# بررسی تغییرات محتوای فنل، فلاونویید کل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی *Gundelia tournefortii* L. در مراحل مختلف رشد در چهار رویشگاه شمال شرق استان خوزستان

**لیلا خلاصی اهوازی[1*]، غلامعلی حشمتی[2]، پرژک ذوفن[3] و موسی اکبرلو[4]**

[1]دانشجوی دکتری علوم مرتع، گروه مرتعداری، دانشکده مرتع و آبخیزداری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[2]استاد علوم مرتع گروه مرتعداری، دانشکده مرتع و آبخیزداری، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[3]استادیار علوم زیست گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[4]دانشیار علوم مرتع گروه مرتعداری، دانشکده مرتع و آبخیزداری، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

**تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۱/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۲**

**چکیده**

کنگر علوفه‌ای (*Gundelia tournefortii* L.) از گیاهان بومی ایران با ارزش دارویی- علوفه‌ای تیره Asteraceae است. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات محتوای فنل، فلاونویید کل و ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه در مراحل مختلف رشد در چهار رویشگاه شمال شرق استان خوزستان با اختلاف ارتفاع ۹۰۰ متر انجام گرفت. سرشاخه‌های هوایی گیاه از چهار رویشگاه طبیعی شمال شرق خوزستان (دره‌خرسون، شاهزاده احمد ۱، شاهزاده احمد ۲ و دهدز)، در سه مرحله رویشی، گل‌دهی و بذردهی جمع‌آوری گردید.محتوای فنل وفلاونوئید کل عصاره‌های متانولی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش به‌دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری گردید. با توجه به نتایج تحلیل واریانس چندمتغیره (MANOVA)، عوامل رویشگاه، اندام و فنولوژی هر کدام به‌صورت جداگانه و اثر متقابل رویشگاه-اندام گیاه، رویشگاه- مراحل‌فنولوژی، رویشگاه- اندام گیاه- مراحل‌فنولوژی با اطمینان ۹۹ درصد بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل و فلاونوئید کل این گیاه اثر معنی‌دار داشت. میانگین تیمارها در سه تکرار با استفاده ازآزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند (P<۰/۰۱). نتایج نشان داد بیشترین میزان فنل کل (٥٦/۹ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک)، فلاونوئید کل (۷/۰۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۱۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در رویشگاه دره خرسون گزارش گردید. همچنین عصاره گیاه در مرحله گلدهی و در همه رویشگاه‌ها از بیشترین محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوییدی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود.

***واژه‌های کلیدی***: آنتی‌اکسیدان، خوزستان، رویشگاه، فنولوژی، فنل و فلاونویید، کنگر، *Gundelia tournefortii* L.

*نویسنده مسئول: khalasi@alumni.ac.ir

**مقدمه**

گیاه کنگر علوفه‌ای با نام علمی *Gundelia tournefortii* L. متعلق به تیره کاسنی است. کنگر علوفه‌ای گیاهی پایا، پوشیده از کرک‌های تارپشمی، با تیغ‌های فراوان است. ساقهٔ آن ضخیم، ساده، یا منشعب و با شاخه‌های کوتاه و بصورت دیهیم می‌باشد (Ghahraman, 1984). کنگر علوفه‌ای در مناطق نیمه خشک کشورهای لبنان، سوریه، فلسطین، اردن، عراق، ایران، آذربایجان، ارمنستان و آناتولی و در دشت و کوه‌های منطقه مدیترانه یافت می‌شود (Oweis et al., 2004). از گیاهان بومی مناطق آسیایی از جمله ایران است که گل، برگ، دانه و ریشهٔ آن مصرف غذایی و دارویی دارد (Ertug, 2000). در کشورهای خاورمیانه و ایران ساقه‌های زیرزمینی جوان این گیاه در فصل بهار و در بازارهای محلی به فروش می‌رسد (Kunkel, 1984) .گزارش شده است که در استان لرستان از این گونه به‌عنوان کود و همچنین تأمین علوفه دام‌ها در فصل زمستان استفاده می‌شود (Bailey and Danin, 1981).

بررسی ترکیبات متابولیت‌های ثانویه گونهٔ کنگر علوفه‌ای نشان داد که این گونه دارای اثرات دارویی از جمله ضد باکتری، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، کاهنده پلاکت و چربی خون است (Asadi Samani et al., 2013). در پژوهشی نشان داده شد که اثرات درمانی عصارهٔ متانولی گیاه دارویی کنگر علوفه‌ای همبستگی بالایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن دارد و عصاره متانولی گونه گیاهی کنگر علوفه‌ای دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی در مقایسه با عصاره توکوفرول است (Coruh et al., 2007). محققان در مطالعه‌ای به بررسی عصاره ریشه گونه کنگر علوفه‌ای پرداختند و نتایج نشان داد که ریشه گیاه شامل ترکیبات فنل، گلیکوزید، تانن، فلاونوئید، کربوهیدرات، پروتئین، آلکالوئید و نیترات و ساپونین است (Azeez and Kheder, 2012). در مطالعه‌ای با بررسی آزمایشگاهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گونه کنگر علوفه‌ای و با اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنل‌ها و فلاونوئیدها نشان داده شد که عصاره متانولی این گونه گیاهی می‌تواند به‌عنوان یک منبع جایگزین در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی در نظر گرفته شود (Özkan et al., 2011). در پژوهشی محققان به این نتیجه رسیدند که علت افزایش تعداد، تحرک اسپرم و سطح تستوسترون تحت تأثیر عصاره کنگر علوفه‌ای، افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله کوئرستین است (Tabibian et al., 2013). کوئرستین، یک فلاونوئید طبیعی در بسیاری از گیاهان است ولی از جمله فلاونوئیدهای بدون گلیکوزید است. فلاونوئید بدون گلیکوزید آنتی‌اکسیدان قوی‌تری نسبت به فلاونوئید گلیکوزیددار است. بسیاری از مطالعات حاکی از اثر آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی ماده کوئرستین است در نتیجه عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای دارای ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Mohamadi Sani, 2015 and Ebrahimi). در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطهٔ مستقیم دارد. عصاره نعناع (*Mentha spicata* L.) ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بالایی دارد و فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را نشان می‌دهد (Swetie et al., 2007). بررسی‌ها نشان داده است که عصاره گیاه رزماری دارای فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی است که با محتوی فنلی گیاه رابطه مستقیم دارد (Elmasta et al., 2006). در بیشتر مطالعات برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، از روش به‌دام اندازی رادیکال آزاد DPPH (۲و۲ دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل[1]) و شاخص $IC_{50}$[2] استفاده می‌شود (Sarker et al., 2006).

1. 2,2-Diphenyl- Picryl- Hydrazyl

۲. غلظتی از عصاره است که ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند.

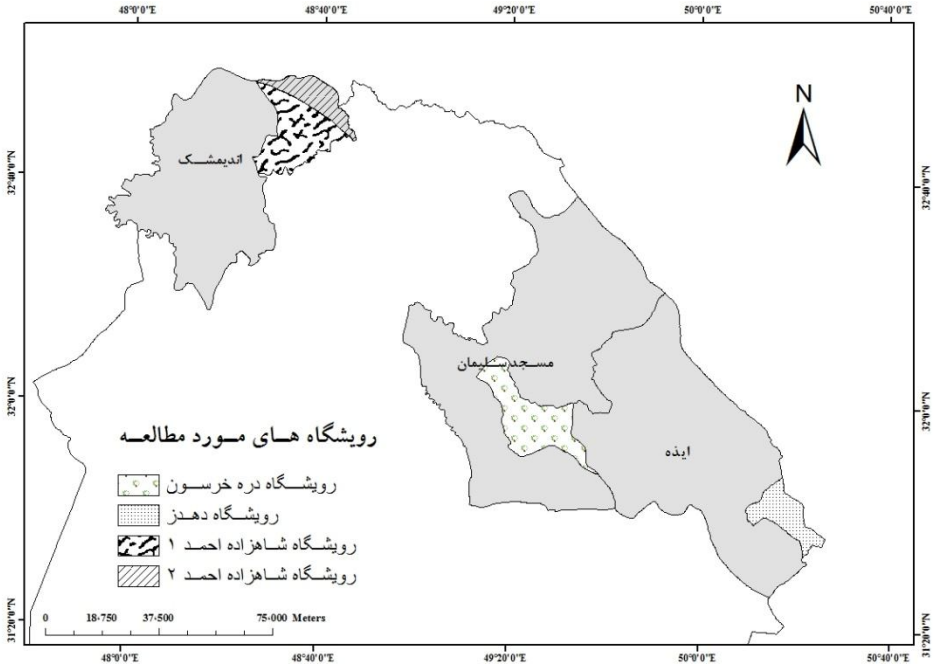
با توجه به اینکه عوامل محیطی سبب تغییراتی در کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، ترپنویید و... می‌گردد، باید از نظر دور نداشت که کشت محصول یک گیاه داروئی از نظر اقتصادی در زمانی مقرون به صرفه می‌باشد که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد (Omid beige, 2000). بنابراین با انتخاب عوامل محیطی و ارقام گیاهی مناسب می‌توان به حداکثر مقدار محصول دست یافت.

محققان در مطالعه‌ای با بررسی ترکیبات ثانویه بذر باریجه به این نتیجه رسیدند که نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف با ارتفاع یکسان، ترکیبات ساختاری متفاوتی دارند. نمونه‌های برداشت‌شده از مناطق گرم ترکیبات بیشتری نسبت به مناطق سردتر داشتند (Talebi Kouyakhi et al., 2008). زینلی و همکاران (Zeinali et al., 2014) نیز در مطالعه‌ای به بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های مختلف گیاه دارویی باریجه در دو رویشگاه مختلف استان خراسان رضوی پرداخت، نتایج نشان داد که بیشترین فنل و فلاونوئید کل متعلق به عصاره متانولی ریشه گیاه در رویشگاه پناهگاه حیات‌وحش حیدری نیشابور بوده و بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی مربوطه به عصاره متانولی گل‌های گیاه در منطقه قوجان بود. در پژوهشی به‌منظور بررسی اثر بافت خاک بر میزان برخی از ترکیبات مرتبط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کنگر فرنگی، کشت در خاک‌هایی با بافت‌های متفاوت صورت گرفت. داده‌های بدست آمده نشان داد که خصوصیات خاک به‌ویژه بافت آن با توجه به تأثیر مستقیمی که در جذب آب و مواد غذایی گیاه دارد، بر خصوصیات کیفی برگ کنگر فرنگی مؤثر است (Alizadeh et al., 2014).

با توجه به پراکنش و میزان قابل توجه گونه‌های علوفه‌ای دارویی در کشور، بررسی ارزش علوفه‌ای و دارویی این گونه‌ها در رویشگاه‌های مختلف به تصمیم‌گیران و بهره‌برداران از مرتع کمک می‌کند تا در جهت بهره‌برداری چندمنظوره گونه‌های مهم علوفه‌ای و دارویی گام بردارند. جهت تعیین ارتباط بین تغییرات متابولیت‌های ثانویه عصاره گونهٔ کنگر علوفه‌ای با عامل رویشگاه، هدف از اجرای این پژوهش،مقایسه محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو اندام برگ و ساقه، در مراحل مختلف فنولوژی و در چهار رویشگاه استان خوزستان است.

## مواد و روش‌ها

**معرفی منطقه مورد مطالعه:** در استان خوزستان، نمونه‌برداری از خاک و گونه گیاهی در چهار موقعیت جغرافیایی (شاهزاده احمد در دو طبقه ارتفاعی (دهستان مازو)، دهدز در شهرستان ایذه، دره خرسون در تل بزان شهرستان مسجدسلیمان) و در سه مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی انجام شد.مناطق مورد مطالعه در شمال و شرق استان خوزستان در محدوده طول شرقی"۲۳/۰۳٤ '۳۵ °٤۸، عرض شمالی"٤۹/۳۵ '۵۳ °۳۲ و طول شرقی"۵۱/۳۲۸ '۱۲ °۵۰، عرض شمالی"٤۲/۷۱۸ '۳۹ °۳۱قرار دارد.موقعیت رویشگاه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ آورده شده است.




**شکل ۱:** موقعیت چهار رویشگاه مورد مطالعه در استان و کشور

ارتفاع از سطح دریا و اطلاعات اقلیمی هر یک از رویشگاه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. شمال شرق استان خوزستان از لحاظ زمین‌شناسی ناحیه‌ای براساس تقسیم‌بندی استوکلین (Stocklin, 1968) در ناحیه زاگرس چین‌خورده یا زاگرس خارجی است.پوشش‌گیاهی در رویشگاه‌های چهارگانه مورد مطالعه شامل تیره‌های Asteraceae با ۲۲ گونه Lamiaceae، Apiaceae و Fabaceae است (شکل ۲).

**جدول ۱:** اطلاعات اقلیمی رویشگاه‌های نمونه‌برداری شده در استان خوزستان

| شهرستان | مناطق مورد مطالعه | نوع اقلیم براساس‌طبقه‌بندی سیلیانف | ارتفاع از سطح دریا (متر) | متوسط بارندگی سالانه (میلی‌متر) | میانگین درجه حرارت سالیانه (درجه‌سانتی‌گراد) | درصد رطوبت‌نسبی |
|---|---|---|---|---|---|---|
| مسجدسلیمان | دره خرسون | نیمه خشک شدید | ۷۰۰ | ۳۰۰ | ۲٦ | ٥ تا ٤٠ |
| اندیمشک | شاهزاده احمد۱ | نیمه خشک متوسط | ۱۰۰۰ | ۳٥۰ | ۲۳ | ۱٥ تا ٥۰ |
| | شاهزاده احمد۲ | نیمه مرطوب | ۱۳۰۰ | ٤٥۰ | ۲۳ | ۲۰ تا ٦۰ |
| ایذه | دهدز | نیمه خشک متوسط | ۱٦۰۰ | ۷۲٥ | ۲۲ | ۲٥ تا ٦٥ |

**شکل ۲**: نمونه‌ای از پوشش گیاهی منطقه در رویشگاه مورد مطالعه در استان خوزستان

**روش نمونه‌برداری**: در طی عملیات صحرایی و انتخاب چهار رویشگاه در استان خوزستان به‌وسیلهٔ کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، اندام‌های برگ و ساقه در مراحل فنولوژی مختلف (رویشی، گل‌دهی و بذردهی) در قالب نمونه‌برداری تصادفی جمع‌آوری شد. زمان جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی، اواخر اسفند ۱۳۹۲ تا مرداد ماه ۱۳۹۳ بود. سپس نمونه‌ها پس از پاکسازی، خشک کرده و آسیاب شد و برای انجام آنالیزهای فیتوشیمیایی به آزمایشگاه دانشکده علوم (دانشگاه شهید چمران اهواز) منتقل شدند.

در هر رویشگاه ٦ نمونه خاک از عمق ۳۰ سانتی‌متری برداشت شد تا مورد تجزیه قرار گیرد، در مجموع ٢٤ نمونه خاک جمع‌آوری گردید. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک شامل بافت (هیدرومتری بایکاس)، میزان کلسیم (روش تیتراسیون)، نیتروژن (روش کجلدال)، ماده‌آلی (روش والکر بلک)، فسفر (روش اولسن)، اسیدیته (pH متر) و هدایت‌الکتریکی (هدایت‌سنج الکتریکی) در این مطالعه اندازه‌گیری شد (Black, 1979).

**آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت تهیه عصاره متانولی**: خشک کردن و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده تحت شرایط استاندارد برای انجام آزمایشات صورت گرفت. جهت تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده شد. میزان ۵۰ میلی‌لیتر از حلال متانول ۸۰ درصد با ۵ گرم از پودر خشک گیاه مخلوط و در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از طی مدت زمان ٢٤ ساعت، مخلوط فوق با سرعت ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ و عصاره برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل جدا گردید (Sukhdev et al., 2008).

**اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH**: در این روش، از ماده DPPH، که یک ترکیبی رادیکالی پایدار چربی دوست با حداکثر جذب ۵۱۷ نانومتر می‌باشد استفاده شد. قدرت از دست دادن الکترون و پروتون توسط ترکیبات شیمیایی و عصاره‌های مختلف، با توجه به میزان بی‌رنگ شدن محلول بنفش رنگ DPPH در متانول سنجیده می‌شود. هر چقدر فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر، میزان بی‌رنگ شدن بیشتر خواهد بود (Burtis and Bucar, 2000).

در این مرحله رادیکال پایدار DPPH (۱ و ۱ دی فنیل-۲- پیکریل هیدرازیل) به مقدار ۰/۰۰٤۷ گرم در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول حل شد تا غلظت $٦\times ١٠^{-٥}$ میلی‌مولار از آن بدست آید. سپس از هر عصارهٔ

گیاهی با استفاده از حلال متانول، چهار غلظت ppm ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ به‌صورت رقیق کردن از عصارهٔ غلیظ قبلی تهیه شد. لازم به ذکر است که عصارهٔ ابتدایی با حداکثر غلظت ppm ۱۰۰۰۰ ساخته شد.

پس از تهیه لوله‌های آزمایش به تعداد نمونه‌های گیاهی و سطح تیمار، در ابتدا ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH در همه لوله‌ها ریخته شد در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ گیاهی تهیه شده با غلظت‌های مختلف به داخل لوله‌ها اضافه گردید. ۳۰ دقیقه نمونه‌ها در تاریکی در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب آنها با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. علاوه بر لوله‌های مذکور یک لوله برای بلانک در نظر گرفته شد این لوله ماکزیمم جذب را داشت و فقط ۱۵۰۰ میکرولیتر DPPH و ۱۰۰ میکرولیتر متانول داخل آن ریخته شد. در نهایت با استفاده از رابطهٔ زیر میزان به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین گردید.

**رابطه ۱** $DPPH$ درصد مهار رادیکال $= \frac{(A_D - A_S)}{A_D} \times 100$

AD: جذب DPPH در ۵۱۷ نانومتر

AS: جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از پارامتر $IC_{50}$ استفاده شد. بر اساس اطلاعات حاصل، $IC_{50}$ عصاره (غلظتی از عصاره بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که برای احیای رادیکال DPPH به میزان ۵۰ درصد اولیه نیاز است)، از منحنی درصد مهار در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره بدست آمد.

**اندازه‌گیری میزان فنل کل:** به تعداد نمونه‌ها لولهٔ آزمایش آماده و به هر کدام ۲۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی و ۲۰۰ میکرولیتر فولین اضافه شد و بعد از گذشت ۳ دقیقه، ۱۰۰۰ سدیم کربنات ۲۰ درصد اضافه گردید و نمونه‌ها به‌مدت ٦۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۷٦۵ نانومتر خوانده شد. برای تهیهٔ نمونه بلانک کلیهٔ ترکیبات شرکت کننده به میزان‌های فوق‌الذکر بدون حضور عصاره گیاهی در لولهٔ آزمایش جهت صفر کردن دستگاه استفاده شد. به‌منظور تهیه منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گالیک اسید استفاده شد و مقدار فنل کل عصاره با استفاده از معادلهٔ منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک بافت بیان گردید (Singleton et al., 1999).

**روش سنجش میزان فلاونوئید کل:** به تعداد نمونه‌ها لوله آزمایش آماده و به داخل هرکدام ۰/۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ گیاهی تهیه شده اضافه گردید. سپس به هر لوله ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۰/۲ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر استیک اسید ۰/۳۳ به لوله‌های آزمایش اضافه و به خوبی هم زده شد و در نهایت مخلوط واکنش را با اتانول ۹۰ درصد به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و لوله‌ها در دمای اتاق در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ٤۱٤ نانومتر قرائت گردید و میزان فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاهی تعیین گردید. برای تهیهٔ نمونه بلانک کلیهٔ ترکیبات ذکر شده در بالا به مقادیر مورد اشاره بدون حضور عصاره در لولهٔ آزمایش ریخته شد که از آن برای صفر کردن دستگاه استفاده گردید. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد. با بدست آوردن معادلهٔ منحنی استاندارد، غلظت فلاونوئید موجود در نمونه‌های گیاهی برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاهی محاسبه شد (Beketov and Liess, 2005).

**تجزیه و تحلیل آماری**

داده‌های بدست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS برای هر تیمار با سه تکرار مورد تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چنددامنه‌ای دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) انجام گرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد.

**نتایج**

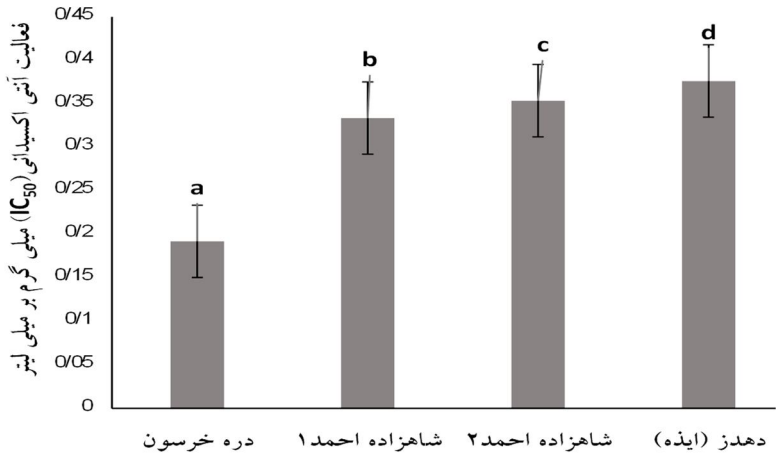
نتایج تحلیل واریانس چند متغیره (MANOVA) ترکیب‌های فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کنگر علوفه‌ای در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج، عوامل رویشگاه، اندام گیاه و مراحل فنولوژی هر کدام به‌صورت جداگانه با اطمینان ۹۹ درصد بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل این گیاه اثر معنی‌دار داشت. اثر متقابل رویشگاه اندام گیاه، رویشگاه–مراحل فنولوژی، بر روی میزان فنل و فلاونوئید کل در سطح ۱ درصد اثر معنی‌دار نشان داد و همچنین اثر متقابل رویشگاه – اندام گیاه – مراحل فنولوژی در سطح ۱ درصد بر روی فنل و فلاونوئید کل و در سطح ۵ درصد بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌دار نشان داد.

**جدول ۲:** تجزیه واریانس ترکیب‌های فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کنگر علوفه‌ای تحت تأثیر رویشگاه، اندام گیاه و مراحل فنولوژی

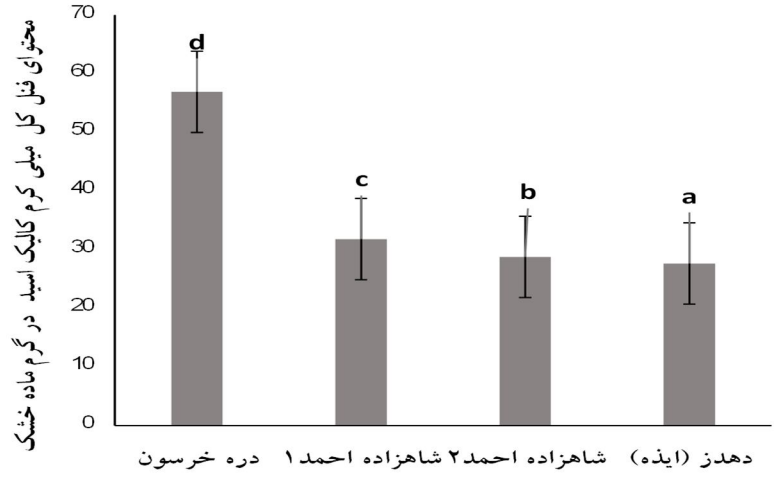
| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | مهار رادیکال آزاد (٪) DPPH | فنل کل (mg GAE $g^{-1}$ DW) | فلاونوئید کل (mg QE $g^{-1}$ DW) |
| تکرار | ۲۳ | ۰/۰۴۸$^{**}$ | ۹۵۰/۹۱$^{**}$ | ۱۰/۳۳۴$^{**}$ |
| رویشگاه | ۳ | ۰/۱۲۴$^{**}$ | ۳۴۵۶/۶۷۴$^{**}$ | ۲۸/۲۴۳$^{**}$ |
| اندام گیاه | ۱ | ۰/۴۳۱$^{**}$ | ۷۶۹۸/۸۵$^{**}$ | ۸۷/۱۷۶$^{**}$ |
| مراحل فنولوژی | ۲ | ۰/۰۸۹$^{**}$ | ۷۲۴/۷۲۴$^{**}$ | ۲۳/۲۹۲$^{**}$ |
| رویشگاه * اندام گیاه | ۳ | ۰/۰۰۹$^{**}$ | ۵۰۹/۷۹۶$^{**}$ | ۰/۸۳۱$^{**}$ |
| رویشگاه * مراحل فنولوژی | ۶ | ۰/۰۱$^{**}$ | ۶۶/۰۸۹$^{**}$ | ۲/۲۹۴$^{**}$ |
| اندام گیاه * مراحل فنولوژی | ۲ | ۰/۰۰۴$^{**}$ | ۸۵/۵۰۶$^{**}$ | ۰/۱۵۸$^{**}$ |
| رویشگاه * اندام گیاه * مراحل فنولوژی | ۶ | ۰/۰۰۱$^{*}$ | ۱۸/۵۷۸$^{**}$ | ۰/۱۶۷$^{**}$ |
| خطای آزمایش | ۴۸ | ۰/۰۰ | ۰/۶۴۹ | ۰/۰۱۴ |

علامت‌های$^{**,*}$ به ترتیب به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد است

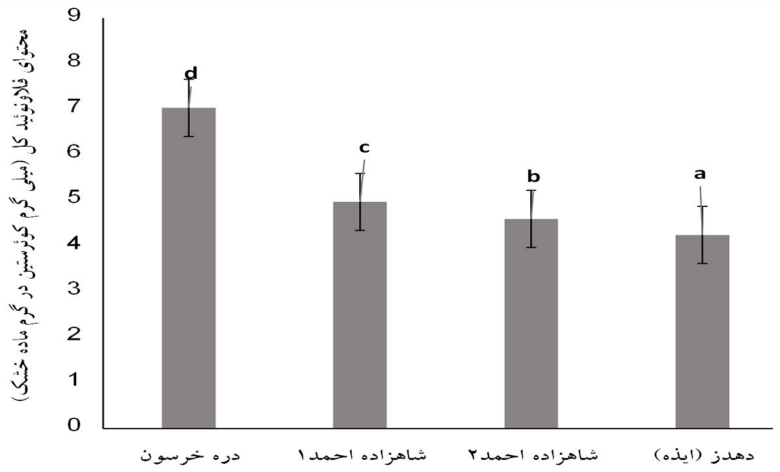
مقایسه میانگین ترکیبات ثانویه عصاره گیاه در چهار رویشگاه مورد مطالعه در شکل‌های ۳، ٤ و ۵ نشان داده شد. بیشترین میزان فنل (۵۶/۹۱۲ $mgGAEg^{-1}DW$)، فلاونوئید کل (۷/۰۳۵ $mgQUEg^{-1}DW$) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۱۹۱۹ $\frac{mg}{mlit}$) در رویشگاه دره‌خرسون و رویشگاه دهدز با ارتفاع ۱۶۰۰ متر کمترین میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشت.




**شکل ۳:** مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای در رویشگاه‌های چهارگانه

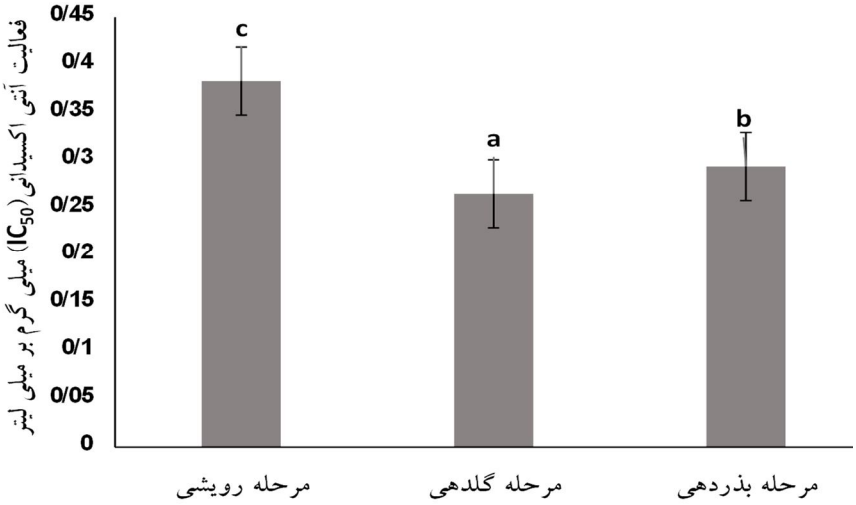



**شکل ٤:** مقایسه محتوای فنل کل عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای در رویشگاه‌های چهارگانه

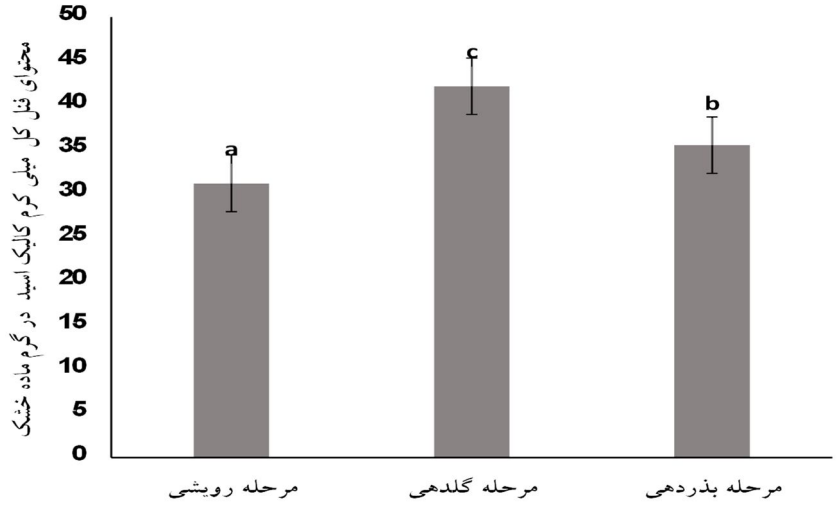



**شکل ۵:** مقایسه محتوای فلاونوئید کل عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای در رویشگاه‌های چهارگانه

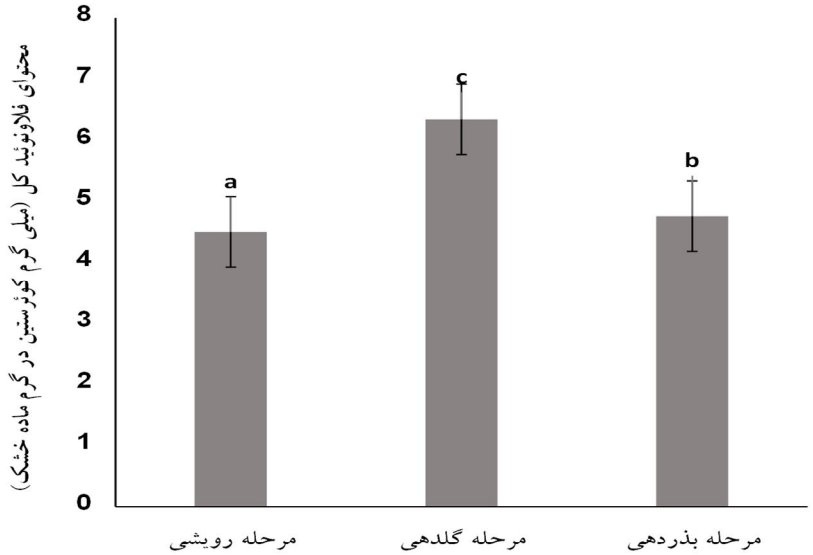
همچنین از نظر مراحل فنولوژی به‌ترتیب مراحل گلدهی> بذردهی> رویشی دارای بیشترین و کم‌ترین محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند. میزان متابولیت‌های ثانویه در مرحله گلدهی بیشترین مقدار (به‌ترتیب ٤۲/۱۵۲، ٦/۳٤۷ و ۰/۲٦۵) را داشته است.




**شکل ٦:** مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی محتوای فنل و فلاونوئید کل عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای در مراحل مختلف فنولوژی




**شکل ۷:** مقایسه محتوای فنل کل عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای در مراحل مختلف فنولوژی




**شکل ۸:** مقایسه محتوای فنل کل عصاره متانولی کنگر علوفه‌ای در مراحل مختلف فنولوژی

مقایسه میانگین خصوصیات خاک در رویشگاه‌های چهارگانه استان خوزستان در جدول ۳ نشان داده شد. نتایج آزمایشگاهی نمونه‌ها از نظر بافت خاک، بیانگر وجود خاک‌هایی با بافت متوسط (لوم- درصد شنی و لومی) می‌باشد. نمونه‌های تجزیه شده از نظر هدایت‌الکتریکی (EC)، فاقد هر گونه محدودیت شوری هستند بجز رویشگاه دره‌خرسون که دارای EC بالایی است. نمونه‌های خاک تجزیه شده عمدتاً در کلاس قلیایی ضعیف و تا حدی کلاس خنثی جای می‌گیرند. آهک، EC و pH خاک در رویشگاه دره‌خرسون بیشتر و دارای اختلاف معنی‌داری با دامنه اطمینان ۹۹ درصد است. میزان پتاسیم، درصد فسفر، درصد نیتروژن و ماده آلی خاک در رویشگاه دره خرسون بیشتر و دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۱). در رویشگاه دره‌خرسون میزان EC، اسیدیته و کلسیم نسبت به سایر رویشگاه‌ها بیشتر (به‌ترتیب ۰/۰۱±۱/۵۸، ۰/۰٤±۸/٤٤ و ۰/۰۰۵±۰/۲۹) و اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۱). در رویشگاه دهدز، مقدار پتاسیم، درصد نیتروژن، درصد فسفر و ماده آلی نسبت به سایر رویشگاه‌ها بیشتر (به ترتیب ۱۰/۸۱±۱۸۱/۳، ۰/۰۰۵±٦/۱٦، ۰/۰±۲۷/۳۳و ۰/۰۵±۱/۰۵) و اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱). درصد درصد رس، درصد سیلت و درصد شن اختلاف معنی‌داری را در بین رویشگاه‌های چهارگانه استان خوزستان نشان نداد.

**جدول ۳: مقایسه میانگین خصوصیات خاک در رویشگاه‌های چهارگانه استان خوزستان**

| رویشگاه | ارتفاع (متر) | درصد رس | درصد سیلت | درصد شن | پتاسیم(ppm) | درصد فسفر |
|---|---|---|---|---|---|---|
| دره خرسون | ۷۰۰ | ۲٤/۱±۰/۳۷$^{b}$ | ۲۳/٤±۰/٤۸$^{b}$ | ۵۲/۲±۰/۷ $^{c}$ | ۱۲۷/٦±۱۱/۹$^{b}$ | ۲۳/۵۸±۰/٦۹$^{b}$ |
| شاهزاده احمد۱ | ۱۰۰۰ | ۲٦/۵۸±۰/۳٤$^{a}$ | ۲٤/۹٦±۰/۳٦$^{a}$ | ٤۸/۷۵±۰/۵ $^{b}$ | ۱۵۰/۲±۱۰/۸$^{ab}$ | ۲۵/۲±۰/٦۳$^{ab}$ |
| شاهزاده احمد۲ | ۱۳۰۰ | ۲۵/٤۳±۰/۳٤$^{ab}$ | ۲۳/۳±۰/۳٦$^{b}$ | ۵۱/٦±۰/۵۳ $^{a}$ | ۱٦۵/٦±۱۰/۸$^{ab}$ | ۲۵/۷۵±۰/٦$^{ab}$ |
| دهدز (ایذه) | ۱٦۰۰ | ۲٦/۳۱±۰/۳٤$^{a}$ | ۲٤/۸۵±۰/۳٦$^{a}$ | ٤۸/۹۱±۰/۵$^{c}$ | ۱۸۱/۳±۱۰/۸۱$^{a}$ | ۲۷/۳۳±۰/٦$^{a}$ |

**ادامه جدول۳-** مقایسه میانگین خصوصیات خاک در رویشگاه‌های چهارگانه استان خوزستان

| رویشگاه | ارتفاع (متر) | درصد نیتروژن | ماده آلی | کلسیم (میلی‌گرم بر لیتر) | اسیدیته (۱:۲) | هدایت‌الکتریکی (ds/m-1) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| دره خرسون | ۷۰۰ | ۰/۱±۰/۰۰۷$^{c}$ | ۰/٤۵±۰/۰۸$^{b}$ | ۰/۲۹±۰/۰۰۵$^{a}$ | ۸/٤٤±۰/۰٤$^{a}$ | ۱/۵۸±۰/۰۱$^{a}$ |
| شاهزاده احمد۱ | ۱۰۰۰ | ۰/۱۳±۰/۰۰٦ $^{b}$ | ۰/۵۸±۰/۰۷$^{b}$ | ۰/۲۸±۰/۰۰٤$^{a}$ | ۸/۱۸±۰/۰۳$^{b}$ | ۱/۲۵±۰/۰۱$^{b}$ |
| شاهزاده احمد۲ | ۱۳۰۰ | ۰/۱٤±۰/۰۰۵$^{ab}$ | ۰/۹۷±۰/۰٦$^{a}$ | ۰/۲۵±۰/۰۰۳$^{b}$ | ۷/۱٦±۰/۰۳$^{c}$ | ۱/۰۸±۰/۰۱$^{c}$ |
| دهدز (ایذه) | ۱٦۰۰ | ۰/۱٦±۰/۰۰۵$^{a}$ | ۱/۰۵±۰/۰۵$^{a}$ | ۰/۲۳±۰۰٤$^{c}$ | ۷/۱۸±۰/۰۳$^{d}$ | ۰/۹۸±۰/۰۱$^{d}$ |

**بحث**

نتایج این مطالعه نشان داد که محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره برگ به میزان بیشتر نسبت به ساقه است و همچنین محتوای این ترکیبات در دوره گلدهی بیشتر و بعد از آن دوره بذردهی در مرتبه دوم قرار می‌گیرد. وجود اختلاف معنی‌دار در خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در بخش‌های مختلف گیاه در طی مراحل فنولوژیکی نشان داد که در طی بلوغ گیاهان، تغییرات فیتوشیمیایی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها مؤثر است

وکیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان را در زمان‌های خاص تحت تأثیر قرار می‌دهد (Conforti et al., 2007). بدین‌ترتیب با توجه به درصد ترکیبات گوناگون و خواص آنتی‌اکسیدانی آنها علیه اکسیدان‌های مختلف، برداشت گیاه به منظور مقابله با اکسیدان خاص می‌تواند در مرحله فنولوژی مناسب انجام گیرد. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های گیاهی دارای چند عملکرد بوده و فعالیت و مکانیسم عمل آنها به‌شدت به ترکیب و شرایط رویشگاه بستگی دارد زیرا این شرایط بر سنتز مواد شیمیایی گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند، مؤثر هستند (Wong et al., 2006).

نتایج مقایسه میانگین فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رویشگاه‌های چهارگانه نشان داد که عملکرد عصاره گونه کنگر علوفه‌ای در رویشگاه دره‌خرسون با ارتفاع ۷۰۰ متر از سطح دریا، از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونوئید کل بهتر و بعد از آن به‌ترتیب سایت‌های شاهزاده احمد ۱ (۱۰۰۰متر)، شاهزاده احمد۲ (۱۳۰۰متر) و دهدز (۱۶۰۰ متر) قرار می‌گیرند. مطالعات نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌های گیاهی می‌باشد. زیرا براساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد که از طریق عصاره-های گیاهی آنها قابل استخراج می‌باشد (Candan *et al.*, 2003; Muret et al., 2007). نقش کلیدی ترکیب‌های فنلی به‌عنوان حذف کننده رادیکال‌های آزاد به‌وسیلهٔ (The´riault et al., 2007; Katalinic et al., 2006) گزارش شده است.

گونه کنگر علوفه‌ای شرایط خاک با بافت لومی، اسیدیته بالاتر، میزان بالاتر EC و با درصد پایین‌تر آهک می‌تواند عملکرد بهتری از لحاظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای بالاتر فنل و فلاونوئید کل داشته باشد. در حالت مقاومت گیاه در برابر شوری گیاه نمک را جذب کرده و آن را به اندام‌ها به‌ویژه برگ‌ها می‌فرستد. بنابراین به‌دلیل افزایش تنش شوری ترکیبات فلاونوئیدی و فنل‌ها افزایش می‌یابند (Levitt, 1980). اختلالات شوری القا شده از فرآیندهای متابولیکی منجر به افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوئید و آنزیم‌های اکسیداتیو خواهد شد (Darbyshire, 1971; Ayaz et al., 2000). که این بررسی‌ها با نتایج بدست آمده از این مطالعه مطابقت داشت. برخی تغییرات در متابولیت‌های ثانویه در گیاهان پاسخی است به برخی استرس‌های محیطی که نتایج این مطالعه نشان داد عدم مطلوبیت خاک عامل استرس بوده است که نتایج دهقان و همکاران (Dehghan et al., 2015) نیز این موضوع را تأیید کرد. همچنین در این مطالعه نشان داده شد که بیشترین میزان عملکرد در متابولیت‌های ثانویه مربوط به رویشگاه دره‌خرسون است که ممکن است دلیل عمده آن، وجود آلودگی‌های نفتی ناشی از چاه‌های نفت در نزدیکی این رویشگاه باشد. شارما ودوبی (Sharma and Dubey, 2005) در مطالعه‌ای نشان دادند که آلودگی‌های موجود در خاک ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] را در گیاه افزایش داده و منجر به ایجاد تنش اکسیدی در آنها می‌شود. در مواجهه با این تنش اکسیدی گیاهان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خاصی را افزایش می‌دهند، در واقع گیاهانی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها زیاد است نسبت به تنش اکسیدی مقاومت بیشتری دارند (Khatun et al., 2008) و شاید در این مطالعه بتوان گونهٔ کنگر علوفه‌ای را گیاه مقاوم نسبت تنش اکسیدی دانست. به‌دلیل سمیت بالقوه و مقاومت زیاد فلزات، خاک‌هایی که آلوده به چنین عناصرئ هستند به‌عنوان

1. Reactive Oxygen Species

یک مشکل محیطی مطرح می‌باشند که به یک راه‌حل مؤثر و ممکن نیاز دارند (Nascimento and Xing, 2006; Groppa et al., 2007).

## نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این مطالعه نشان داد که گونهٔ کنگر علوفه‌ای، دارای محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی است که می‌توان از آن به‌عنوان یک گونهٔ گیاهی چندمنظوره در مراتع بهره برد. عملکرد آنتی اکسیدانی گونهٔ کنگر علوفه‌ای تحت تأثیر مراحل بلوغ، اندام‌های گیاه، شرایط آب و هوایی و همچنین خصوصیات رویشگاه و... تغییر می‌کند که این مطالعه این موضوع را ثابت کرد (Mejia et al., 1988). شناسایی پتانسیل عصاره کنگر علوفه‌ای و انتخاب رویشگاه و مرحله فنولوژی بهینه بسیار ضروری است و امکان فراهم کردن استخراج مواد مؤثره در استفاده‌های کاربردی از فرآورده‌ها و توان افزایش عملکرد دارویی گیاهان را سبب می‌شود.

## References


1. Alizadeh, A., Ghasemnezhad, A., Hezarjaribi, A., Zaman, M. 2014. The effect of soil texture on some combinations of antioxidant activity of artichoke plant. First National Conference on Agricultural Science with an emphasis on abiotic stresses, Payam-e-Noor University of Naghade, 6 p (In Persian).
2. Asadi Samani,M., Rafieian-Kopaei, M. and Azimi, N. 2013. *Gundelia*: A systematic review of medicinal and molecular perspective. Pakistan Journal of Biological Sciences, 16(21): 1238-1247.
3. Ayaz, F.A., Kadioglu, A., Urgut, R.T. 2000. Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa*. Canadian Journal of Plant Science, 80: 373-378.
4. Azeez, O.H., Kheder, A.E. 2012. Effect of *Gundelia tournefortii* on some biochemical parameters in dexamethasone-induced hyperglycemic and hyperlipidemic mice. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 26 (2): 73-79.
5. Bailey, C., Danin, A. 1981. Bedouin plant utilization in Sinai and the Negev. Economic Botany 35: 145-162.
6. Beketov, M.A., Liess, M. 2005. Acute contamination with esfenvalerate and food limitation: chronic effects on the mayfly, Cloeon dipterum. Environmental Toxicology and Chemistry, 24: 1281-1286.
7. Black, C.A. 1979. Methods of soil analysis. American Society of Agronomy, 2: 771-1572.
8. Burtis, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy Research, 14: 323-328.
9. Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A.H., Akpulat, A. 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan (Asteraceae). Journal of Ethnophamacology, 87: 215-220.
10. Conforti, F., Statti, G.A., Menichini, F. 2007. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. Food Chemistry, 102: 1096–1104.
11. Coruh, N.S., Ducog, L., Celep, A.G., Ozgokce, F., Iscan, M. 2007. Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L. extracts and inhibition on glutathione-S-transferees activity. Food Chemistry, 100:1249–1253.
12. Darbyshire, B. 1971. The effect of water stress on indoleacetic acid oxidas in pea plants. Plant Physiol. 47: 65-67.
13. Dehghan, Z., Sefidkon, F., Emami, S.M., Kalvandi, R. 2015. The effects of ecological factors on essential oil yield and composition of *Ziziphora clinopodioides* lam. Subsp .*rigida* (Boiss) Rech. f. Journal of plant researches (Iranian Journal of Biology), 27(1): 61-71 (In Persian).

14. Ebrahimi, A., MohamadiSani, A.M. 2015. Application of *Gundelia tournefortii* L. in yoghurt. Journal of Applied Environmental and Biological Science, 4(12): 266-272.
15. Elmasta, M., Drirtas, I., Isildak, O. and Aboul-Enein, H.Y. 2006. Antioxidant activity of S-Carone isolated from Spearmint (*Mentha Spicata* L.). Journal of Liquid Chromatography &Related Technologies, 29 (10):1465-1475.
16. Ertug, F. 2000. An ethnobotanical study in central anatolia (Turkey). Economic Botany, 54: 155–182.
17. Ghahraman, A. 1984. Flora of iran. Published by Research Institute of Forests and Rangelands. 3thEd, Tehran, 162 p.(In Persian).
18. Groppa, M.D., Tomaro, M.L., Benarides. M.P. 2007. Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in Cadmium and Copper treated wheat leaves. Biometals Journal, 20: 185-195.
19. Katalinic, V., MIlos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. Screening of 70 medical plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry, 94: 550-577.
20. Khatun, S., Ali, M.B., Hahn, E.J., Paek, K.Y. 2008. Cooper toxicity in *withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and experimental botany, 64: 279-285.
21. Kunkel, G. 1984. Plants for human consumption. Koeltz Scientific Books, 393p.
22. Levitt, J. 1980. Responses of Plants to environmental stresses. Vol. 1, Academic Press, 496p.
23. Mejia, L.A., Hudson, E., Gonzalez, D., Mejia, E., Vasquez, F. 1988. Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annuum*) as determined by HPLC. Journal of Food Science, 53: 1448-1451.
24. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B., and Fedra, V. 2007. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from *Anatolia*. Food Chemistry, 100(2): 526-534.
25. Nascimento, C.W. Xing, B. 2006. Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. Scientia Agricola, 63: 299-311.
26. Omid beige, R. 2000. Approaches to the production and processing of medicinal plants, 2th Ed, Tehran, Press Designers Publication, 286p. (In Persian).
27. Özkan, A., Yumrutas, Ö., Saygideger, S.D. and Kulak, M. 2011. Evaluation of antioxidant activities and phenolic contents of some edible and medicinal plants from turkey's flora. Advances in Environmental Biology, 5(2): 231-236.
28. Oweis, D.S., Shibli, R.A., Eriefej, K.L. 2004. In vitro propagation of *Gundelia tournefortii* L. Advances in Horticultural Science, 18(3): 127-131.
29. Sarker, S.D., Latif, Z., Gray, A.I. 2006. Natural products isolation. Humana Press Inc., New Jersey, U.S.A., 20p.
30. Sharma, P., Dubey, R.S. 2005. Lead toxicity in plants. Journal of Plant physiology, 17: 35-52.
31. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods n Enzymology, 299: 152-178.
32. Sukhdev, S., Handa, S., Singh, P., Gennaro, Kh., Dev, L., Dutt, R. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants, International centre for science and high technology, 260p.
33. Stocklin, J. 1968. Salt deposits of Middle East. The geological society of america, Special paper 88: 157-181.
34. Swetie, R., Raesh, Ch., Arun, S. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation processed lamb meat. Food Chemistry, 100(2): 451-458.
35. Tabibian, M., Nasri, S., Kerishchi, P., Amin, G. 2013. The effect of *Gundelia Tournefortii* hydro-alcoholic extract on sperm motility and testosterone serum concentration in mice. zahedan. Journal of Research in Medical Sciences, 15(8): 18-21.
36. Talebi Kouyakhi, E., Naghavi, M.R., Alayhs, M. 2008. Study of the essential

oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 44 (1): 124-126.

37. The´riault, V., Bernatchez, L., Dodson, J.J. 2007. Mating system and individual reproductive success of sympatric anadromous and resident brook charr, *Salvelinus fontinalis*, under natural conditions. Behavioral Ecology and Sociobiology, 62: 51–65.

38. Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry, 99: 775-783.

39. Zeinali, Z., Hemmati, Kh., Mazandarani, M., Asghari, D. 2014. Autecology, ethnopharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss. In different regions of Razavi Khorasan Province.Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 1(4): 11-22.