# ارزیابی و مقایسه محتوای فنل، فلاونوئیدکل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه در ۱٤ ژنوتیپ مختلف گیاه دارویی *Ziziphus mauritiana* L.

**بهمن فاضلی نسب[۱و٤*]، علیرضا سیروس مهر[۲]، ناصر میرزایی[۳]، مراد سلیمانی[۳]**

[۱]مربی پژوهشی، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[۲]استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[۳]دانشجویان کارشناسی ارشد، اصلاح گیاهان باغی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[٤]پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران

**تاریخ دریافت:** ۱۳۹۵/۱۰/۰۵ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۵/۱۱/۳۰

**چکیده**

استفاده از ترکیبات طبیعی ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسب و ایمنی در مواد غذایی و صنایع دارویی باشند. از این‌رو هدف از این تحقیق ارزیابی میزان فنل، فلاونوئید و خاصیت آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف گیاه کنار بود. در این تحقیق ١٤ ژنوتیپ بومی گیاه کنار (*Ziziphus mauritiana* L.) در سال ۱۳۹۵ از مناطق جنوب کشور شامل جیرفت، رودان، میناب و جاسک جمع‌آوری گردید. میزان فنل و فلاونویید کل بر اساس روش‌های اسپکتروفوتومتری و ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش DPPH ارزیابی گردید نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که ژنوتیپ گیاه کنار در منطقه رودان از بیشترین میزان فنل کل (۲۰/٤۱۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) و فلاونوئیدکل (۵۲/۱۱۹ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) برخوردار بود. نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره هیدرو الکلی برگ و میوه به‌صورت مجموع نشان داد که ژنوتیپ گیاه کنار در منطقه رودان و سپس ژنوتیپ‌های گیاه کنار در شهر تالار به ترتیب با میزان ۸۳/۰۸٦ و ۸۲/۰٦٤ میکروگرم در میلی‌لیتر ژنوتیپ‌های برتر بودند. در کل عصاره هیدروالکلی برگ ژنوتیپ‌های کنار نسبت به میوه از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر و ژنوتیپ کنار منطقه رودان و سپس ژنوتیپ کنار منطقه تالار، ژنوتیپ‌های برتر از لحاظ خواص آنتی اکسیدانی بودند. با توجه به میزان بالای خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کنار و همچنین به‌دلیل خطرات سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و سنتز شده، پیشنهاد می‌گردد فرآورده‌های گیاه کنار مخصوصاً کنارهای رودان و تالار به‌عنوان جایگزینی مناسب بجای مواد نگه‌دارنده و همچنین می‌توان از آن‌ها به‌عنوان منابع غنی و در دسترس، در صنایع غذایی و داروسازی استفاده کرد.

***واژه‌های کلیدی:*** آنتی‌اکسیدان، جنوب ایران، ژنوتیپ، کنار *Ziziphus mauritiana* L.، فلاونوئید، فنل

*نویسنده مسئول: bfazeli@uoz.ac.ir

**مقدمه**

یکی از مشکلات صنعت غذا و دارو، گسترش سویه‌های میکروبی مقاوم به داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و امروزه به دلیل خاصیت سمی و سرطان‌زایی ترکیبات شیمیایی و سنتزی، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف و از این‌رو، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسب و ایمنی در مواد غذایی باشند (Negi, 2012). همچنین، در بیماری‌های دهان و دندان و ورم مفاصل و استخوان که کلاژن در معرض تخریب قرار می‌گیرد، ترکیبات فنلی و مواد آنتی‌اکسیدانی این گیاهان می‌تواند از آن جلوگیری کند (Kwok et al., 2010).

ترکیبات فنلی بخش از رژیم غذایی انسان را تشکیل داده و بزرگ‌ترین نفع رایج آن فعالیت‌های ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است (Dai and Mumper, 2010). فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنلی گیاه مانند اسیدهای فنلی، استیلبن، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها معمولاً در برگ‌ها و بخش‌های چوبی مانند ساقه و شاخه وجود دارند. این ترکیبات نقش مهمی در رشد طبیعی گیاه و مقاومت در برابر عفونت و ضربه دارند (Mozdastan et al., 2015b). تفاوت در مقادیر کمی ترکیب‌های فیتوشیمیایی ازجمله ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها در بین توده‌های مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاه‌ها باشد(Valizadeh et al., 2015).همچنین در تحقیق شارما وهمکاران (Sharma et al., 2012) اختلاف معنی‌داری بین مقادیر فنل کل، محتوای فلاونوئیدها و قابلیت آنتی‌اکسیدانی گونه پنیر باد (*W. somnifera*) حاصل از رویشگاه‌های مختلف گزارش شده است.

فلاونوئیدها ازجمله ترکیب‌های فنلی هستند که به‌طور مستقیم باعث مهار مولکول‌های فعال سوپر اکسید، پر اکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیل می‌گردد. گزارش شده است که گیاهان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند (Sharma et al., 2012). این فعالیت آنتی‌اکسیدانی عمدتاً مربوط به توانایی این ترکیب‌ها به دادن الکترون یا اتم‌های هیدروژن بوده و به همین دلیل از نظر دارویی حائز اهمیت می‌باشند (Shrivastava and Roy, 2013). نکته قابل توجه اینکه بخش‌های بذر و پوست برخی میوه‌ها از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری حتی نسبت به گوشت برخوردارند. به‌عنوان نمونه بذرهای انگور و پوست انار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت داشته و غنی از پروآنتوسیانیدین است که مهار کننده قوی رادیکال‌های فعال اکسیژن هستند (Bagchi et al., 2000).

رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] بخش لازمی از حیات بوده که در واکنش‌های بیولوژیک مهمی شرکت داشته و تنها زمانی مفید هستند که در زمان و مکان درستی تولید شوند(Khalili and Ebrahimzadeh, 2015)، در غیر این صورت می‌توانند مضر بوده و بهترین ترکیبات سلول مانند اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و رنگ‌دانه‌ها را مورد حمله قرار دهند (Jafari et al., 2007). برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن، ترکیبات آنتی‌اکسیدانت نیاز است. سلول‌های گیاهی از دو سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی فنل، کارتنوئیدها) و غیر آنزیمی برای حل این معضل

1. Reactive Oxygens Species

استفاده می‌کنند (Chen et al., ; Mollá et al., 2006 2006).

تحقیقات نشان داده منبع دریافت فنل‌ها و فلاونوئیدها در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است. برای مثال در کشورهایی همچون ژاپن و چین مصرف چای سبز تأمین‌کننده این ترکیبات مورد نیاز بدن می‌باشد درحالی‌که این مواد در کشورهای غربی با مصرف سیب و پیاز و در کشورهای شرقی با مصرف سبزی‌ها و مواد غذایی تخمیری تأمین می‌شوند ( Wach et al., 2007). در کشور ایران به‌طور جامع نوع خاص استفاده از انواع مواد حاوی آنتی‌اکسیدان وجود ندارد اما با تبلیغات مختلف کارهایی ازجمله مصرف سبزی‌ها به‌صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف [به‌صورت دم‌نوش، عرقیات، اسانس، عصاره، مربا، شربت، ترشی، مواد شوینده (از جمله سدر) و حتی مصرف به‌صورت دلمه و غیره] صورت گرفته که پیرو تحقیقات مختلف باید از اندام‌های مختلف گیاهان که دارای نوع خاص مواد آنتی‌اکسیدانی بوده استفاده خاصی از آن‌ها بشود.

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مرکبات و سبزی‌ها، بازدارنده رشد بیماری‌های بالینی مهم بوده و برخی تحقیقات، رابطه بین مصرف میوه‌ها و سبزی‌ها با کاهش بیماری‌های مزمن را تائید نموده‌اند ( Calabro et al., 2004). گرچه میوه‌ها و سبزی‌ها از نظر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی متنوع هستند لیکن آن‌هایی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا دارند معمولاً حاوی آنتی‌اکسیدان‌های بیشتری هستند (Guo and Yang, 2001).

کُنار[1](عناب، سدر، رملیک) سرده‌ای از درختان و درختچه‌های تیغ‌دار از تیره عنابیان است که در مناطق گرمسیری و غیرگرمسیری پراکنده و در استان‌های جنوبی ایران مانند فارس، هرمزگان، بوشهر، خوزستان، کرمان و جنوب سیستان و بلوچستان به‌خوبی می‌روید (Mozafarian, 2010). برگ‌های کنار را می‌توان خشک و پودر کرده و جهت شستشوی بدن و مو بکار برد. برگ کنار (سدر) حاوی تانن، استرول‌های گیاهی مانند بتاسیتوسترول، بتاسیتوسترول گلوکزید و ساپونین ابلین لاکتون است. ساپونین موجود در سدر عامل کف کنندگی در برگ کنار است. ابلین لاکتون از دسته ساپونینهای استروئیدی است و به‌عنوان ماده اولیه برای تهیه هورمون‌های استروئیدی می‌توان بکار برد ( Judd and Olmstead, 2004; Asgarpanah and Haghighat, 2012 ).

از نیمه دوم قرن گذشته، ( Zakizadeh et al., 2011; Mozdastan et al., 2015a). از طرفی مواد آنتی‌اکسیدانی کاربردهای زیادی علاوه بر درمان و پیشگیری از بیماری‌های سرطانی و تصلب شرایین داشته مثلاً از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی برگ زیتون جهت افزایش انبارمانی چربی‌ها و روغن‌ها، از عصاره پوست بادام‌زمینی به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی جهت نگهداری چیپس‌های سیب‌زمینی و غیره استفاده شده است (Rehman, 2003).

با توجه به مطالب ارایه شده در مورد مواد آنتی‌اکسیدانی و بافت‌ها و گیاهان حاوی این مواد و اینکه تاکنون گزارشی در مورد ارزیابی محتوای فنلی و فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان خانواده عنابیان منتشر نشده لذا در این تحقیق از ژنوتیپ‌های مختلف درخت کنار (یکی از اعضاء خانواده عنابیان) جهت بررسی میزان و خواص مواد آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

**تهیه مواد گیاهی:** در این تحقیق ١٤ ژنوتیپ (جدول ١) بومی گیاه کنار از مناطق جنوب کشور شامل

1. *Ziziphus mauritiana*

جیرفت، رودان، میناب، جاسک جمع‌آوری و در آزمایشگاه‌های پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**جدول ۱:** مشخصات ژنوتیپ‌های کنار مورد استفاده در این تحقیق

| کد منطقه محل جمع آوری | منطقه محل جمع آوری | موقعیت جغرافیایی | | کد شهرستان محل جمع آوری | شهرستان محل جمع آوری |
|---|---|---|---|---|---|
| | | عرض | طول | | |
| 1 | روستای چلو (یک) | N, 57° 83′; E, 27° 48′ | | 1 | میناب |
| 2 | شهر تالار | N, 57° 11′; E, 27° 28′ | | 1 | میناب |
| 3 | شهر رودان (یک) | N, 57° 53′; E, 27° 40′ | | 2 | رودان |
| 4 | شهر رودان (دو) | N, 57° 40′; E, 27° 52′ | | 2 | رودان |
| 5 | شهر هشتبندی (یک) | N, 57° 28′; E, 27° 10′ | | 1 | میناب |
| 6 | شهر هشتبندی (دو) | N, 57° 46′; E, 27° 20′ | | 1 | میناب |
| 7 | شهر هشتبندی (سه) | N, 57° 34′; E, 27° 15′ | | 1 | میناب |
| 8 | شهر جاسک | N, 47° 47′; E, 25° 37′ | | 3 | جاسک |
| 9 | شهر جیرفت | N, 57° 25′; E, 28° 40′ | | 4 | جیرفت |
| 10 | شهر هشتبندی (چهار) | N, 57° 70′; E, 27° 39′ | | 1 | میناب |
| 11 | شهر هشتبندی (پنج) | N, 57° 33′; E, 27° 12′ | | 1 | میناب |
| 12 | روستای کریان | N, 57° 6′; E, 27° 7′ | | 1 | میناب |
| 13 | روستای چلو (دو) | N, 56° 90′; E, 28° 60′ | | 1 | میناب |
| 14 | بدون هسته میناب | N, 57° 6′; E, 27° 7′ | | 1 | میناب |

**اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل و فلاونوئید کل**

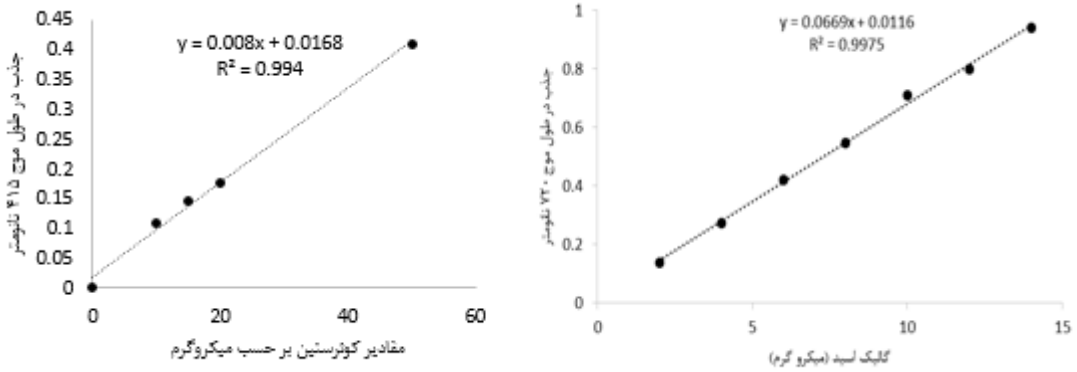
**روش تهیه عصاره هیدرو الکلی:** مقدار ۱۰ گرم برگ خشک‌شده در سایه و در مجاورت هوا، آسیاب و سپس در ۱۰۰ سی‌سی محلول (الکل ۷۰ و آب مقطر ۳۰) خیسانده و به مدت ٤٨ ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف، سپس حلال در دمای کمتر از ٤٠ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه روتاری تبخیر و باقیمانده بعد از خشک شدن برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با درجه حرارت ٤٠ درجه سانتی‌گراد نگهداری (Pourmorad et al., 2006) شد. سپس جهت اندازه‌گیری مقدار فنل کل و فلاونوئید، ۱۰۰ میلی‌گرم پودر عصاره در ۱ سی‌سی متانل حل شد (Chang et al., 2002).

**فنل کل:** برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲٪)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرو لیتر معرف فولین‌سیوکالتیو[1] (۵۰٪) اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت (شکل ۱). محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Meda et al., 2005).

فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرو لیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰٪)، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰٪)، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار

1. Folin–Ciocalteu's

و ٢/٨ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ٤٠ دقیقه در طول موج ٤١٥ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری گردید. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما بجای عصاره، همان حجم متانول ٨٠٪ به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد (شکل ١). میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).




**شکل ١:** منحنی استاندارد گالیک اسید و کوئرستین جهت اندازه‌گیری مقادیر فنل و فلاونوئید کل

**ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال یا سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی:** رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای تعیین فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد به کار رفت. ابتدا از عصاره ٤٠ میلی‌گرم وزن نموده در ٢٥ سی‌سی متانول حل و سپس از این محلول سه غلظت ٤٠، ٨٠ و ١٠٠ میکرو لیتر برداشته و با DPPH (با غلظت ٠/١ میلی‌مول) به حجم ٤ سی‌سی رسانده و سپس در دمای اتاق به مدت ١ ساعت قرار داده و نهایت جذب نوری را با طول‌موج ٥١٧ نانومتر انجام می‌دهیم. جهت کنترل مثبت (شاهد) می‌توان از اسکوربیک اسید استفاده کرد (Ebrahimzadeh et al., 2008).

$$F = \frac{A_b - A_s}{A_b} * 100$$

F = مقدار به دام اندازی رادیکال DPPH؛ $A_b$=جذب بلانک؛ $A_s$=جذب نمونه یا استاندارد

**تجزیه آماری داده‌ها**

داده‌ها بعد از جمع‌آوری و نرمال سازی توسط نرم‌افزارهای SAS 9.1 و student statistic 9 ارزیابی و سپس مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده آزمون کمترین تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه خوشه‌ای تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی براساس میزان فنل کل، فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی براساس ماتریس تشابه نی و لی (Nei and Li, 1979) و روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTsys pc2.02 انجام شد(Rolf, 2002).

## نتایج

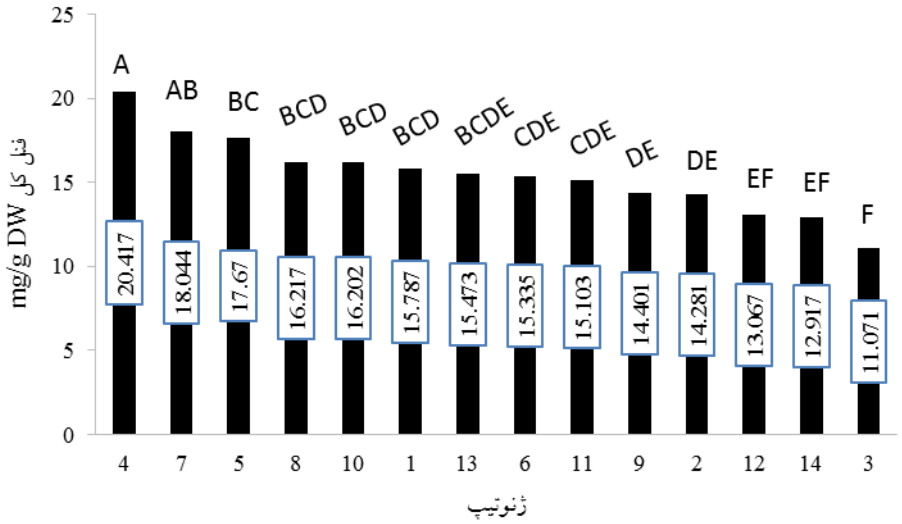
**فنل کل:** نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که میزان فنل عصاره برگی ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ١/١٥ تا ١٣/٦٥ و میانگین ٤/٦١ میلی‌گرم

در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار (جدول ۲) و آزمون مقایسه میانگین LSD نیز نشان داد که بیشترین میزان فنل (۱۳/٦٥) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر رودان (دو) و کمترین میزان (۱/۱٥) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر تالار به دست آمد. همچنین میزان فنل عصاره میوه ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ۱٥/٤۳ تا ۳۱/۹۷ و میانگین ۲٦/۲۳ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار (جدول ۲) و آزمون تعقیبی LSD نیز نشان داد که بیشترین میزان فنل (۳۱/۹۷) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از هشتبندی (سه) و کمترین میزان (۱٥/٤۳) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر رودان (یک) به دست آمد(شکل ۲). در کل عصاره میوه (۲٦/۲۳۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) نسبت به عصاره برگی (٤/٦۱٦ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) فنل بیشتری داشت و در مجموع عصاره میوه و برگی، ژنوتیپ کنار رودان (دو) بیشترین میزان فنل (۲۰/٤۱۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) داشت. ضمنا موقعیت جغرافیایی تاثیری بر میزان فنل کل نداشته است.

**جدول ۲:** ارزیابی میزان فنل کل و فلاونوئید کل عصاره هیدروالکلی در کنار

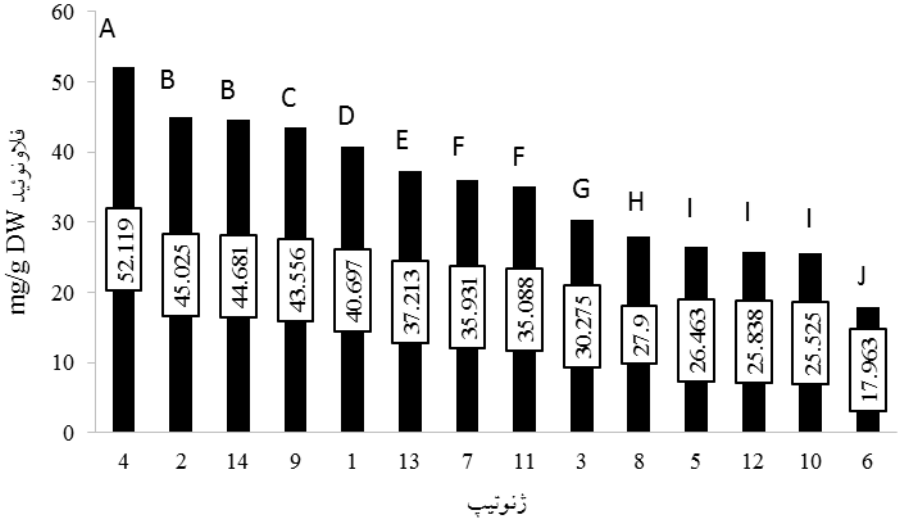
| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | فنل | فلاونوئید |
| منطقه | ۳ | ۳/۷۸٦$^{ns}$ | ٤٤۸/۹٥۲$^{**}$ |
| نوع بافت | ۱ | ۹۸۱۸/۰٥۳$^{**}$ | ۹۱۹۰۳/٤۳٥$^{**}$ |
| ژنوتیپ | ۱۳ | ٤۱/۷٤۲$^{**}$ | ٥۹۰/۱۹۰٥$^{**}$ |
| منطقه * نوع بافت | ۳ | ۱۲۹/۱۱۲$^{**}$ | ٤۰۷/۷٥۱$^{**}$ |
| ژنوتیپ * نوع بافت | ۱۳ | ۱۹/٥۷۹$^{**}$ | ٥۸٥/۲٤۸$^{**}$ |
| ژنوتیپ * نوع بافت * منطقه | ۳۹ | ٥٥/۳٥٦$^{**}$ | ٦٤٥/۲۸۹$^{**}$ |

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد




**شکل ۲:** ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس میزان فنل کل

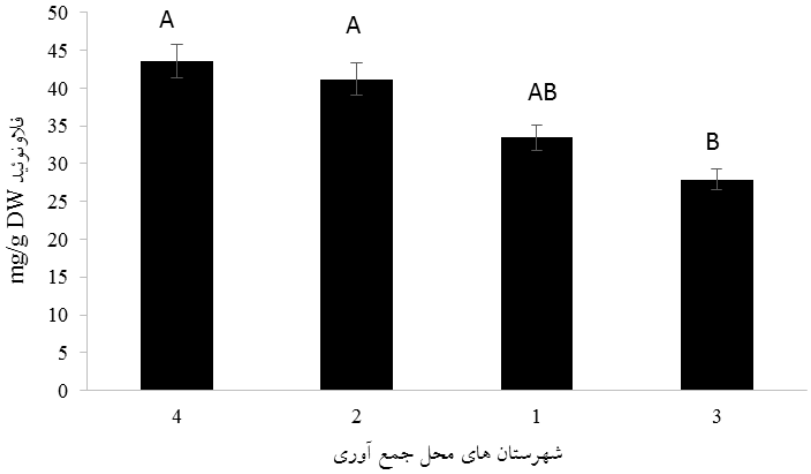
فلاونوئید: نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد میزان فلاونوئید عصاره برگی ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ٣٣/٩ تا ١٠٢/٩ و میانگین ٦٧/٩٥ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار (جدول ٢) و آزمون تعقیبی LSD نیز نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید (١٠٢/٩) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر رودان (دو) و و کمترین میزان (٣٣/٩) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر هشتبندی (دو) به‌دست آمد. همچنین میزان فلاونوئید عصاره میوه ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ٠/١٥ تا ٦/٧٧ و میانگین ١/٨٣ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار به طوریکه بیشترین میزان فلاونوئید (٦/٧٧) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر هشتبند (پنج) و سپس کنار تالار (٣/٥٢) و کمترین میزان (٠/١٥) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر هشتبندی (چهار) به دست آمد (شکل ٣). در کل عصاره برگی (٦٧/٩٥٤ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) نسبت به عصاره میوه (١/٨ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) فلاونوئید بیشتری داشت. در مجموع عصاره میوه و برگی یشترین میزان فلاونوئید (٥٢/١١٩ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) متعلق به ژنوتیپ کنار رودان (دو) بود.. ضمنا موقعیت جغرافیایی توانسته تاثیر معنی داری بر میزان فلاونوئید داشته باشد (جدول ٢) به طوریکه ژنوتیپ‌های کنار شهرستان رودان و شهرستان جیرفت فلاونوئید بیشتری داشتند (شکل ٤).




**شکل ٣:** ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس میزان فلاونوئید کل

**ارزیابی میزان توانایی به دام اندازه رادیکال‌های آزاد:** نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره هیدروالکلی ژنوتیپ‌های مختلف کنار، بافت برگ و میوه، غلظت‌های مختلف عصاره، و همچنین اثرهای متقابل دو گانه و سه گانه به جز اثر متقابل غلظت عصاره و ژنوتیپ معنی‌دار بود ($P<0.01$)(جدول ٢). آزمون تعقیبی LSD نشان داد که عصاره برگی ژنوتیپ کنار شهر تالار و عصاره هیدروالکلی میوه ژنوتیپ کنار شهر رودان (دو) به‌ترتیب با میانگین ٨١/٥٢ و ٨٦/٢٩ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشترین نقش در مهار رادیکال‌های آزاد داشته‌اند. اما بر اساس خاصیت آنتی

اکسیدانی عصاره برگی و میوه‌ای به صورت مجموع ژنوتیپ کنار رودان (دو) و سپس ژنوتیپ شهر تالار به ترتیب با میزان ۸۳/۰۸٦ و ۸۲/۰٦٤ میکروگرم در میلی‌لیتر بهترین ژنوتیپ بودند (شکل ٥). در بین غلظت‌های مختلف عصاره، مؤثرترین غلظت، غلظت ٤٠ میکروگرم در میکرو لیتر و کم اثرترین غلظت ١٦ میکروگرم در میکرو لیتر بود و با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز بیشتر شده است. بر اساس نوع بافت درخت کنار در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد نیز مشخص شد که عصاره برگی (۷۹/۲۰٦) نسبت به عصاره میوه (۷٥/۰٤٦) فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت.




**شکل ٤:** مقایسه میانگین کنارهای شهرستان‌های مختلف بر اساس میزان فلاونوئید کل

**جدول۳:** ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌ها و غلظت‌های مختلف بافت برگی و میوه کنار براساس DPPH

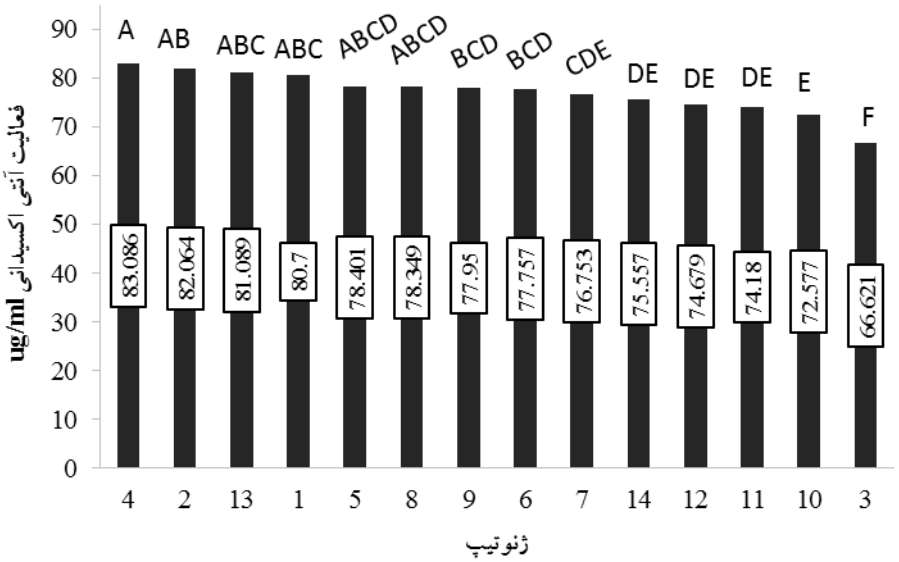
| منابع تغییر | df | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| ژنوتیپ | ١٣ | ١٤٤٥/٣٥ | ١١١/١٨١ | ٦/٣١** |
| غلظت | ١ | ٣٦٣/٥٣ | ٣٦٣/٥٣٢ | ٢٠/٦٣** |
| بافت | ٢ | ١٨٨٠/٥٣ | ٩٤٠/٢٦٧ | ٥٣/٣٧** |
| ژنوتیپ * بافت | ١٣ | ١٤٩٢/١١ | ١١٤/٧٧٧ | ٦/٥١** |
| ژنوتیپ * غلظت | ٢٦ | ٤٥٥/٤٨ | ١٧/٥١٩ | ٠/٩٩ns |
| بافت * غلظت | ٢ | ٦٥٦/٧١ | ٣٢٨/٣٥٧ | ١٨/٦٤** |
| ژنوتیپ * بافت * غلظت | ٢٦ | ١٢٣٦/٨٢ | ٤٧/٥٧ | ٢/٧** |
| خطا | ٢٦ | ٤٥٨/١١ | ١٧/٦١٩ | |
| کل | ١٠٩ | ٦٧٥١/٨٣ | | |

**تجزیه خوشه‌ای**

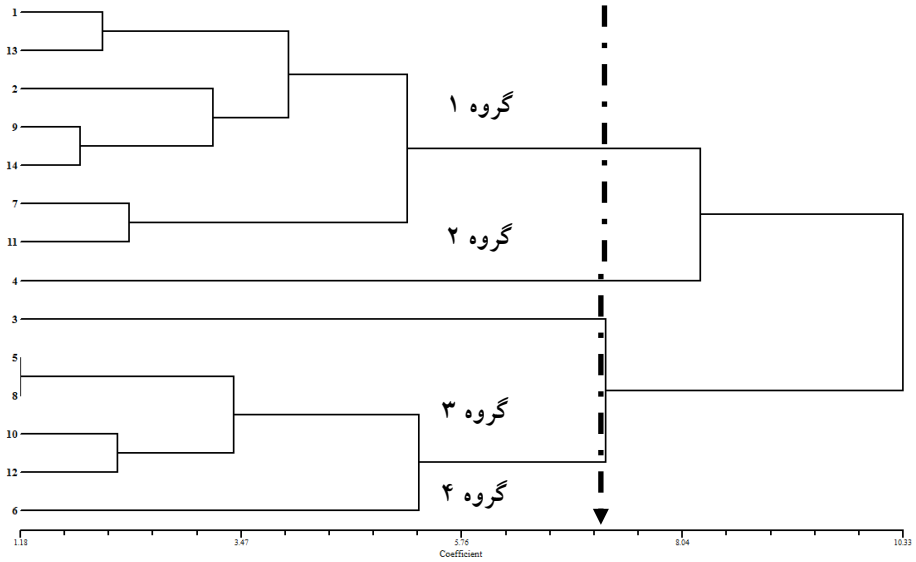
تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف کنار را در چهار گروه مختلف قرار داد به‌طوری‌که بر اساس موقعیت جغرافیایی نیز از همدیگر تفکیک نشدند (شکل ٦).

از عوامل مؤثر در توجیه تنوع بیشتر درون جمعیت مواردی از جمله خودگشن بودن گیاه، ازدیاد با بذر، تعداد مکان‌های اللی مورد بررسی، موقعیت اللی و ژنوتیپی جمعیت، نوع تلاقی و اندازه جمعیت را می‌توان ذکر نمود (Pejmanmehr et al., 2009). بررسی تنوع ژنتیکی در

جمعیت‌ها به دلیل دخالت چندین عامل از جمله پیوستگی، تلاقی خویشاوندی، مهاجرت و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها دارای پیچیدگی‌هایی است (Mohammadi and Prassana, 2003).




**شکل ٥:** ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس DPPH




**شکل ٦:** تجزیه خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA

قرار گرفتن نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق جغرافیایی مختلف در خوشه‌های یکسان می‌تواند نشانه‌ای از تشابه ژنتیکی و یا تبادل فیزیکی بذر بین مناطق مختلف باشد که تفسیر آن بر اساس تبادلات فیزیکی نسبت به تشابهات ژنتیک توجیه‌پذیری بیشتری دارد (Bahari et al., 2015). با توجه به اینکه فاصله ژنتیکی بیشتر در هنگام تلاقی جمعیت‌ها یا لاینها، سبب افزایش مکان‌های ژنی هتروزیگوت و بالا بردن احتمال اثر هتروزیس می‌شود (Drinic et al., Olfati et al., 2012;2002) و از طرفی فاصله

ژنتیکی ممکن است با صفات مطلوب مرتبط باشد در نتیجه می‌توان پس از بررسی‌های بیشتر، از آن‌ها در برنامه‌های به نژادی استفاده کرد (Bahari et al., 2015). لذا بر این اساس چون بیشترین فاصله ژنتیکی مربوط به جمعیت‌های گیاه کنار در منطقه رودان و کناردر منطقه هشتبندی بوده و بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ژنوتیپ کنار رودان بود در نتیجه می‌توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی کنار بهتر است ژنوتیپ کنار رودان (دو) به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب کرد.

**بحث**

نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که میزان فنل کل در عصاره هیدرو الکلی برگی ژنوتیپ‌های مختلف کنار در محدوده ۱/۱۵ تا ۱۳/٦۵ و میانگین ٤/٦۱ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده و میزان فلاونوئید عصاره هیدروالکلی برگی در محدوده ۳۳/۹ تا ۱۰۲/۹ و میانگین ٦۷/۹۵ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده است. همچنین میزان فنل عصاره میوه ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ۱۵/٤۳ تا ۳۱/۹۷ و میانگین ۲٦/۲۳ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده و میزان فلاونوئید عصاره میوه ژنوتیپ‌های مختلف کنار در محدوده ۰/۱۵ تا ٦/۷۷ و میانگین ۱/۸۳ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده است. در کل عصاره میوه نسبت به عصاره برگی فنل بیشتری داشت و در مجموع عصاره میوه و برگی، ژنوتیپ کنار رودان (دو) بیشترین میزان فنل (۲۰/٤۱۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) داشت. ضمنا موقعیت جغرافیایی تاثیری بر میزان فنل کل نداشته است. در مجموع عصاره میوه و برگ بیشترین میزان فلاونوئید (۵۲/۱۱۹ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) متعلق به ژنوتیپ کنار رودان (دو) بود. ضمنا موقعیت جغرافیایی توانسته تاثیر معنی داری بر میزان فلاونوئیدکل داشته باشد به طوریکه ژنوتیپ‌های کنار شهرستان رودان و شهرستان جیرفت فلاونوئید بیشتری داشتند. اما بر اساس خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره برگی و میوه ای به صورت مجموع ژنوتیپ کنار منطقه رودان (دو) و سپس ژنوتیپ شهر منطقه تالار به ترتیب با میزان ۸۳/۰۸٦ و ۸۲/۰٦٤ میکروگرم در میلی‌لیتر بهترین ژنوتیپ بودند و بر اساس نوع بافت درخت کنار در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد نیز مشخص شد که عصاره هیدروالکلی برگی نسبت به عصاره هیدروالکلی میوه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت.

با توجه به اینکه تاکنون محتوای فنل کل و فلاونوئید درخت کنار مورد ارزیابی قرار نگرفته و تحقیق حاضر در این زمینه اولین بار بوده و از طرفی یکی دیگر از اهداف ارزیابی محتوای فنلی، فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اجزا ی کنار، مقایسه خواص این گیاه یا نمونه‌های مشابه گزارش شده در سایر گیاهان می باشد. قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2009) میزان فلاونوئید پوست رقم ساتسوما را ۰/۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره؛ جانگ و همکاران (Jang et al., 2010) میزان فنل کل را در پوملو ۰/۲۱٤ میلی‌گرم در گرم عصاره، گرنستین و همکاران (Gorinstein et al., 2001) محتوای فنلی ارقام لمون، پرتقال و گریپ فروت را به‌ترتیب ۱/۹، ۱/۸ و ۱/٦ میلی‌گرم در گرم عصاره؛ فتاحی مقدم و همکاران (Fatahi moghadam et al., 2011) نیز در تحقیقی جهت ارزیابی برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پوست میوه شش رقم مرکبات، میزان فنل کل ارقام (تامسون (۰/۳)، سیاورز (۰/٤۹)، مورو (۰/۳۷)، سانگینلا (۰/۱۹)، تاراکو (۰/۱۳) و پیچ (۰/٤۳) میلی‌گرم در گرم عصاره) و در گزارش همتی و همکاران (Hemmati et al., 2015) نیز بیشترین میزان

فلاونوئید (٠/٢٤ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) در پایه یوزو و کمترین میزان (٠/١١٥) در پایه شل محله به دست آمد و همچنین در تمام ارقام موردمطالعه میزان ترکیبات فنلی پوست را بیشتر از گوشت میوه گزارش دادند. در ضمن در تحقیق حاضر میزان فنل برگ کنار از ١/١٥ تا ١٣/٦٥ میلی‌گرم در گرم عصاره، فنل میوه از ١٥/٤٣ تا ٣١/٩٧ میلی‌گرم در گرم عصاره و فلاونوئید برگ از ٣٣/٩ تا ١٠٢/٩ و فلاونوئید میوه از ٠/١٥ تا ٦/٧٧ میلی‌گرم در گرم عصاره بود که خیلی بیشتر از فنل و فلاونوئید پوست و گوشت مرکبات بود.

در تحقیق حاضر میزان فلاونوئیدکل برگ گیاه کناردر عصاره زیاد بوده و حتی بیشتر از عصاره میوه بوده (Rehman, 2003). لذا با توجه به عملکرد آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها می‌توان به‌جای هدر رفتن و دور ریخته شدن برگ درختان کنار از مواد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها علاوه بر پیشگیری و درمان، جهت استفاده‌های جانبی نیز به کار برد.

در گزارش فتحی مقدم وهمکاران ( Fatahi moghadam et al., 2011) میزان فنل پوست ارقام مرکبات ایران کمتر از مقادیر گزارش‌شده در لمون‌ها و گریپ فروت بوده و در تحقیق فاضلی نسب و میرزایی (Fazeli-Nasab and Mirzaei, 2017) نیز میانگین فنل ژنوتیپ‌های ایران (٠/٢٤ (میلی‌گرم در گرم)) در مقابل ژنوتیپ‌های مرکبات خارجی (٠/٢٩) بود اما میزان فلاونوئید ژنوتیپ‌های مرکبات ایران (٠/٢٢) در مقابل ژنوتیپ‌های خارجی (٠/٢٠) بوده است اما در تحقیق حاضر میزان فنل کل (میانگین ٢٦/٢٣ میلی‌گرم در گرم عصاره)، فلاونوئید (١/٨٣ میلی‌گرم در گرم عصاره) و خاصیت آنتی اکسیدانی میوه کنار خیلی بیشتر از مرکبات بوده لذا توصیه میشود میوه کنار در رژیم غذایی بیشر مورد استفاده قرار گیرد.

بررسی‌های انجام‌شده روی مرکبات نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید کل در میوه ارقام مرکبات اختلاف معنی‌داری داشته و این ترکیبات تحت تأثیر شرایط آب و هوایی نیز قرار گرفته بود( Dixon and Paiva, 1995) .لذا بر اساس یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که میزان تأثیرپذیری خصوصیات کیفی از رقم به رقمی دیگر و شرایط فیزیولوژیکی آن‌ها وابسته است (Hemmati et al., 2015). در تحقیق فاضلی نسب ومیرزایی (Fazeli-Nasab and Mirzaei, 2017) مشخص شد که محیط تأثیری بر میزان فلاونوئید و فنل مرکبات نداشته است. در تحقیق حاضر نیز محیط تاثیری بر میزان فنل نداشته اما بر میزان فلاونوئید موثر بوده است.

در تحقیقات فاضلی و همکاران ( Fazli et al., 2013) محتوای فلاونوئید برای پوست راش و بلوط به‌ترتیب ٩/٦ و ١١/١ میلی‌گرم در گرم عصاره، ولی‌زاده و همکاران (Valizadeh et al., 2015) میانگین محتوای فنل کل در عصاره ریشه گیاه پنیر باد ٢٠/٤١ و فلاونوئید از ٥/٧١ تا ٦/٥ میلی‌گرم در گرم وزن خشک، جمشیدی وهمکاران ( Jamshidi et al., 2010) میانگین محتوای فنل کل در هشت گیاه از خانواده *Apeacea* و *Lamiacea*، ٤٧/٥٨ و فلاونوئید ٨٤/٥٣ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گزارش کردند و در تحقیق حاضر نیز بیشترین میزان فنل (٣٢/٦٦ میلی‌گرم در گرم) و فلاونوئید (١٠٢/٩ میلی‌گرم در گرم) به‌دست آمد که نسبت به سایر گیاهان گزارش شده در حد مطلوب بوده و می‌تواند در رژیم غذایی گنجانده شود و همچنین بر اساس وجود درختان زیاد کنار می‌توان به‌جای دور ریخت و هزینه بالای دفع برگ این گیاهان که حاوی مقادیر زیادی مواد فنلی و فلاونوئیدی است آن‌ها را جمع‌آوری و اقدام به استخراج این مواد مؤثره کرده و استفاده‌های لازمه را از آن‌ها نمود.

طبق گزارش جمشیدی وهمکاران ،شارما وهمکاران(Sharma et al., Jamshidi et al., 2010 ; 2012) گیاهان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی بالا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند به‌طوری‌که عصاره برگ گیاه علف مار با داشتن بیشترین محتوی فلاونوئیدی و فنلی در بین عصاره‌های میوه و ساقه، بیشترین میزان درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشته (Rashedi et al., 2015). در تحقیق حاضر نیز میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره برگی و میوه درختان کنار بالا بوده به همین منوال نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی (میوه از ٤٥/٤٩ تا ٨٨/٦٦ و برگ از ٦٩/٣١ تا ٨٣/٦٠ میکر.گرم در میلی‌لیتر) نیز داشته‌اند.

## نتیجه‌گیری کلی

در کل نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی میوه بیشترین میزان فنل و عصاره برگی بیشترین میزان فلاونوئید را داشته‌اند. ژنوتیپ کنار رودان (دو) و سپس ژنوتیپ کنار تالار بهترین ژنوتیپ‌ها از لحاظ خواص آنتی اکسیدانی به‌ترتیب با میزان ٨٣/٠٨٦ و ٨٢/٠٦٤ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. ضمناً به دلیل خطرات سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و سنتز شده پیشنهاد می‌گردد از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کنار مخصوصاً کنارهای منطقه رودان (دو) و تالار به‌عنوان جایگزینی مناسب به جای مواد نگه‌دارنده و همچنین می‌توان از آن‌ها به‌عنوان منابع غنی و در دسترس، در صنایع غذایی و داروسازی استفاده کرد.

## References


1. Asgarpanah, J. and Haghighat, E. 2012. A review of phytochemistry and meidicnal properties of jujube (*ZiziphusVulgaris* L.). Journal of Pharmaceutical and Health Sciences, 1: 89-97.
2. Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S.J., Das, D.K., Ray, S.D., Kuszynski, C.A., Joshi, S.S. and Pruess, H.G. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention. Toxicology, 148: 187-197.
3. Bahari, Z., Shojaeiyan, A., Rashidi Monfared, S., Mirshekari, A., Nasiri, K. and Amiriyan, M. 2015. Investigation of genetic diversity among some iranian dill (*Anethum graveolens* L.) Landraces, Using Issr Markers. Journal of Plant Genetic Research, 2: 11-22.
4. Calabro, M., Galtieri, V., Cutroneo, P., Tommasini, S., Ficarra, P. and Ficarra, R. 2004. Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a Lc method for determination of flavonoids in *Citrus bergamia* Juice. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 35: 349-363.
5. Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M. and Chern, J.-C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10.
6. Chen, Y., Zhang, M., Chen, T., Zhang, Y. and An, L. 2006. The Relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of sabina. South African Journal of Botany, 72, 272-279.
7. Dai, J. and Mumper, R. J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15: 7313-7352.
8. Dixon, R.A. and Paiva, N.L. 1995. Stress-Induced phenylpropanoid metabolism. The plant cell, 7: 1085.
9. Drinic, M.S., Trifunovic, S., Drinic, G. and Konstantinov, K. 2002. Genetic divergence and its correlation toheterosis in maize as revealed by ssr-based markers. Maydica, 47: 1-8.
10. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. and Jafari, M. 2008.Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacology online, 1: 7-14.

11. Fatahi moghadam, J., Hamid oghli, Y., Fotohi ghazvini, R., Ghasem Nezhad, M. and Bakhshi, D. 2011. Assessment of physicochemical and anti-oxidant of crest in some goinary cultivars of *Citrus*. Journal of Horticultural Science, 25, 211-217 (In Persian).
12. Fazeli-Nasab, B. and Mirzaei, N. 2017. Phenotipic diversity and evalutation of total phenolic and flavonoid contents of leaf extracts in 47 commercial and native plant cucurbitaceae, *Zucchini*, *citrus*. Journal of Ilam university medical science, (in press).
13. Fazli, R., Nazarnezhad, N., Ebrahimzadeh, M. and Zabihzadeh, M. 2013. Evaluation of the antioxidant capacities and total phenolic contents of beech and oak barks. Armaghane danesh, 18, 137-145.
14. Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M. A. 2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 *Citrus* species peels and tissues. Pakistan Journal of Pharmaceutical Science, 22: 277-281.
15. Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y.-S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ĉíž, M., Caspi, A., Libman, I. and Trakhtenberg, S. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different *Citrus fruits*. Food chemistry, 74: 309-315.
16. Guo, C. and Yang, J. 2001. Progress in the study of antioxidant capacity of fruits and vegetables. China public health, 17: 87-88.
17. Hemmati, N., Ghasem Nezhad, A., Fatahi Moghadam, J. and Ebrahimi, P. 2015. The basic role in antioxidant activity *Citrus* fruit: A case study compared the antioxidant activity of two cultivars of fruit guice with fruit stool. Journal of Horticultural Science, 29: 277-286.
18. Jafari, R., Manochehri Kalantari, K. and Ahmadi Mousavi, A. 2007. Effect of paclobutrazol on accumulation of antioxidants in tomato seedlings under cold stress. Iranian Journal of Biology, 20, 206-216 (In Persian).
19. Jamshidi, M., Ahmadi-Ashteiani, H.R., Shamsali, R., Fathi Azad, F., Mazandarani, M. and Khaki, A. 2010. Analysis and comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some plant species native to the caspian. Journal of Medicinal Plants, 9: 177-183 (In Persian).
20. Jang, H. D., Chang, T. C. and Hsu, C. L. 2010. Antioxidant potentials of buntan pumelo (*Citrus Grandis Osbeck*) and Its ethanolic and acetified fermentation products. Food chemistry, 118: 554-558.
21. Judd, W.S. and Olmstead, R.G. 2004. A survey of tricolpate (Eudicot) phylogenetic relationships. American Journal of Botany, 91: 1627-1644.
22. Khalili, M. and Ebrahimzadeh, M. A. 2015. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. Journal Mazandaran University of Medical Sciences, 24, 188-208.
23. Kwok, C.-Y., Wong, C.N.-Y., Yau, M. Y.-C., Yu, P. H.-F., Au, A. L. S., Poon, C. C.-W., Seto, S.-W., Lam, T.-Y., Kwan, Y.-W. and Chan, S.-W. 2010. Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (Hawthorn) suppresses high-cholesterol diet - induced hypercholesterolemia in rats. Journal of functional foods, 2: 179-186.
24. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food chemistry, 91: 571-577.
25. Mohammadi, S. A. and Prassana, B. M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical Tools and considerations. Crop science, 43: 1235-1248.
26. Mollá, S., Villar-Salvador, P., García-Fayos, P. and Rubira, J.L.P. 2006. Physiological and transplanting performance of *Quercus ilex* L.(Holm Oak) seedlings grown in nurseries with different winter conditions. Forest ecology and management, 237: 218-226.
27. Mozafarian, V. 2010. Classification of plant morphology and taxonomy. Amir Kabir Publications, 512.

28. Mozdastan, S., Ebrahimzadeh, M. A. and Eslami, S. 2015a. Effect of increasing the polarity of solvent on total phenol and flavonoid contents and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis* L.). Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 25: 68-81.
29. Mozdastan, S., Ebrahimzadeh, M. A. and Khalili, M. 2015b. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (*Myrtus Communis* L.). Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 25: 10-24.
30. Negi, P. S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. International Journal of Food Microbiology, 156, 7-17.
31. Nei, M. and Li, W.-H. 1979. Mathematical Model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences, 76, 5269-5273.
32. Olfati, J.A., Samizade, H., Peyvast, G.A., Rabiei, B. and Khodaparast, S.A. 2012. Rleationship between Genetic distance and heterosis in *Cucumber*. International Journal of plant breeding, 6: 21-26.
33. Pejmanmehr, M., Hasani, M.A., Fakhr-Tabatabai, S.M. and Hadian, J. 2009. Genetic diversity and segregating of populations Zyrh english (*Bunium persicum* Boiss.) using molecular markers rapd. Journal of Environmental Sciences, 7: 63-76.
34. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity,phenol and flavonoid contents of some selected iranian medicinal plants. African journal of biotechnology, 5: 1142-1145.
35. Rashedi, H., Amiri, H. and Gharezi, A. 2015. Assessment of phytochemical and antioxidant properties of the *Capparis spinosa* L. Khuzestan province. Journal of Qazvin University of Medical Science, 18: 11-17.
36. Rehman, Z.-U. 2003. Evaluation of Antioxidant Activity of methanolic extract from peanut hulls in fried potato chips. Plant Foods for Human Nutrition, 58: 75-83.
37. Rolf, F.J. 2002. Ntsys-Pc: Reference Manual. Exeter publishing Ltd. New York.
38. Sharma, R., Samant, S., Sharma, P. and Devi, S. 2012. Evaluation of antioxidant activities of *withania somnifera* leaves growing in natural habitats of North-West Himalaya, India. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 657-661.
39. Shrivastava, A. and Roy, S. 2013. Cucurbitaceae: A ethnomedicinally important vegetable family. Journal of Medicinal Plants Studies, 1, 16-20.
40. Valizadeh, J., Bagheri, A., Valizadeh, J. and Mirjalili, M.H. 2015. Phytochemical investigation of *Withania coagulans* (Stocks) dunal in natural habits of Sistan and Balochestan province of Iran. Iranian Journal of Medical and Aromatics Plants, 31: 406-417.
41. Wach, A., Pyrzyńska, K. and Biesaga, M. 2007. Quercetin content in some food and herbal samples. Food chemistry, 100: 699-704.
42. Zakizadeh, M., Nabavi, S., Nabavi, S. and Ebrahimzadeh, M. 2011. In Vitro antioxidant activity of fower, seed and leaves of *Alcea hyrcana* grossh. European review for medical and pharmacological sciences, 15: 406-412.