نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دوازدهم، شماره ۴۸، زمستان ۱۳۹۶ / صفحات: ۷۷-۶۵

بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی علف‌هرز کاهوی وحشی *Lactuca serriola* L.
(مطالعه موردی مزارع روستای وامنان شهرستان آزاد شهر)

ابراهیم غلامعلی پور علمداری[1*]، مارال ایری[2]، زینب اورسجی[1]، جواد بیات کوهسار[2]

[1]گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

[2]گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۷

چکیده

آزمایشی با هدف تجزیه برخی از ترکیبات اولیه و ثانویه در اندام‌های مختلف کاهوی وحشی (*Lactuca serriola* L.) در مرحله فنولوژیکی رویشی انجام شد. پس از جمع‌آوری اندام‌های هوایی کاهوی وحشی از سطح مزارع روستای وامنان از توابع شهرستان آزاد شهر، اندام‌های مختلف نظیر ریشه، ساقه و برگ به‌تفکیک از یکدیگر جدا، خشک و پودر گردید. هم‌چنین مخلوطی از اندام‌ها به‌عنوان تیمار دیگر برای مقایسه با سایر اندام‌ها در نظر گرفته شد. سپس اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها از لحاظ برخی از ترکیبات اولیه نظیر میزان ماده آلی، خاکستر خام، پروتئین، آمینو اسید پرولین، نشاسته، قندهای محلول به‌علاوه از لحاظ شاخص پایداری غشای سلولی و ترکیبات ثانویه فنل کل و آنتوسیانین نیز مورد تجزیه کمی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اندام‌های مختلف کاهوی وحشی از مقادیر مختلف متابولیت‌های اولیه و ثانویه و به‌علاوه شاخص پایداری غشای سلولی برخوردار بودند. براساس نتایج، اندام برگ کاهوی وحشی به‌ترتیب از بیشترین و کمترین میزان ماده آلی و خاکستر خام برخوردار بود. هم‌چنین بیشترین میزان ترکیبات پروتئین، نشاسته و اسمولیت‌های سازگار کننده قندهای محلول و پرولین مربوط به اندام برگ بود. بیشترین میزان فنل کل و آنتوسیانین به اندام برگ اختصاص داشت که همبستگی مثبت و معنی‌داری را با شاخص پایداری غشای سلولی نشان دادند. با توجه به زیست توده بالای کاهوی وحشی، پیشنهاد به تجزیه سایر ترکیبات شیمیایی موجود در آن می‌باشد. جهت استفاده از ترکیبات آن‌ها برای تهیه علف‌کش‌های زیستی نیاز به آزمایشات تکمیلی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، اسمولیت‌های سازگارکننده، پروتئین، شاخص پایداری غشاء، فنل کل، گیاه هرز

مقدمه

کلیه موادی که در یک گیاه وجود دارد تحت عنوان مواد متشکله نامگذاری شده و آن دسته از ترکیباتی که واجد اثرات درمانی می‌باشند، در گروه مواد متشکله فعال قرار می‌گیرند. این مواد در دو دسته متابولیت اولیه و ثانویه قرار می‌گیرند. مواد موثره گیاهان دارویی در گروه متابولیت‌های ثانویه قرار می‌گیرند و در مراحل رشد و نمو گیاهی تاثیر اساسی و مهمی ندارند. مواد موثره به‌طور اساسی با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند اما در این میان فرآیند ساخت آن‌ها نیز به‌طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Samsam Shariat, 1999). هم‌چنین سه عامل توارث، مراحل رشد و عوامل محیطی باعث ایجاد تغییرات کمی و کیفی در مواد متشکله گیاه می‌شوند که میزان این تغییرات متغیر

*نویسنده مسئول: eg.alamdari@gmail.com

و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش نمودند اگر چه میزان متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژن‌هاست، ولی مقدار، غلظت و تجمع آن‌ها به میزان قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی است. Ebrahimi (۲۰۱٤) بیان نمود که مراحل فنولوژی و نوع اندام، تأثیر معنی‌داری بر محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه برازمبل دارد. در این راستا عنوان شد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدان متعلق به برگ گیاهانی بود که در مرحله رشد رویشی قرار داشتند. همچنین Turkan (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای تاثیر مراحل رشد و شرایط محیطی بر روی گیاهان مرتعی را بررسی نمودند. نتایج وی نشان داد که میزان پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم با رشد گیاه، کاهش و میزان دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز افزایش می‌یابد. Naghiloo و همکاران (۲۰۱۲) طی تحقیقی بر *Astragalus compactus* L. اظهار داشتند که مقادیر ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره این گیاه، به مرحله نموی گیاه بستگی داشته و بالاترین مقادیر در مرحله میوه دهی مشاهده شد. به‌علاوه مقادیر ترکیبات فنلی به شدت وابسته به شرایط محیطی هم‌چون دما و تابش خورشید بود. Ghamari و همکاران (۲۰۱٦) با بررسی ترکیب فیتوشیمیایی اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahandica* Bornm) در مراحل مختلف فنولوژیکی در استان ایلام گزارش نمودند که اردیبهشت ماه به عنوان مناسبترین زمان برداشت جهت دستیابی به بالاترین میزان اسانس، مرحله گل‌دهی کامل (شهریور) جهت دستیابی به بالاترین کیفیت اسانس از جمله درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل و تیرماه جهت دستیابی به مهم‌ترین جزء تشکیل دهنده اسانس (بورنئول) مرزه سهندی در رویشگاه آن در استان ایلام می‌باشد. David و Zbigniew (۲۰۱۰) نیز عنوان نمودند که محتوی فنل و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان هر منطقه به پارامترهای زیادی از جمله آب و هوا، خاک، ارتفاع و گونه‌های مختلف گیاهی بستگی دارد.Omidi و همکاران (۲۰۱۲) با مقایسه میزان آلکالوئیدهای گروه مورفین طی مراحل مختلف رشد در گیاه دارویی خشخاش (*Papaver somniferum* L.) گزارش نمودند که مرحله رشد و نمو گیاه نقش مهمی در میزان تجمع آلکالوئیدهای مورد بررسی دارد، به‌طوری‌که میزان هر سه آلکالوئید مورفین، کدئین و تبائین در مرحله بعد از گل‌دهی هم در ریشه‌ها و هم در اندام‌های هوایی به مراتب بیشتر از مقدار آن در مراحل اولیه رشد و بذرها می‌باشد. از آنجایی که بیشترین مقدار مورفین در مرحله بعد از گل‌دهی مشاهده شد، به نظر می‌رسد به کار گرفتن تکنیک‌های نوین از جمله مهندسی متابولیت‌های ثانویه در این مرحله نتایج بهتری را در بر خواهد داشت.

کاهوی وحشی با نام علمی *Lactuca serriola* L.، متعلق به خانواده Asteracea می‌باشد. نام *Lactuca* از لغت لاتینی گرفته شده به معنای عصاره شیرابه‌ای و *serriola* به معنای سمی است (Heber, 2004). از لحاظ گیاه‌شناسی گیاهی علفی، دو ساله که به‌صورت خودرو در مزارع و کنار جاده‌ها و دامنه‌ها می‌روید. برگ‌های آن پهن، موج‌دار، نامنظم و دارای بریدگی‌های عریض و دندانه‌دار است (Kulkarni and Dhir, 2010). میوه این گیاه فندقه و بذرهای آن سیاه متمایل به خاکستری دیده می‌شود (Rashed Mohasel et al., 2001). بررسی منابع نشان می‌دهد که تحقیقات چندانی در رابطه با ترکیبات شیمیایی اولیه و ثانویه علف‌هرز کاهوی وحشی و ارتباط آن‌ها با مراحل مختلف فنولوژیکی در ایران اندک می‌باشد. بیشتر تحقیقات در مورد بیولوژی و اکولوژی این علف‌هرز می‌باشد. در این رابطه Xiangfei و همکاران (۲۰۰۹) از وجود مواد آنتی‌اکسیدان و فلاونوئیدها و ترکیبات

فنلی در کاهو را گزارش دادند. هم‌چنین بیان شد که کاهو حاوی گاما آمینو بوتیریک اسید، سوکروز، گلوکز، فروکتوز و اینولین و آلکالوئید است. وجود اسیدهای آلی مثل بنزوئیک و فنیل استیک در ریشه این گیاه توسط این محققین نیز گزارش شده است.

Jun و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش نمودند که ریشه کاهو حاوی استئاریک اسید است. به‌طورکلی علف‌هرز کاهوی وحشی از علف‌های هرز سمج در سطح مزارع اکثر استان‌ها به‌ویژه استان گلستان مطرح می‌باشد. امروزه این گیاه هرز غیر مفید و بلا استفاده بوده و هر ساله در اثر وجین و سایر فعالیت‌های زراعی از بین می‌رود. بنابراین تجزیه فیتوشیمیایی اندام‌های کاهوی وحشی گامی نخست جهت بهره‌وری و استحصال ترکیبات طبیعی حاصل از آن به عنوان ترکیبات طبیعی و یا علف‌کش‌های زیستی می‌باشد که از مهمترین اهداف کشاورزی پایدار است. لذا هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی کمی ترکیبات فیتوشیمیایی اولیه و ثانویه اندام‌های مختلف کاهوی وحشی (*Lactuca serriola*) در مرحله فنولوژیکی رویشی بود.

مواد و روش‌ها

مشخصات جغرافیایی، آب و هوایی محل جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی: نمونه‌های گیاهی علف‌هرز کاهوی وحشی (*Lactuca serriola*) از مزارع اطراف روستای وامنان از توابع شهرستان آزاد شهر، بخش چشمه‌ساران در مرحله رویشی در اواخر اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد. به‌طور تجربی مرحله گل‌دهی و بذر دهی کاهوی وحشی در این منطقه به ترتیب تیر و شهریور می‌باشد. از نظر موقعیت جغرافیایی منطقه وامنان در مختصات ۳۷ دقیقه و یک درجه عرض شمالی و ۵۵ دقیقه و ۳۳ درجه طول شرقی و در ارتفاع ۱۴۵۰ متر از سطح دریا قرار دارد.

آماده‌سازی اندام‌ها: **پس** از شناسایی گونه کاهوی وحشی، اندام‌های مختلف شامل ریشه، ساقه و برگ از یکدیگر جدا گردید. ابتدا نمونه‌ها در نور غیر مستقیم نیمه پژمرده و سپس با کمک آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردیدند. سپس نمونه‌ها آسیاب و تا قبل از استفاده در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری شدند. در پایان اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها جهت تجزیه فیتوشیمیایی ذیل در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشگاه گنبدکاووس مورد آزمایش قرار گرفتند.

میزان ماده آلی و خاکستر خام: مقدار ۳ گرم از ماده خشک هر یک از اندام گیاهی (W_1) پس از توزین در کروزه چینی ریخته شد و به‌مدت ۵ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره الکتریکی قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از این مدت به دسی‌کاتور منتقل شده و پس از سرد شدن، توزین (W_2) و بر اساس روابط ذیل درصد ماده آلی و خاکستر اندام‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (AOAC, 2003).

رابطه (۱) ۱۰۰ ×وزن نمونه اولیه (W_1) /وزن خاکستر (W_2)= درصد خاکستر یا مواد معدنی وزن نمونه اولیه

رابطه (۲) درصد خاکستر (W_2)-۱۰۰= درصد ماده آلی (W_1)

میزان نشاسته با استفاده از معرف آنترون: ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه خشک اندام گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد خرد و برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در فاز رسوب حاصل ۱۵ میلی‌لیتر معرف A (۴ میلی‌گرم کربنات سدیم + ۰/۸ گرم سود + ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به فاز رسوب حاصل مجدداً ۶/۵

میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۵۲ درصد و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره با کمک آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ٤ میلی‌لیتر معرف آنترون به محلول حاصل اضافه و سپس در دمای اتاق سرد گردید. در پایان مقدار جذب نمونه در طول موج ٦۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. نمونه شاهد تنها حاوی ٤ میلی‌لیتر آنترون بود. میزان نشاسته برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه با کمک منحنی استاندارد گزارش گردید (Thayumanavan and Sadasivam,1984).

میزان فنل کل: مقدار ۰/۱ گرم از نمونه خشک اندام گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد خرد و برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مخلوط رویی برای تغلیظ در حمام آب جوش قرار داده شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل، به ترتیب ۲/۵ و ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و معرف فولین سیوکالتو ۵۰ درصد اضافه شد. بعد از مدت ۳ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه و برای ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. در پایان مقدار جذب نمونه به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦۵۰ نانومتر قرائت و سپس میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم وزن خشک نمونه به‌دست آمد (Malick and Singh, 1980).

میزان قندهای محلول: ۰/۱ گرم از نمونه خشک اندام گیاهی را برداشته و سپس ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری گردید تا قندهای محلول آن آزاد شود. پس از یک هفته، از محلول رویی نمونه، یک میلی‌لیتر را برداشته و حجم آن با آب مقطر به دو میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، میزان جذب به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۸۵ نانومتر خوانده شد. میزان قندهای محلول هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (Kochert, 1978).

میزان پرولین برگ: ۰/۵ گرم اندام تازه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد مخلوط و سپس با کاغذ صافی، صاف گردید. دو میلی‌لیتر از محلول حاصل را در داخل لوله آزمایش ریخته و سپس دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و دو میلی‌لیتر اسید نایِن هیدرین اضافه گردید. در مرحله بعدی برای مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار داده شد. جهت خاتمه واکنش، نمونه‌ها داخل حمام یخ قرار گرفت. در ادامه، چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول حاصل اضافه شد و برای مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به خوبی تکان داده، به‌طوری که لایه رویی زرد رنگ تولوئن نمایان گردد. سپس فاز فوقانی جدا و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین در هر نمونه بر اساس منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates et al., 1973).

میزان پروتئین : ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از اندام خشک گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد خرد و برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به فاز جامد حاصل، ۱۵ میلی‌لیتر از معرف A اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعدی ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره نمونه را برداشته و توسط آب مقطر به حجم یک میلی‌لیتر رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر معرف C [اختلاط معرف A و B (۰/۵ درصد سولفات مس (۱۲۵ میلی‌لیتر سولفات مس) + ۲۵ میلی‌لیتر پتاسیم سدیم تارتارات یک درصد)] به محلول حاصل اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف D (یک میلی‌لیتر

فولین + یک میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریک قرار داده و در پایان توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٦٠ نانومتر قرائت شد. میزان پروتئین با استفاده از نمودار استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه خشک برآورد شد (Lowry et al., 1951).

میزان آنتوسیانین: ابتدا ۰/۵ گرم از هر یک از اندام‌های تازه علف‌هرز کاهوی وحشی با مقداری متانول و اسید کلریدریک به نسبت حجمی ۹۹ به ۱ میلی‌لیتر کاملاً ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ٢٤ ساعت در شرایط تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در لوله‌های سر پیچ‌دار نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٤٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب روشناور در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Wagner, 1979).

برای محاسبه میزان آنتوسیانین از فرمول $A = BC\square$ استفاده شد که در آن $\square$ یا ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول می‌باشد. B، عرض کووت برابر یک سانتی‌متر و C، غلظت کمپلکس بر حسب $\mu g\, g^{-1} Fw$ می‌باشد.

شاخص پایداری غشای سلولی: برای اندازه‌گیری شاخص پایداری غشای سلولی، ۲۰۰ میلی‌گرم از هر اندام را وزن کرده و درون دو لوله آزمایشی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر قرار داده شد. سپس یکی از نمونه‌ها در دستگاه حمام آب جوش در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگه داشته شد. در خاتمه هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. نمونه دیگر را نیز در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی آن اندازه‌گیری شد. شاخص پایداری غشاء از رابطه ذیل به‌دست آمد (Agrawal et al., 2005).

رابطه (۳)

شاخص پایداری غشاء = ۱- (هدایت الکتریکی آب ٤٠ درجه) / (هدایت الکتریکی آب ۱۰۰ درجه) ×۱۰۰

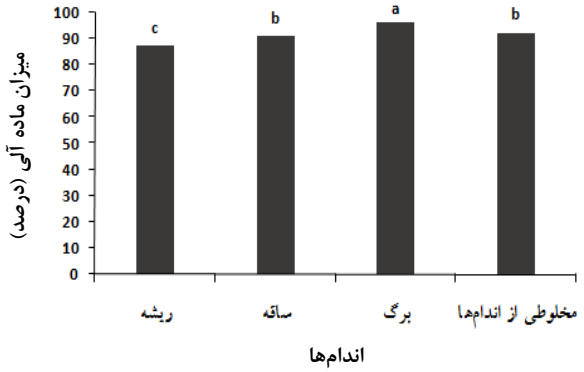
در پایان تجزیه واریانس یک‌طرفه داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۱ (Soltani, 2007) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار حفاظت شده (در جایی‌که آماره F معنی‌دار) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. هم‌چنین برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج

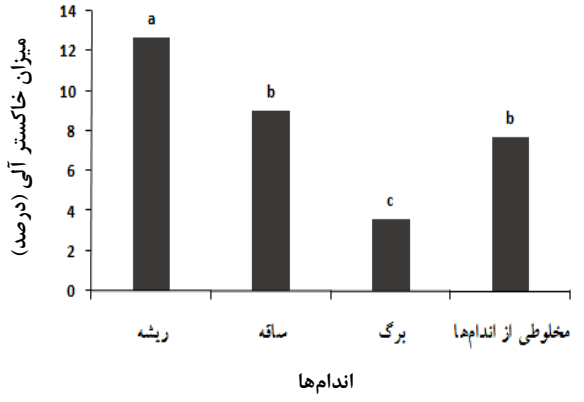
میزان ماده آلی: بر اساس نتایج به‌دست آمده، اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها از لحاظ میزان ماده آلی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند (جدول ۱). میزان تغییزات ماده آلی بین ٩٦/٤٤ و ۸۷/۳۳ درصد بود. بیشترین این میزان به اندام برگ تعلق داشت. در مقابل اندام ریشه از کمترین مقدار ماده آلی برخوردار بود (شکل ۱). تجزیه همبستگی داده‌ها نشان داد که میزان ماده آلی در کاهوی وحشی همبستگی منفی و معنی‌داری را با میزان خاکستر خام نشان داد. در مقابل رابطه این صفت با میزان پروتئین، پرولین، نشاسته، قندهای محلول، فنل کل و آنتوسیانین مثبت و معنی‌دار بود. به‌طوری‌که میزان ماده آلی بیشترین ضریب همبستگی را با میزان پرولین (r= ۰/٩٤) نشان داد (جدول ۲).

میزان خاکستر خام: طبق نتایج به‌دست آمده، بین اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد از لحاظ میزان خاکستر خام وجو داشت (جدول ۱). بر اساس نتایج، بیشترین میزان معنی‌دار خاکستر خام به اندام ریشه معادل ۱۲/٦٧ درصد تعلق داشت. کمترین

این میزان مربوط به اندام‌ها بـرگ (۳/۵٦ درصـد) بـود (شکل ۲). ضرایب همبستگی ترکیبات شیمیایی نشـان داد که همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان خاکستر خام کـاهوی وحشـی بـا میـزان مـاده آلـی، پـروتئین، پرولین، نشاسته، قندهای محلول، فنل کل و آنتوسیانین در سطح احتمـال یـک درصـد برقـرار بـود. بیشـترین ضریب همبستگی منفی بـین میـزان خاکسـتر خـام بـا پــرولین (r= -۰/۹٤) مشــاهده گردیــد (جــدول ۲).



شکل ۱: میزان ماده آلی در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها



شکل ۲: میزان خاکستر خام در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها

جدول ۱: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات شیمیایی اندام‌های مختلف علف‌هرز کاهوی وحشی (*Lactuca serriola*)

منابع تغییرات/ صفات	درجه آزادی	میزان ماده آلی	میزان خاکستر خام	میزان پروتئین	میزان پرولین	میزان نشاسته	میزان قندهای محلول	میزان فنل کل	میزان آنتوسیانین	شاخص پایداری غشای سلولی
تیمار	۳	٤۲/٤۳**	٤۲/٤۳**	٥۰۸۱/۳۸**	۲۸۲/۲٥**	۷۲۲/۹٦**	۸۳۷/۲۱**	۹/۹۷**	۱/٦۰**	۳۰۸۹/۲۰٤۰**
خطا	۸	۱/۷٦	۱/۷٦	۱۳٥/٥۲	۲/۹۸	٦/۲٦	۲٦/۹۷	۰/۰۷	۰/۰۰۲	۸/۳۷۲۰
ضریب تغییرات		۱/٤٤	۱٦/۱۲	۱۷/۷۲	۱۳/۲۰	۲/۰٦	۱۰/٤٤	۹/۰۷	۳/۸۸	۱۱/۹٤۸

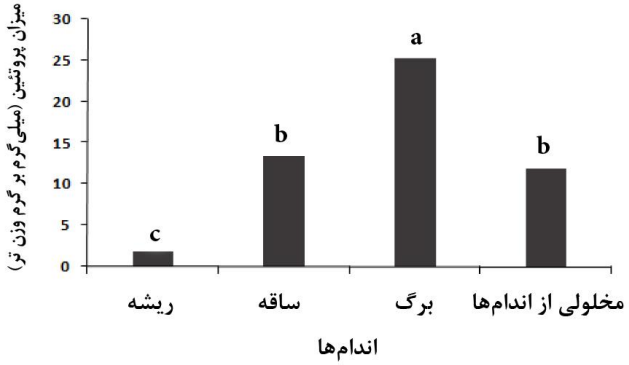
** نشاندهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

میزان پروتئین: همان‌طـوری‌کـه از جـدول ۱ مشـاهده می‌شود، میزان پروتئین در اندام‌های مختلف علف‌هرز کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها تفاوت معنـی‌داری در سـطح احتمـال یـک درصـد نشـان دادنـد. میـزان

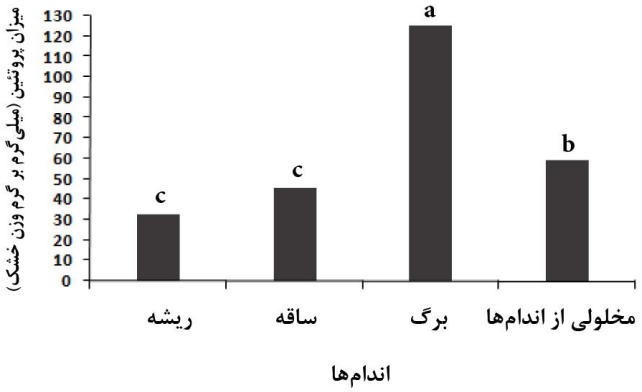
پروتئین در دامنه‌ای بین ۱۲۵/۳۱ و ۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه خشک بود. بیشترین این میزان به اندام برگ تعلق داشت. اما کمترین میزان پروتئین مربوط به اندام ریشه بود که از لحاظ آماری با میزان آن در اندام ساقه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۳). تجزیه همبستگی ترکیبات شیمیایی کاهوی وحشی نشان داد که بین میزان پروتئین با میزان ماده آلی، پرولین، قندهای محلول، فنل کل و آنتوسیانین همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت.

بیشترین همبستگی بین این صفت با میزان آنتوسیانین (r=۰/۹٤) مشاهده شد. هم‌چنین رابطه میزان پروتئین با نشاسته مثبت ولی غیر معنی‌دار بود. در مقابل میزان پروتئین رابطه منفی و معنی‌داری با خاکستر خام (p<۰/۰۱) نشان داد (جدول ۲).

میزان آمینو اسید پرولین: نتایج جدول تجزیه واریانس بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد اندام‌های مختلف علف‌هرز کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها از لحاظ میزان پرولین بود (جدول ۱). میزان تغییرات پرولین در تیمارهای مورد بررسی بین ۲۵/۳٤ و ۱/٦۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه متغیر بود. بیشترین میزان پرولین به اندام برگ اختصاص داشت. در مقابل کمترین این میزان مربوط به اندام ریشه بود (شکل ٤). نتایج حاصل از ضرایب همبستگی نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان پرولین با ماده آلی، پروتئین، نشاسته، قندهای محلول و فنل کل در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. بیشترین ضریب همبستگی مربوط به میزان پرولین با ماده آلی بود (r=۰/۹٤). لیکن رابطه منفی و معنی‌داری بین میزان پرولین با خاکستر خام و آنتوسیانین به ترتیب با ضریب همبستگی ۰/۹٤و ۰/۸۳ مشاهده شد (جدول ۲).



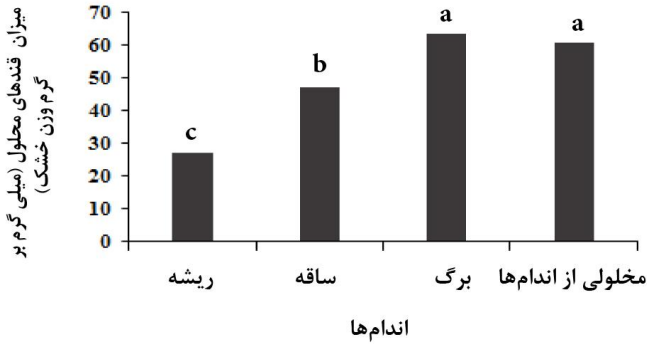
شکل ۳: میزان پروتئین در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها



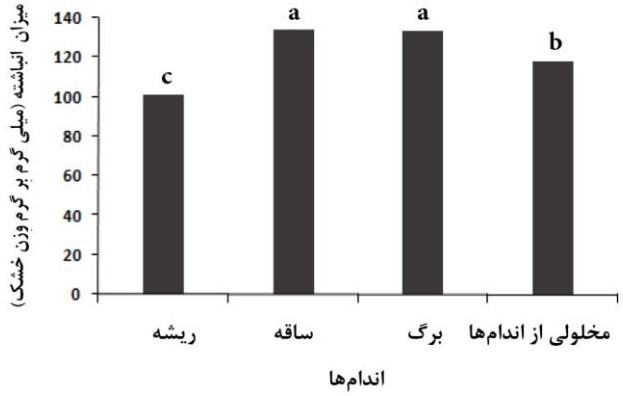
شکل ٤: میزان پرولین در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها

میزان نشاسته: میزان تغییرات نشاسته در اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها متفاوت بود. بیشترین میزان معنی‌دار این صفت مربوط به اندام ساقه معادل ۱۳٤/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه خشک بود که از لحاظ آماری با اندام برگ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. اندام ریشه با میزان ۱۰۱/۳۱ میلی‌گرم بر گرم از کمترین میزان نشاسته برخوردار بود (شکل ۵). تجزیه همبستگی داده‌ها نشان داد که رابطه مثبت و معنی‌داری بین میزان نشاسته کاهوی وحشی با ماده آلی، پرولین، قندهای محلول و فنل کل وجود داشت. به‌طوری‌که میزان نشاسته بیشترین میزان همبستگی را با فنل کل (r=۰/۹۲) نشان داد. هم‌چنین همبستگی مثبتی بین میزان نشاسته با پروتئین و آنتوسیانین برقرار بود، اما این رابطه معنی‌دار نبود. در مقابل میزان نشاسته همبستگی منفی و معنی‌داری با میزان خاکستر خام و در سطح احتمال یک درصد نشان داد (جدول ۲).

میزان قندهای محلول: طبق نتایج به‌دست آمده از جدول ۱، اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (p<۰/۰۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان معنی‌دار قندهای محلول به اندام برگ و مخلوطی از اندام‌ها به‌ترتیب معادل ٦۳/۵۸ و ٦۰/۹٦ میلی‌گرذم بر گرم وزن نمونه خشک تعلق داشت. در حالی‌که کمترین این میزان مربوط به اندام ریشه (۲۷/۰۷ میلی‌گرم برگرم) بود (شکل ٦). نتایج تجزیه همبستگی داده‌های ترکیبات شیمیایی نشان داد که یک رابطه مثبت و معنی‌داری بین میزان قندهای محلول با میزان ماده آلی، پروتئین، پرولین، نشاسته، فنل کل و آنتوسیانین وجود داشت. میزان قندهای محلول بیشترین ضریب همبستگی را با میزان ماده آلی (r=۰/۸٤) نشان دادند. لیکن همبستگی منفی و معنی‌داری بین خاکستر خام با صفت مذکور وجود داشت (جدول ۲).



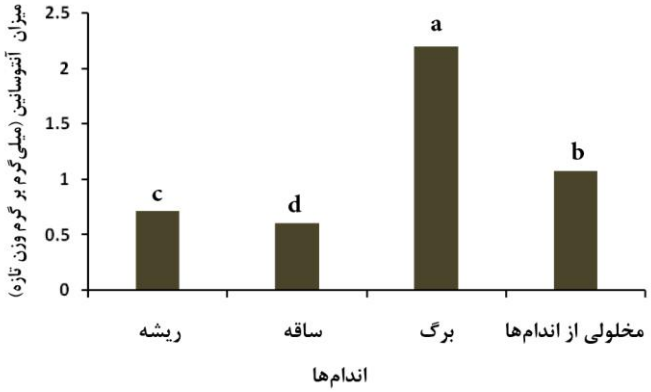
شکل ۵: میزان نشاسته در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها



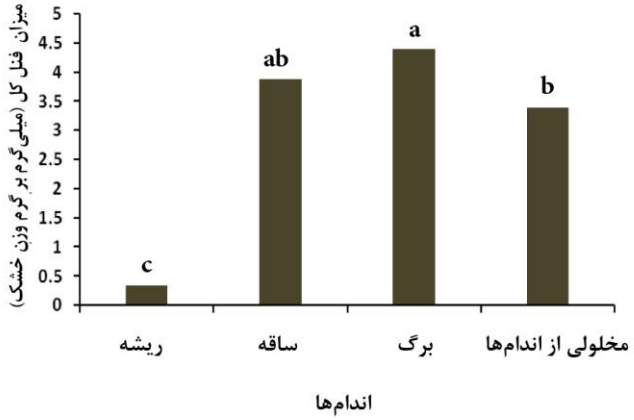
شکل ٦: میزان قندهای محلول در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها

میزان فنل کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اندام‌های مختلف علف‌هرز کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد از لحاظ ترکیب ثانویه میزان فنل کل داشتند (جدول ۱).بیشترین میزان فنل کل به اندام برگ معادل ٤/٣٤ میلی‌گرم برگرم وزن نمونه خشک تعلق داشت، اما تفاوت معنی‌داری با اندام ساقه نشان نداد. در مقابل ریشه با میزان ۰/۳٤ میلی‌گرم بر گرم از کمترین این میزان برخوردار بود (شکل ۷). تجزیه ضرایب همبستگی داده‌ها نشان داد که میزان فنل کل رابطه مثبت و معنی‌داری با ماده آلی، پروتئین، پرولین، نشاسته، قندهای محلول را نشان داد. همبستگی میزان آنتوسیانین با صفت مذکور مثبت ولی معنی‌دار نبود. در مقابل همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان فنل کل و خاکستر خام مشاهده شد (جدول ۲).

میزان آنتوسیانین: نتایج نشان داد که اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها از میزان ترکیب آنتوسیانین متفاوتی برخوردار بودند (جدول ۱). دامنه تغییرات میزان آنتوسیانین بین ۲/۲۰ و ۰/٦۰ میکرو گرم بر گرم وزن تازه بود. بیشترین و کمترین این میزان به ترتیب مربوط به اندام برگ و ساقه بود (شکل ۸). نتایج تجزیه همبستگی صفات نشان داد که رابطه مثبت و معنی‌داری بین میزان آنتوسیانین با میزان ماده آلی، پروتئین و قندهای محلول وجود داشت. بیشترین ضریب همبستگی بین میزان آنتوسیانین با پروتئین برقرار بود (r=۰/۹٤). هم‌چنین رابطه بین آنتوسیانین با نشاسته مثبت ولی غیرمعنی‌دار بود. لیکن همبستگی منفی و معنی‌داری بین آنتوسیانین با خاکستر خام و پرولین مشاهده شد (جدول ۲).

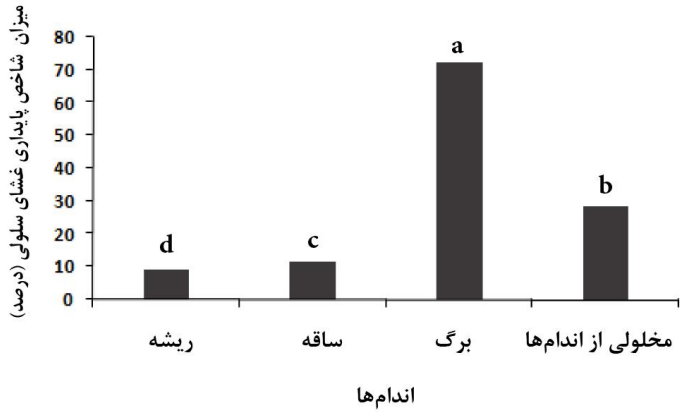


شکل ۷: میزان فنل کل در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها



شکل ۸: میزان آنتوسیانین در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها

شاخص پایداری غشای سلول: بر اساس نتایج، اندام‌های مختلف کاهوی وحشی، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد از لحاظ میزان شاخص پایداری غشای سلولی نشان دادند (جدول ۱). اندام برگ از بیشترین میزان پایداری غشای سلولی معادل ۷۲/۱۵ درصد برخوردار بود. کمترین این میزان به اندام ریشه (۸/۹۳ درصد) تعلق داشت (شکل ۹).



شکل ۹: شاخص پایداری غشای سلولی در اندام‌های مختلف *Lactuca serriola* و مخلوطی از آن‌ها

جدول ۲: نتایج ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی

صفات	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸
میزان ماده آلی	۱							
میزان خاکستر خام	-۰/۱۰**	۱						
میزان پروتئین	۰/۸۵**	-۰/۸۵**	۱					
میزان پرولین	۰/۹٤**	-۰/۹٤**	۰/۸٦**	۱				
میزان نشاسته	۰/۷۳**	-۰/۷۳**	۰/۵۵^{ns}	۰/۸۳**	۱			
میزان قندهای محلول	۰/۸٤**	-۰/۸٤**	۰/٦۷*	۰/۸۰**	۰/٦۷*	۱		
میزان فنل کل	۰/۸۰**	-۰/۸۰**	۰/٦٦*	۰/۸٦**	۰/۹۲**	۰/۸٤**	۱	
میزان آنتوسیانین	۰/۸٤**	-۰/۸٤**	۰/۹٤**	-۰/۸۳**	۰/٤۲^{ns}	۰/٦٤*	۰/۵۲^{ns}	۱

**،*: به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns : بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که یکی از عوامل تاثیرگذار بر میزان متابولیت‌های اولیه و ثانویه در علف‌هرز کاهوی وحشی در مرحله رویشی، نوع اندام‌های گیاهی است. به‌طوری‌که بررسی‌ها نشان داد که اندام برگ کاهوی وحشی به ترتیب از بیشترین و کمترین میزان ماده آلی و خاکستر خام برخوردار بود. با توجه به این‌که برگ منبع اصلی تولید ترکیبات فتوسنتزی و مواد آلی می‌باشد، این امر یک روند قابل قبول می‌باشد. در این مطالعه، میزان پرولین و قندهای محلول در اندام برگ بیشتر از سایر اندام‌ها و مخلوطی از آن‌ها بود. این نتیجه مطابق یافته‌های Essilan (۲۰۱٦) می‌باشد. وی گزارش نمود که میزان تجمع پرولین در برگ‌ها سریعتر و بیش از دیگر اندام‌ها می‌باشد. به‌طورکلی انباشت نسبی میزان بالای ترکیبات پرولین و قندهای محلول در اندام‌ها به‌ویژه اندام برگ، ممکن است به‌دلیل فشار ناشی از رقابت محصول زراعی با گیاه هرز کاهوی وحشی باشد. از آنجایی‌که

اندام برگ اولین منبع جهت تولید ترکیبات قندی و پروتئینی می‌باشد، دور از انتظار نیست که تجزیه این مواد به ترکیبات ساده‌تر سازگار کننده اتفاق افتد. تجمع اسیدهای آمینه در بسیاری از مطالعات انجام شده بر روی گیاهان در معرض تنش غیرزنده مشاهده شده است (Sánchez et al., 2008; Lugan et al., 2010). طبق نتایج، بیشترین میزان فنل کل در کاهوی وحشی در مرحله رویشی به اندام برگ اختصاص داشت. میزان فنل کل رابطه مثبت و معنی‌داری با ترکیبات شیمیایی مورد بررسی بجزء خاکستر خام نشان داد. Pedrol و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که نوع و میزان تولید ترکیبات فنلی وابسته به نوع گونه، اندام گیاهی و شدت تنش زنده و غیر زنده می‌باشد. Bystrická و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که غلظت و تنوع پلی فنل‌ها در اندام‌های گیاه، به گونه، نوع اندام و مرحله رشد گیاه بستگی دارد. در این رابطه Zovko و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی میزان فنل و فلاونوئید کل در اندام‌های مختلف زرشک پرداختند و نشان دادند که بیشترین میزان ترکیبات فوق در برگ گیاه نسبت به اندام‌های دیگر بود که با نتایج این مطالعه همسو بود. Afshar Mohammadian و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی برخی از متابولیت‌های ثانویه دارویی و آنتی‌اکسیدانی *Dittrichia graveolens* L. Greuter. گزارش نمودند که میزان فنل کل و فلاونوئید در اندام‌های مختلف گیاه متفاوت است، به نحوی که این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری در گل و برگ بیشتر از ساقه و در ساقه بیشتر از ریشه است. علاوه بر این، ضریب همبستگی خطی و معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی در عصارهٔ بخش‌های مختلف گیاه وجود داشت. اما نتایج Zeinali و همکاران (۲۰۱۴) در مورد بررسی فیتوشیمیایی گیاه باریجه نشان داد که بیشترین میزان فنل کل در ریشه گیاه و کمترین میزان آن در برگ گیاه باریجه مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین نیز به اندام برگ اختصاص داشت. در گیاهان ترکیبات پلی فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها نقش زیادی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند که این فعالیت مربوط به خاصیت اکسایش و کاهش آن‌ها می‌باشد (Ridle, 1992). Hughes (۲۰۱۱) گزارش نمود که وجود آنتوسیانین‌ها در برگ‌های جوان برخی گونه‌ها برای جلوگیری از حمله برخی حشرات است زیرا چنین برگ‌های جوان و لطیفی بهتر می‌توانند توسط برخی آفات خورده شوند. بنابراین می‌توان گفت اندام برگ به‌دلیل میزان بیشتر ترکیبات فنلی و آنتوسیانین در مرحله رویشی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را دارا است. نتایج هم‌چنین نشان داد که اندام برگ کاهوی وحشی در مرحله رویشی از شاخص پایداری غشای بالاتری نسبت به ساقه، برگ و مخلوطی از اندام‌ها برخوردار بود. این بیانگر تاثیر مثبت تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها و آنتوسیانین در حفظ پایداری غشای سلولی در علف‌هرز کاهوی وحشی می‌باشد. بهره‌گیری از تعیین نشت الکترولیت‌ها و محاسبه شاخص پایداری غشاء یکی از پر کاربردترین نشانگرهایی است که برای تخمین میزان اثر فرآیندهای تخریب‌گر غشاء در بافت‌های گیاهی تحت تأثیر عوامل نامساعد محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Azizpour et al., 2010)

نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه، اندام‌های مختلف کاهوی وحشی و مخلوطی از آن‌ها از مقادیر مختلفی از ترکیبات فیتوشیمیایی اولیه و ثانویه فنل کل و آنتوسیانین‌ها به‌علاوه شاخص پایداری غشای سلولی در مرحله رویشی برخوردار بودند. بیشترین میزان ماده آلی، نشاسته، قندهای محلول و آمینواسیدها مربوط به اندام

برگ بود. به نظر می‌رسد اندام برگ به‌دلیل میزان بیشتر ترکیبات فنل و آنتوسیانین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و به‌مراتب شاخص پایداری غشای سلولی بالاتری را دارا است. همان‌طوری‌که می‌دانیم گیاه کاهوی وحشی به‌عنوان گیاه غیر مفید و هرز در مزارع محسوب می‌شود و هر ساله در اثر وجین و سایر فعالیت‌ها از بین می‌رود. بنابراین با توجه به زیست‌توده بالای این گیاه، ایمنی و سرعت تجزیه‌پذیری ترکیبات طبیعی، پیشنهاد به تجزیه فیتوشیمی سایر ترکیبات موجود در این گیاه و سپس استفاده از آن‌ها جهت مبارزات بیولوژیکی به‌عنوان علف‌کش‌های طبیعی می‌باشد.

References

Afshar Mohammadian, M., Sharifi, M., Abolghasemi, S.N. and Mohammadi, M. (2015). Investigation of some medicinal secondary metabolites and antioxidants of *Dittrichia graveolens* L. Greuter. Nova Biologica Reperta. 2 (2): 140-150. (In Persian)

Agrawal, S., Sairam, R.K., Srivastava, G.C. and Meena, R.C. (2005). Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biology. Plant. 49: 541-550.

AOAC. (2003). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17 editions. 2 revisions. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities.

Azizpour, K., Shakiba, M.R., Khosh Kholg Sima, N.A., Alyari, H., Mogaddam, M., Esfandiari, E. and Pessarakli, M. (2010). Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition. 33:859-873.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Tevre, I.V. (1973). Rapid determination of free proline for water- stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Bystrická, J., Vollmannová, A., Margitanová, E. and Čičová, I. (2010). Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agriculturae Slovenica .95: 225-229.

David, R. and Zbigniew, A. (2010). Aqueous extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) inflorescences suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 2647 murine macrophages. Medicinal Plants Research. 4(3): 225-234.

Ebrahimi, R. (2014). Evaluation of antioxiodant activity, essential oil and total extract of *Perovskia abrotanoides* in various growth stages and assessing antioxidant activity of strongest cells aspect essential oils. Ph.D. Thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)

Essilan, G.S. (2016). Effect of drought stress on slouble sugar, prolin, leaf chlorophyll and seed protein in some sun flower hybrid (*Helianthus annuus* L.). Journal of Irainian Crop Sciences. 47: 175-184. (In Persian)

Farhang, H., Vahabi, M., Alafchian, A. and Tarksh esfahani, M. (2017). Effect of environmental condition on phytochemical traits of *Gundelia tournefortii* L. in Charmahal Bakhtiari and south of Esfahan province, Iran. Rangland Journal. 11 (2): 258-272 (In Persian)

Ghamari, H., Saidi, M., Ghaasemnejaad, A. and Ghanbari, A.R. (2016). Evaluation of phytochemical composition of Sahandian savory (*Satureja sahendica* Bornm.) essential oils at different phenological stages. Journal of Agroecology. 8 (1): 1-16. (In Persian)

Heber D. (2004). PDR for herbal medicine. Third editions. Thomson Company. pp: 495-96.

Hughes, N.M. (2011). Winter leaf reddening in evergreen species. New Phytology. 190: 573-581.

Jun Gu Lee, A., Byoung Yil Lee, B. and Hee Jae Lee, B. (2006). Accumulation of phytotoxic organic acids in reused nutrient solution during hydroponic cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Journal of Scientia Horticulturae. pp:119–128.

Kaykha, Z., Valizadeh, M., Valizadeh, J. and Taheri, Kh. (2017). Studying the

quantity and quality of fatty acids in the seeds of *Withania coagulans* (Stocks) Dun. and *Withania somnifera* (L.) Dun., collected from different habitats of Sistan and Baluchestan. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 33 (5): 730-740.

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Helebust, J.A., CraigieJ. S(Ed): Hand book of physiological methods. Cambridge University. Press, Cambridge. pp: 96-97.

Kulkarni, S.K. and Dhir, A. (2010). Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for entral nervous system disorders. Phytother Research.24 (3): 317-24.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193: 256-275.

Lugan, R., Niogret, M.F., Leport, L., Guegan, J.P., Larher, F.R., Savoure, A., Kopka, J. and Bouchereau, A. (2010). Metabolome and water homeostasis analysis of *Thellungiella salsuginea* suggests that dehydration tolerance is a key response to osmotic stress in this halophyte. Plant Journal. 64: 215–229.

Malick, C.P. and Singh, M.B. (1980). In plant Enzymology and Histo Enzymologhy, Kalyani Publishers, New Dehli.

Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazmiye, H., Asnaashari, S. and Dadpour, M. R. (2012). Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* Lam. (Fabaceae). Journal of Experimental and Clinical Sciences. 11: 436-43.

Omidi, M., Koohzadi, F., Solouki, M., Taghizad, F. and Alizadeh, H. (2012). Comparison of morphinan alkaloids during different stages of growth in the medicinal plant of Opium poppy (*Papaver somniferum* L.). Journal of Medicinal Plants. 11(4): 140-148.

Pedrol, N., Gonzalez, L. and Reigosa, M.L. (2006). Allelopathy and a biotic stress, a Physiological Process with Ecological Implications, Netherlands. pp.171-209.

Rashed Mohassel, M.H., Najafi, H. and Akbarzadeh, M.D. (2001). Weed biology and control. Publication of Ferdowsi University of Mashhad. pp. 404. (In Persian).

Ridle, J.M. (1992). Contraception and Abortion from the Ancient World to the Renaisance. Harvard University Pres, Cambridge, MA.

Samsam Shariat, H. (1999). The extraction and derivation of the constituents of medicinal plants and their identification and assessment methods. Mani Press.pp. 266. (In Persian)

Sánchez, D.H., Siahpoosh, M.R., Roessner, U., Udvardi, M. and Kopka, J. (2008). Plant metabolism reveals conserved and divergent metabolic responses to salinity. Physiologia Plantarum. 132: 209-219.

Soltani, A. (2007). Application of SAS soft ware in statistical analysis. Publication of Jahad-e Daneshgahi Mashhad. pp.182.

Turkan, J.(2008). Study of phonological stage effect and environmental factors on forage quality of several rangeland species. MSc. Thesis of rangeland science, College of Natural Resources, Tehran University. (In Persian)

Thayumanavan B. and Sadasivam S. (1984). Plant Foods for Human Nutrition. 34-253.

Xiangfei, L., Shane, A., Marisa, B., John, P. and Kequan, Z. (2009). Cecil lettuce (*Lactuca sativa* L.) Science Horticulture. 13(2): 56-62.

Zeinali, Z., Hemmati, Kh. and Mazandarani, M. (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: 11-22.

Zovko Koncic, M., Kremer, D. and Karlovic, K. (2010). Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and Berberis croatica Horvat. Food and Chemical Toxicology. 48: 2176-21.