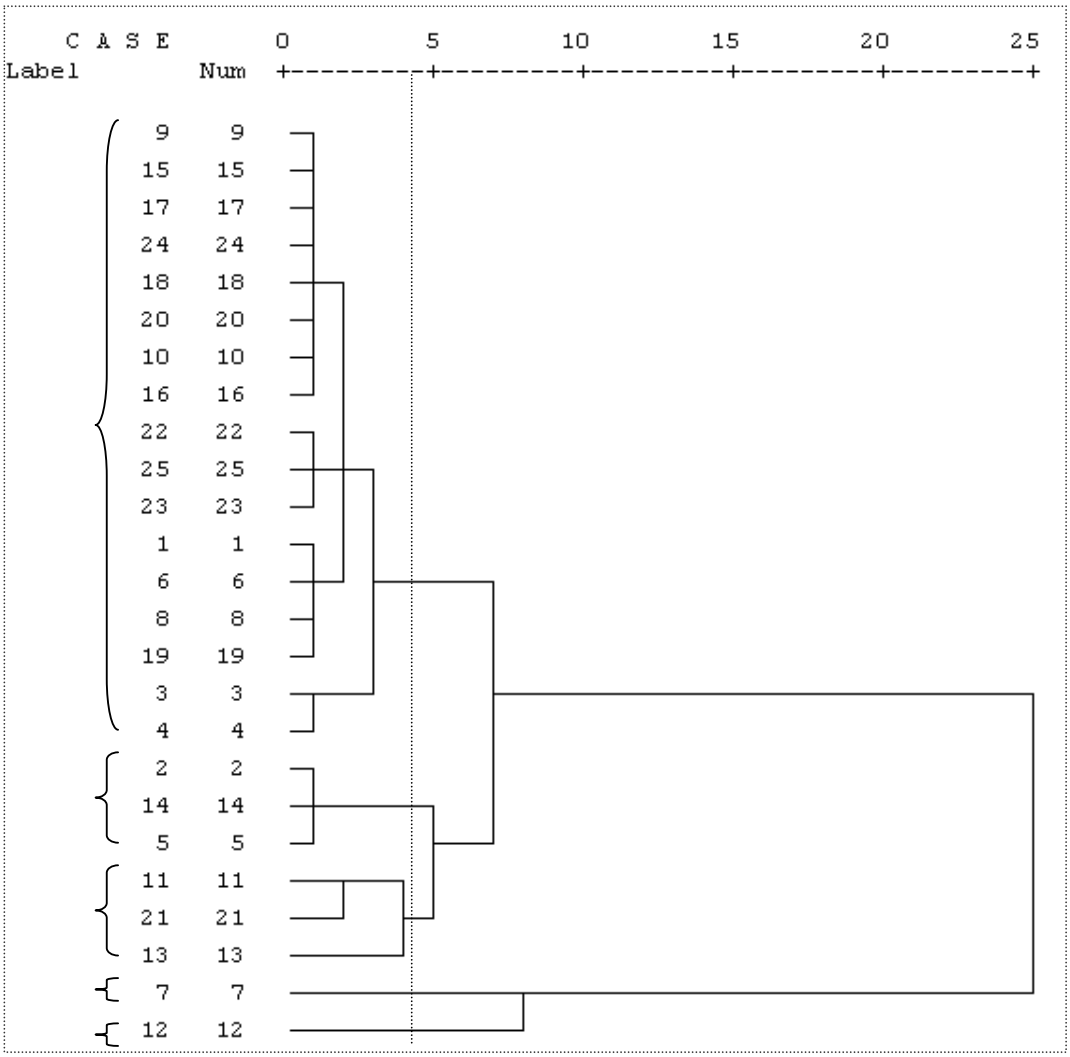


نمودار ٤- بررسی میزان کربوهیدرات در جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی (*Mentha spicata*)

(وجود حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد)

تاکنون در ایران، تحقیق جامعی بدین صورت که جمعیت‌های یک گونه را از نظر صفات ارزشمند بیوشیمیایی عصاره مورد بررسی قرار دهند گزارش نشده است ولی بصورت پراکنده برخی محققین خصوصیات بیوشیمیایی جمعیت‌ها را در سایر کشورها مورد بررسی قرار داده‌اند. الظاهر و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از پلی مورفیسم ایزوآنزیمی تنوع ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌ها و گونه‌های نعنا را در ۳۲ جمعیت پونه وحشی *M. longifolia*، ۵ جمعیت از نعنای خوراکی *M. spicata* و یک جمعیت از *M. × piperita* را بررسی کردند. آزمایش‌های انجام گرفته بر روی پونه وحشی و نعنای خوراکی سطوح بالای تنوع ژنتیکی را نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای فاصله ژنتیکی بین توده‌های مورد آزمایش تفاوت واضح سه گونه را نشان داد و سه گونه را از هم جدا ساخت (۱۷). همانطور که مشاهده می‌شود در تحقیق حاضر، میزان فلاونوئید کل به عنوان یک شاخص توانست به راحتی جمعیت‌ها را از هم تفکیک نماید و تنوع بین جمعیت‌ها را نشان دهد. سایر محققین نیز از آگلیکن فلاونوئیدها برای شناسایی گونه‌ها و هیبریدهای جنس نعنا به روش اسپکتروفتومتری استفاده کرده‌اند و روش مورد استفاده را روش موثری برای این منظور ارزیابی نمودند. نتایج به دست آمده از این روش با نتایج ژنتیکی مطابقت داشت (۳۲).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جنس نعنا به عنوان یک صفت بسیار مهم و ارزشمند مد نظر می‌باشد. این صفت که در واقع یک فعالیت بیولوژیک می‌باشد که با صفات دیگری از جمله میزان اسانس، فلاون و فلاونول، ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و کربوهیدرات در ارتباط است و این صفات می توانند بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی یک تیمار تاثیر گذار باشند. این تحقیق برای اولین بار در ایران تنوع صفات فوق را در جمعیت‌های نعنای خوراکی مورد بررسی قرار داده است و نتایج آن توانست ژنوتیپ‌های برتر را از نظر هر صفت معرفی نماید. در یک تحقیق، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان رزمارینیک اسید و میزان ترکیبات فنلی کل، ۴۴ جمعیت از نعنای خوراکی مربوط به کشور کانادا مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج تحقیق آنها نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در ۱۰ جمعیت برتر آن بین ۳۵ تا ۴۲/۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک متغیر بود. آنها از این فاکتور به عنوان یک شاخص کیفی مهم یاد کرده اند زیرا میزان ترکیبات فنلی رابطه مستقیمی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا دارد. همچنین میزان رزمارینیک اسید نیز در بین ۱۰ جمعیت برتر از ۶۱/۲ تا ۷۷/۳ میلی-گرم در گرم وزن خشک متغیر بود و همبستگی معنی‌داری بین میزان رزمارینیک اسید در نمونه‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها وجود داشت (۱۸). در تحقیق حاضر میزان ترکیبات فنلی بین ۶۰۳/۳ تا ۱۹۸۶/۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه خشک متغیر بود.



نمودار ۵- دندروگرام مربوط به تجزیه خوشه‌ای در رابطه با داده‌های بیوشیمیایی عصاره جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی (*Mentha spicata*)

تفاوت در نتایج تحقیق حاضر با تحقیق فوق ممکن است بعلت تفاوت ژنتیکی و یا روش استخراج و اندازه‌گیری این صفت باشد. کامکار و همکاران (۲۱)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس، عصاره آبی و عصاره متانولی پونه معطر (خالواش) *Mentha pulegium* را از شمال ایران (گیلان) مورد بررسی قرار دادند. ایشان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و متانولی را بسیار بالاتر از اسانس گزارش نمودند. نتایج تحقیق آنها نشان دهنده اهمیت بیشتر عصاره گیاه نعنا بعلت دارا بودن ترکیباتی علاوه بر اسانس که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. در تحقیق دیگری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و میزان ترکیبات فنلی ۹ نمونه مربوط به چند گونه و واریته نعنا از کشور فنلاند مورد مطالعه قرار گرفته است. در این تحقیق بالاترین میزان ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین نمونه‌ها مربوط به نعنا فلفلی ×*M. piperita* و نعنای خوراکی *M. spicata* var. *crispa* بود. از نظر سایر ترکیبات فنلی (کافئیک اسید، لوتئولین، نارنجنین و رزمارینیک اسید) نیز روندی مشابه بالا بود (۱۴). در یک تحقیق در رابطه با شناسایی اجزای ترکیبات فنلی و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها در گونه‌ای نعنا *M. haplocalyx*، ۷ ترکیب شناسایی شد. این ترکیبات شامل اسلیوانولیک اسید، لیتوسپرمیک اسید، رزمارینیک اسید، بتا مگنزیوم لیتوسپرمات، بتا سدیم لیتوسپرمات و پروپانوئیک اسید بودند و قوی‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ترکیب بتا سدیم لیتوسپرمات گزارش شد (۳۲). روزدار (۴) میزان ترکیبات فنلی موجود در نمونه برگ تازه نعنا فلفلی کشت شده در شرایط آب و هوایی مشهد را ۹۲۹/۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک گزارش نمود. همانطور که مشاهده می‌شود اکثر جمعیت‌های نعنای

خوراکی در این تحقیق میزان ترکیبات فنلی در حد نعنا فلفلی داشتند البته در چند جمعیت نیز میزان بالاتر و یا کمتر از مقدار فوق بود. ایشان همچنین میزان فلاون و فلاونول و فلاونوئید کل را در این گونه به ترتیب ۳۵/۵ و ۱۱۶/۳ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک گزارش نمود (۴). همانطور که مشاهده می‌شود میزان این دو ترکیب در گونه نعنای خوراکی بسیار بالاتر از نعنا فلفلی بوده است.

در رابطه با فرایند بیولوژیک آنتی‌اکسیدان‌ها، گیاهان در مواجهه با تنش‌های محیطی و غلبه بر عوارض ناشی از این تنش‌ها از سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند که می‌تواند در نابودی رادیکال‌های آزاد اکسیژن به گیاه کمک کند. آنزیم‌هایی مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربیک پراکسیدار، گلوتاتیون ردوکتاز به همراه یکسری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی مانند آسکوربیک اسید، گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول و کاروتنوئیدها بخش عمده این سیستم دفاعی گیاه را تشکیل می‌دهند (۲۹). ترکیبات فنلی به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا مانند آنتوسیانین ها و فلاونوئیدها نیز در این امر نقش بالایی داشته و میزان خسارات ناشی از آن را کاهش می‌دهند. ترکیبات فنلی، گروهی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که عموما دارای یک یا چند گروه هیدروکسیل می‌باشند و تاکنون حدود ۵۰۰۰ ماده فنلی شناخته شده است که اکثر آنها دارای نقش آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. این ترکیبات جزء آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی آبدوست محسوب می‌شوند و دارای خواص ارزشمند ضد جهش، ضد میکروبی، ضد ویروس و ضد سرطان هستند (۲۷).

با توجه به نتایج این تحقیق، جمعیت‌های مختلف نعنای خوراکی از نظر یک سری خصوصیات بیوشیمیایی ارزشمند عصاره مورد ارزیابی قرار گرفتند و طبقه‌بندی شدند. وجود این تنوع به اصلاحگر امکان انتخاب و کشت جمعیت مورد نظر با توجه به هدف از کشت را می‌دهد. در این تحقیق چون جمعیت‌ها همه در شرایط یکسان کشت شده‌اند اثر محیط تقریبا حذف شده است و تنوع موجود به نظر ژنتیکی می‌باشد. در بین جمعیت‌های مورد مطالعه، تیمارهای اصفهان ۲، مازندران- قائمشهر، مازندران- نور و یاسوج دارای برتری‌هایی از نظر صفات ارزشمند بیوشیمیایی عصاره بودند. همچنین برخی از جمعیت‌های مربوط به استان فارس از نظر رنگیزه های کاروتنوئید و محتوای کلروفیل نسب به سایر جمعیت‌ها دارای برتری بودند. از طرف دیگر چون بین خصوصیات بیوشیمیایی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی، میزان فلاونوئید کل و کربوهیدرات همبستگی مثبتی وجود دارد در مطالعه سایر جمعیت‌های این گونه می‌توان با اندازه‌گیری یکی از این صفات بیوشیمیایی عصاره، آنها را از نظر سایر خصوصیات بیوشیمیایی عصاره مورد ارزیابی قرار داد.

منابع

۱- امید بیگی ر. ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد دوم. انتشارات آستان قدس رضوی به نشر. ۴۳۸ صفحه.

۲- تقی لو ا.ح. ۱۳۸۹. ارزیابی جمعیت‌های پونه سنبله‌ای بومی ایران با استفاده از صفات مورفولوژیکی و مارکر مولکولی RAPD. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه تهران، ۵۷ صفحه.

۳- خضری ش. ۱۳۸۲. فرهنگ گیاهان دارویی (خواص میوه‌ها، گیاهان و سبزیجات). انتشارات رستم خانی. چاپ اول، ۵۶۸ صفحه.

۴- روزدار ف. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر خصوصیات ظاهری و بیوشیمیایی گیاه دارویی نعناء فلفلی *Mentha* × *piperita* L.. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- زارع ده آبادی س.، اسرار ز. و مهربانی م. ۱۳۸۹. تغییرات بیوشیمیایی میزان ترپنوئیدهای موجود در اسانس گیاه دارویی نعنا سبز (*Mentha spicata* L.) در پاسخ به تیمار مقدار اضافی روی (Zn). مجله زیست شناسی گیاهی. ۱(۳): ۳۴-۲۵.

۶- فارسی م. و باقری ع. ر. ۱۳۸۳. اصول اصلاح نباتات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۳۷۶ صفحه.

۷- مظفریان و.ا. ۱۳۸۲. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر تهران، چاپ سوم، ۶۷۱ صفحه.

۸- نظامی س. ۱۳۹۱. بررسی اثر تنش کم آبی بر خصوصیات رشدی سه گونه نعنا تحت شرایط کنترل شده. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۰۳ صفحه.

۹- وجدانی پ. ۱۳۷۶. اهمیت روش‌های محافظت در محل رویش طبیعی و نقش آن در حفظ و بهره‌برداری از ذخایر توارثی گیاهی. مقالات کلیدی چهارمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۵۵۴-۵۷۳.

10- Abbaszadeh B., Aliabadi Farahani H., Valadabadi S.A., and Moaveni, P. 2009. Investigation of variations of the morphological values and flowering shoot yield in different mint species at Iran. Journal of Horticultural and Forestry, 1(7): 109-112.

11- Arumugam P., Ramamurthy P., Thyagarajan Santhiya S. and Ramesh A. 2006. Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* L.: Analysis by ABTS. + decolorization assay. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 119-124.

12- Badr A., Mustafa A.M. A., El-Galaly M.A., Mobarak A.A. and Hassan M. G. 2003. Genetic diversity among *Mentha* Populations in Egypt as reflected by morphological and protein electrophorotic variation. Proc. 1Egypt and Syr. Conference For Agricultural and Food, 1: 269-286.
13- Chauhana R.S., Kaul M.K., Shahi A.K., Kumara A., Rama G. and Tawa A. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. Industrial Crops and Products, 29: 654 656.
14- Damein Dorman H.J. Kosar M., Kahlos K., Holm Y. and Hiltunen R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 4563 4569.
15- Dere S. Gunes T., and Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Journal of Botany, 22: 13-17.
16- Diaz-Marota M.C., Perez-Coello M.S., Gonzalez-Vinas M.A. and Cabezudo M.D. 2003. Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). Agricultural and Food Chemistry, 51: 1265-1269.
17- El-Zaher A., Mustafa M.A., Mohammed A., El-Galaly M.A., Ahmed A. and Mervat G.H. 2005. Genetic diversity among *Mentha* population in Egypt as reflected by isozyme polymorphism. International Journal of Botany, 1(2): 188-195.
18- Fletcher R.S., McAuley C. and Kott L.S. 2005. Novel *Mentha spicata* Clones with Enhanced Rosmarinic Acid and Antioxidant Activity. Acta Horticulture, 680 (6): 31-36.
19- Hajlaoui H., Snoussi M. and Ben Jannet H. 2008. Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia* L. sp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). Annals of Microbiology, 58(3): 103-110.
20- Hashemi M.B., Niakousari M. and Saharkhiz M.J. 2011. Antioxidant activity of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in rapeseed oil irradiated with UV rays. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 113: 1132–1137.
21- Kamkar A., Jebelli Javan A., Asadi F. and Kamalinejad M. 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48: 1796–1800.
22- Karray-Bouraouia N., Rabhib M., Neffati M., Baldand B., Ranieri A., Marzouk B., Lachaal M. and Smaoui A. 2009. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. Industrial Crops and Products, 30: 338-343.
23- Khanuja S.P.S., Shasany A.K., Alka S. and Sushil K. 2000. Assessment of genetic relationships in *Mentha* species. Kluwer Academic Publisher, 111: 121-125.
24- Menichini F., Tundis R., Bonesi M., Loizzo M.R., Conforti F., Statti G., Di Cindi B., Houghton P.J. and Menichini F. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. Habanero. Food Chemistry, 114: 553-560.
25- Oke F., Aslim B., Ozturk S. and Altundag S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry 112: 874-879.
26- Park K.J., Vohnikova Z. and Reis Brod F. P. 2002. Evaluation of drying parameters and desorption isotherms of garden mint leaves (*Mentha crispa* L.). Journal of Food Engineering, 51: 193-199.
27- Podsedek A. 2007. Natural antioxidant and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. LWT: Food Science and Technology, 40(1): 1–11.
28- Popova M., Bankova V., Butovska D., Petkov V., Nikolova-Damyanova B., Sabatini A.G., Marcazzan G.L., and Bogdanov S. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. Phytochemical Analysis, 15: 235-240.
29- Prasad M.N.V. and Strzatka K. (Eds.). 2002. Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Kluwer Academic Pub, Dordrecht. Pp: 432.
30- She G.M., Xu C., Liu B. and Shi R.B. 2010. Polyphenolic Acids from Mint (the Aerial of *Mentha haplocalyx* Briq.) with DPPH Radical Scavenging Activity. Journal of Food Science, 75 (4): 359-362.
31- Smolik M., Rzepka-plevnes D., Jadszak D. and Sekowska A. 2007. Morphological and genetic variability of chosen *Mentha* species. Herba Uolonica, 53(3): 90-97.
32- Telci I., Sahbaz N., Yilmaz G. and Mehmat E.T. 2004. Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating of Turkey. Economic Botany, 58(4): 721-728.
33- Voirin B., Bayet C., Faure O. and Jullien F. 1999. Free flavonoide aglycones as markers of parentage in *Mentha aquatica, M. citrata, M. spicata* and *M.× piperita*. Phytochemistry, 50: 1189-1193.
34- Wojdylo A., Oszmianski J. and Czemerys R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. Food Chemistry, 1005: 940-949.
35- Yemm E.W. and Willis A.J. 1954. The estimation of carbohydrate in the plant extract by anthrone reagent. J. Biochem, 57:508–514.
36- Zeinali H., Razmjo Kh., and Arzani A. 2003. Diversity among Iranian mints in relation to yield and mineral content. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 51 (34): 2203-2217.