

ارزیابی و مقایسه محتوای فنل، فلاونوئید کل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه در ۱۴ ژنوتیپ مختلف گیاه دارویی *Ziziphus mauritiana* L. در جنوب ایران

بهمن فاضلی نسب^{۱*}، علیرضا سیروس مهر^۲، ناصر میرزایی^۳، مراد سلیمانی^۳

^۱مری پژوهشی، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

^۲استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

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

^۴پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران

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

چکیده

استفاده از ترکیبات طبیعی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسب و ایمنی در مواد غذایی و صنایع دارویی باشند. از این رو هدف از این تحقیق ارزیابی میزان فنل، فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف گیاه کنار بود. در این تحقیق ۱۴ ژنوتیپ بومی گیاه کنار (*Ziziphus mauritiana*) در سال ۱۳۹۵ از مناطق جنوب کشور شامل جیرفت، رودان، میناب و جاسک جمع‌آوری گردید. میزان فنل و فلاونوئید کل بر اساس روش‌های اسپکتروفوتومتری و ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی 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 (۲۰/۴۱۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) و فلاونوئید کل (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 به صورت مجموع نشان داد که ژنوتیپ گیاه کنار در منطقه رودان و سپس ژنوتیپ‌های گیاه کنار در شهر تالار به ترتیب با میزان ۸۳/۰۸۶ و ۸۲/۰۶۶ میکروگرم در میلی‌لیتر ژنوتیپ‌های برتر بودند. در کل عصاره هیدرو الکلی 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 آنتی‌اکسیدانی بودند. با توجه به میزان بالای خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کنار و همچنین به دلیل 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

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 ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌تواند 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، استیلین، 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 از جمله 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 و همکاران (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 از جمله 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 بذرها، 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

جنوبی ایران مانند فارس، هرمزگان، بوشهر، خوزستان، کرمان و جنوب سیستان و بلوچستان به خوبی 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 کف‌کنندگی 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 Haghghat, 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 چپس‌های سبب‌زمینی 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 اعضای خانواده عنابیان) جهت بررسی میزان و خواص مواد آنتی‌اکسیدانی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی: در این تحقیق ۱۴ ژنوتیپ (جدول ۱) بومی گیاه کنار از مناطق جنوب کشور شامل

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 کشورهای 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 از جمله 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 تأیید 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).

کنار (عناب، سدر، رملیک) سرده‌ای از درختان و درختچه‌های تیغ‌دار از تیره عنابیان است که در مناطق گرمسیری و غیرگرمسیری پراکنده و در استان‌های

1. *Ziziphus mauritiana*

جیرفت، رودان، میناب، جاسک جمع آوری و در آزمایشگاه‌های پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱: مشخصات ژنوتیپ‌های کنار مورد استفاده در این تحقیق

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

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل و فلاونوئید کل

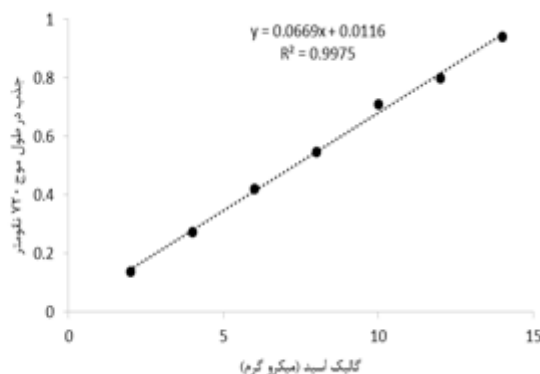
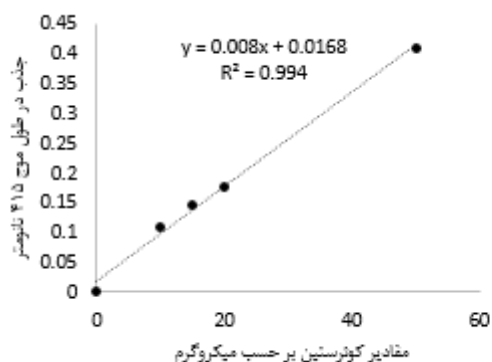
روش تهیه عصاره هیدرو الکلی: مقدار ۱۰ گرم برگ خشک‌شده در سایه و در مجاورت هوا، آسیاب و سپس در ۱۰۰ سی سی محلول (الکل ۷۰ و آب مقطر ۳۰) خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف، سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه روتاری تبخیر و باقیمانده بعد از خشک شدن برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با درجه حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری (Pourmorad et al., 2006) شد. سپس جهت اندازه‌گیری مقدار فنل کل و فلاونوئید، ۱۰۰ میلی‌گرم پودر عصاره در ۱ سی سی 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 فولین سیوکالتیو^۱ (۰.۵٪) 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

منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد (شکل ۱). میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).



شکل ۱: منحنی استاندارد گالیک اسید و کوئرستین جهت اندازه‌گیری مقادیر فنل و فلاونوئید کل

طول موج ۵۱۷ 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 اندازه‌گیری رادیکال DPPH؛
 A_b = جذب بلانک؛ A_s = جذب نمونه یا استاندارد

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 ۱/۱۵ تا ۱۳/۶۵ و میانگین ۴/۶۱ میلی‌گرم

و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری گردید. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما بجای عصاره، همان حجم متانول ۸۰٪ به آن اضافه شده بود. برای رسم

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازه‌گیری رادیکال یا سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی: رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای تعیین فعالیت به دام اندازه‌گیری رادیکال آزاد به کار رفت. ابتدا از عصاره ۴۰ میلی‌گرم وزن نموده در ۲۵ سی‌سی متانول حل و سپس از این محلول سه غلظت ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر برداشته و با DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مول) به حجم ۴ سی‌سی رسانده و سپس در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت قرار داده و نهایت جذب نوری را با تجزیه آماری داده‌ها

داده‌ها بعد از جمع‌آوری و نرمال‌سازی توسط نرم‌افزارهای SAS 9.1 و student statistic 9 ارزیابی و سپس مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از 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

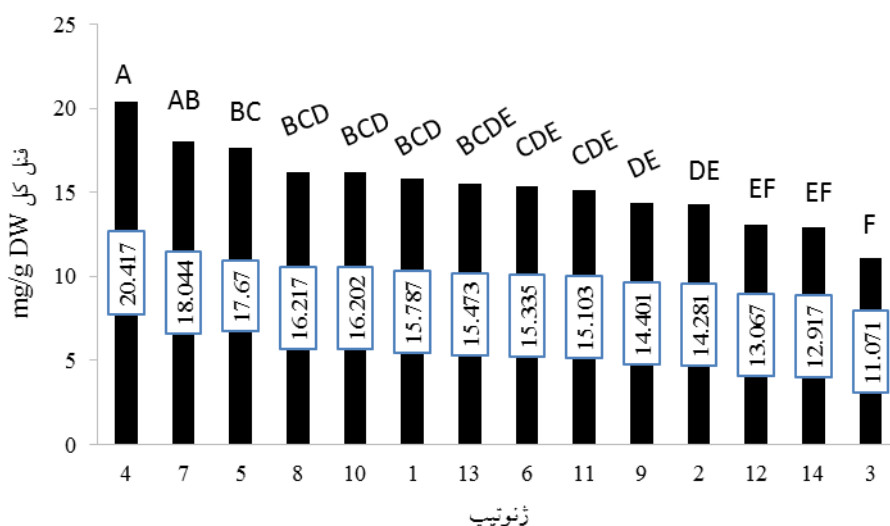
کنار جمع آوری شده از هشتبندی (سه) و کمترین میزان (۱۵/۴۳) در ژنوتیپ‌های کنار جمع آوری شده از شهر شهر رودان (یک) به دست آمد (شکل ۲). در کل عصاره میوه (۲۶/۲۳۹ میلی گرم در گرم ماده خشک) نسبت به عصاره برگ (۴/۶۱۶ میلی گرم در گرم ماده خشک) فنل بیشتری داشت و در مجموع عصاره میوه و برگ، ژنوتیپ کنار رودان (دو) بیشترین میزان فنل (۲۰/۴۱۷ میلی گرم در گرم عصاره خشک) داشت. ضمناً موقعیت جغرافیایی تاثیری بر میزان فنل کل نداشته است.

در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی دار (جدول ۲) و آزمون مقایسه میانگین LSD نیز نشان داد که بیشترین میزان فنل (۱۳/۶۵) در ژنوتیپ‌های کنار جمع آوری شده از شهر رودان (دو) و کمترین میزان (۱/۱۵) در ژنوتیپ‌های کنار جمع آوری شده از شهر تالار به دست آمد. همچنین میزان فنل عصاره میوه ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ۱۵/۴۳ تا ۳۱/۹۷ و میانگین ۲۶/۲۳ میلی گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی دار (جدول ۲) و آزمون تعقیبی LSD نیز نشان داد که بیشترین میزان فنل (۳۱/۹۷) در ژنوتیپ‌های

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

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییر
فلاونوئید	فنل		
۴۴۸/۹۵۲**	۳/۷۸۶ ^{ns}	۳	منطقه
۹۱۹۰۳/۴۳۵**	۹۸۱۸/۰۵۳**	۱	نوع بافت
۵۹۰/۱۹۰۵**	۴۱/۷۴۲**	۱۳	ژنوتیپ
۴۰۷/۷۵۱**	۱۲۹/۱۱۲**	۳	منطقه * نوع بافت
۵۸۵/۲۴۸**	۱۹/۵۷۹**	۱۳	ژنوتیپ * نوع بافت
۶۴۵/۲۸۹**	۵۵/۳۵۶**	۳۹	ژنوتیپ * نوع بافت * منطقه

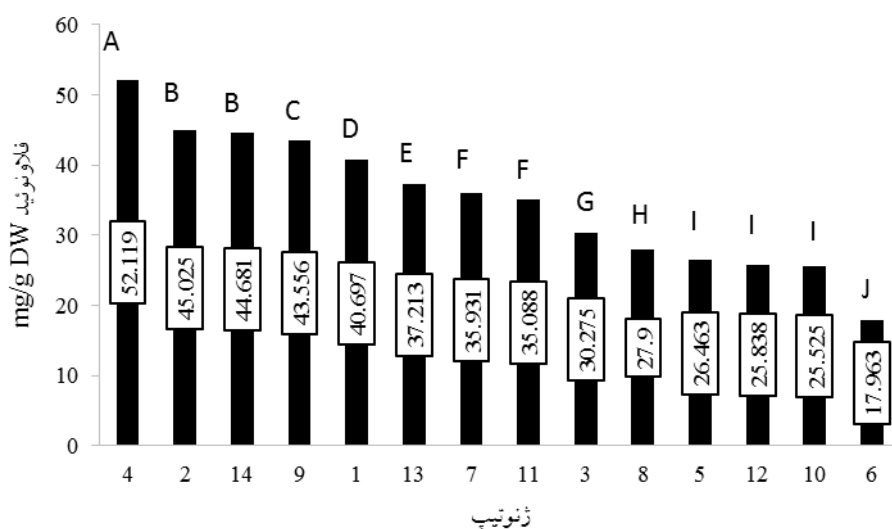
** معنی دار در سطح ۱ درصد



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

شده از شهر هشتبند (پنج) و سپس کنار تالار (۳/۵۲) و کمترین میزان (۰/۱۵) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر هشتبندی (چهار) به دست آمد (شکل ۳). در کل عصاره برگ‌گی (۶۷/۹۵۴ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) نسبت به عصاره میوه (۱/۸ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) فلاونوئید بیشتری داشت. در مجموع عصاره میوه و برگ‌گی بیشترین میزان فلاونوئید (۵۲/۱۱۹ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) متعلق به ژنوتیپ کنار رودان (دو) بود. ضمناً موقعیت جغرافیایی توانسته تاثیر معنی داری بر میزان فلاونوئید داشته باشد (جدول ۲) به طوریکه ژنوتیپ‌های کنار شهرستان رودان و شهرستان جیرفت فلاونوئید بیشتری داشتند (شکل ۴).

فلاونوئید: نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد میزان فلاونوئید عصاره برگ‌گی ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ۳۳/۹ تا ۱۰۲/۹ و میانگین ۶۷/۹۵ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار (جدول ۲) و آزمون تعقیبی LSD نیز نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید (۱۰۲/۹) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر رودان (دو) و کمترین میزان (۳۳/۹) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری شده از شهر هشتبندی (دو) به دست آمد. همچنین میزان فلاونوئید عصاره میوه ژنوتیپ‌های مختلف کنار که در محدوده ۰/۱۵ تا ۶/۷۷ و میانگین ۱/۸۳ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار به طوریکه بیشترین میزان فلاونوئید (۶/۷۷) در ژنوتیپ‌های کنار جمع‌آوری



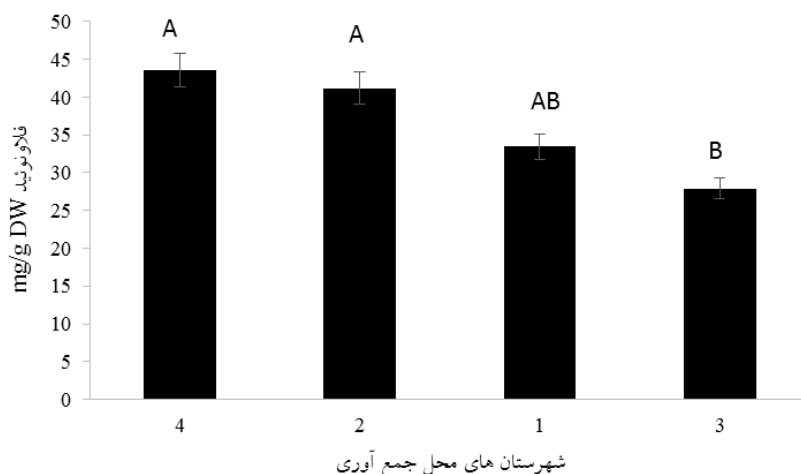
شکل ۳: ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس میزان فلاونوئید کل

ژنوتیپ معنی‌دار بود ($P < 0.01$) (جدول ۲). آزمون تعقیبی LSD نشان داد که عصاره برگ‌گی ژنوتیپ کنار شهر تالار و عصاره هیدروالکلی میوه ژنوتیپ کنار شهر رودان (دو) به ترتیب با میانگین ۸۱/۵۲ و ۸۶/۲۹ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشترین نقش در مهار رادیکال‌های آزاد داشته‌اند. اما بر اساس خاصیت آنتی

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازه رادیکال‌های آزاد: نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازه 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

میکروگرم در میکرو لیتر بود و با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها نیز بیشتر شده است. بر اساس نوع بافت درخت کنار در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد نیز مشخص شد که عصاره برگ (۷۹/۲۰۶) نسبت به عصاره میوه (۷۵/۰۶۶) فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری داشت.

اکسیدانی عصاره برگ و میوه‌ای به صورت مجموع ژنوتیپ کنار رودان (دو) و سپس ژنوتیپ شهر تالار به ترتیب با میزان ۸۳/۰۸۶ و ۸۲/۰۶۴ میکروگرم در میلی لیتر بهترین ژنوتیپ بودند (شکل ۵). در بین غلظت‌های مختلف عصاره، مؤثرترین غلظت، غلظت ۴۰ میکروگرم در میکرو لیتر و کم اثرترین غلظت ۱۶



شکل ۴: مقایسه میانگین کنارهای شهرستان‌های مختلف بر اساس میزان فلاونوئید کل

جدول ۳: ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌ها و غلظت‌های مختلف بافت برگ و میوه کنار براساس DPPH

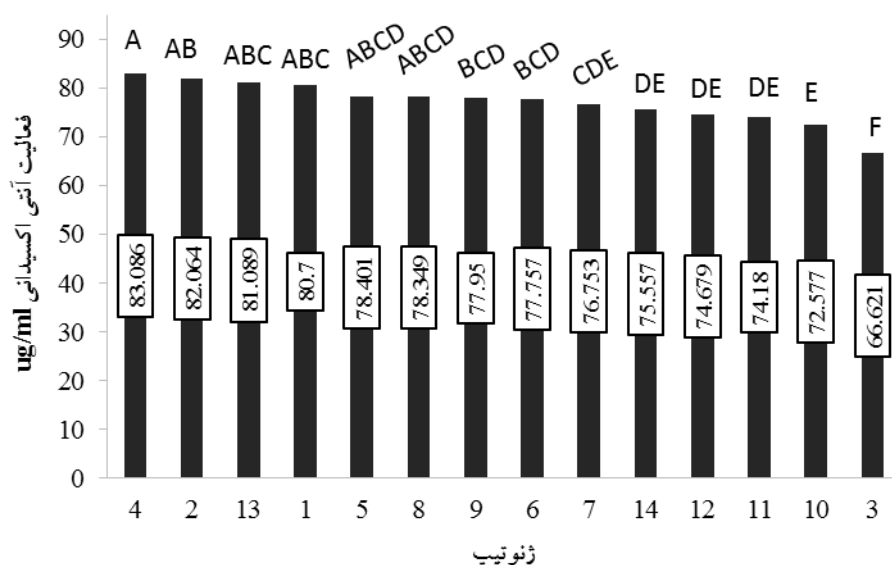
F	MS	SS	df	منابع تغییر
۶۳۱**	۱۱۱/۱۸۱	۱۴۴۵/۳۵	۱۳	ژنوتیپ
۲۰/۶۳**	۳۶۳/۵۳۲	۳۶۳/۵۳	۱	غلظت
۵۳/۳۷**	۹۴۰/۲۶۷	۱۸۸۰/۵۳	۲	بافت
۶/۵۱**	۱۱۴/۷۷۷	۱۴۹۲/۱۱	۱۳	ژنوتیپ * بافت
۰/۹۹ ^{ns}	۱۷/۵۱۹	۴۵۵/۴۸	۲۶	ژنوتیپ * غلظت
۱۸/۶۴**	۳۲۸/۳۵۷	۶۵۶/۷۱	۲	بافت * غلظت
۲/۷**	۴۷/۵۷	۱۲۳۶/۸۲	۲۶	ژنوتیپ * بافت * غلظت
	۱۷/۶۱۹	۴۵۸/۱۱	۲۶	خطا
		۶۷۵۱/۸۳	۱۰۹	کل

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

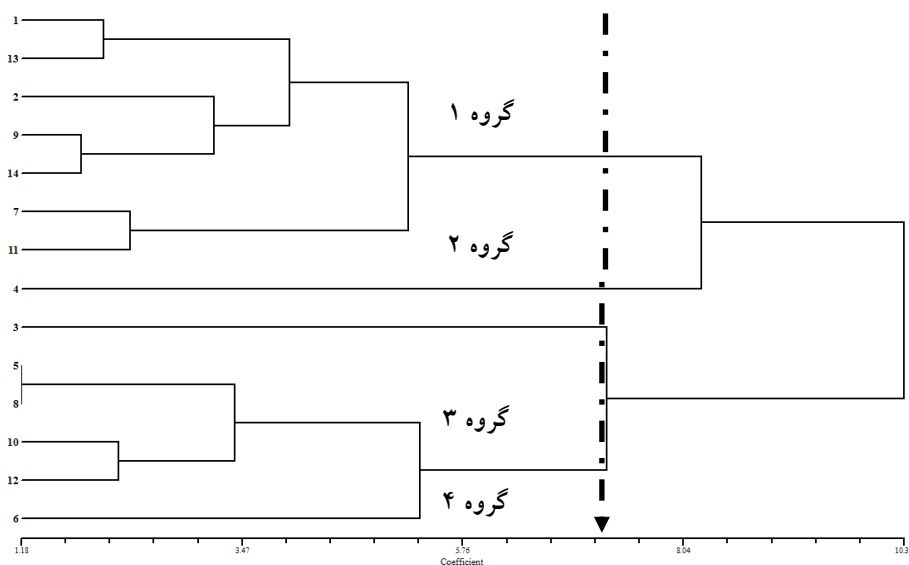
تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف کنار را در چهار گروه مختلف قرار داد به طوری که بر اساس موقعیت جغرافیایی نیز از همدیگر تفکیک نشدند (شکل ۶).

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



شکل ۵: ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس DPPH



شکل ۶: تجزیه خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف کنار بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA

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., 2002; Olfati et al., 2012) و از طرفی فاصله

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

ژنتیکی ممکن است با صفات مطلوب مرتبط باشد در نتیجه می توان پس از بررسی های بیشتر، از آن ها در برنامه های به نژادی استفاده کرد (Bahari et al., 2015). لذا بر این اساس چون بیشترین فاصله ژنتیکی مربوط به جمعیت های گیاه کنار در منطقه رودان و کنار در منطقه هشتبندی بوده و بیشترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به ژنوتیپ کنار رودان بود در نتیجه می توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی کنار بهتر است ژنوتیپ کنار رودان (دو) به عنوان یکی از پایه های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب کرد.

بحث

نتایج حاصل از تجزیه داده ها نشان داد که میزان فنل کل در عصاره هیدرو الکلی برگی ژنوتیپ های مختلف کنار در محدوده ۱/۱۵ تا ۱۳/۶۵ و میانگین ۴/۶۱ میلی گرم در گرم عصاره خشک بوده و میزان فلاونوئید عصاره هیدرو الکلی برگی در محدوده ۳۳/۹ تا ۱۰۲/۹ و میانگین ۶۷/۹۵ میلی گرم در گرم عصاره خشک بوده است. همچنین میزان فنل عصاره میوه ژنوتیپ های مختلف کنار که در محدوده ۱۵/۴۳ تا ۳۱/۹۷ و میانگین ۲۶/۲۳ میلی گرم در گرم عصاره خشک بوده و میزان فلاونوئید عصاره میوه ژنوتیپ های مختلف کنار در محدوده ۰/۱۵ تا ۶/۷۷ و میانگین ۱/۸۳ میلی گرم 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 (۲۰/۴۱۷ میلی گرم در گرم عصاره خشک) داشت. ضمناً موقعیت جغرافیایی تأثیری بر میزان فنل کل نداشته است. در مجموع عصاره میوه و برگ بیشترین میزان فلاونوئید (۵۲/۱۱۹ میلی گرم در گرم عصاره خشک) متعلق به ژنوتیپ کنار رودان (دو) بود. ضمناً موقعیت

جغرافیایی توانسته تأثیر معنی داری بر میزان فلاونوئیدکل داشته باشد به طوریکه ژنوتیپ های 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 ۸۳/۰۸۶ و ۸۲/۰۶۴ میکروگرم در میلی لیتر بهترین ژنوتیپ بودند و بر اساس نوع بافت درخت کنار در به دام اندازی رادیکال های آزاد نیز مشخص شد که عصاره هیدرو الکلی برگی نسبت به عصاره هیدرو الکلی میوه فعالیت آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی اجزای کنار، مقایسه خواص این گیاه یا نمونه های مشابه گزارش شده در سایر گیاهان می باشد. قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2009) میزان فلاونوئید پوست رقم ساتسوما را ۰/۳ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره؛ جانگ و همکاران (Jang et al., 2010) میزان فنل کل را در پوملو ۰/۲۱۴ میلی گرم در گرم عصاره، گرنستین و همکاران (Gorinstein et al., 2001) محتوای فنلی ارقام لمون، پرتقال و گریپ فروت را به ترتیب ۱/۹، ۱/۸ و ۱/۶ میلی گرم در گرم عصاره؛ فتاحی مقدم و همکاران (Fatahi moghadam et al., 2011) نیز در تحقیقی جهت ارزیابی برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی پوست میوه شش رقم مرکبات، میزان فنل کل ارقام (تامسون (۰/۳)، سیاورز (۰/۴۹)، مورو (۰/۳۷)، سانگینلا (۰/۱۹)، تاراگو (۰/۱۳) و پیچ (۰/۴۳) میلی گرم در گرم عصاره) و در گزارش همتی و همکاران (Hemmati et al., 2015) نیز بیشترین میزان

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 و میرزایی (Fazeli-Nasab and Mirzaei, 2017) مشخص شد که محیط تأثیری بر میزان فلاونوئید و فنل مرکبات نداشته است. در تحقیق حاضر نیز محیط تأثیری 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 به ترتیب ۹/۶ و ۱۱/۱ میلی‌گرم در گرم عصاره، ولی‌زاده و همکاران (Valizadeh et al., 2015) میانگین محتوای فنل کل در عصاره ریشه گیاه پنیر باد ۲۰/۴۱ و فلاونوئید از ۵/۷۱ تا ۶/۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک، جمشیدی و همکاران (Jamshidi et al., 2010) میانگین محتوای فنل کل در هشت گیاه از خانواده *Apeacea* و *Lamiacea* ۴۷/۵۸ و فلاونوئید ۸۴/۵۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گزارش کردند و در تحقیق حاضر نیز بیشترین میزان فنل (۳۲/۶۶ میلی‌گرم در گرم) و فلاونوئید (۱۰۲/۹ میلی‌گرم در گرم) به دست 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 به جای 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 لازم را از آن‌ها نمود.

فلاونوئید (۰/۲۴ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) در پایه یوزو و کمترین میزان (۰/۱۱۵) در پایه شل محله به دست آمد و همچنین در تمام ارقام مورد مطالعه میزان ترکیبات فنلی پوست را بیشتر از گوشت میوه گزارش دادند. در ضمن در تحقیق حاضر میزان فنل برگ کنار از ۱/۱۵ تا ۱۳/۶۵ میلی‌گرم در گرم عصاره، فنل میوه از ۱۵/۴۳ تا ۳۱/۹۷ میلی‌گرم در گرم عصاره و فلاونوئید برگ از ۳۳/۹ تا ۱۰۲/۹ و فلاونوئید میوه از ۰/۱۵ تا ۶/۷۷ میلی‌گرم در گرم عصاره بود که خیلی بیشتر از فنل و فلاونوئید پوست و گوشت مرکبات بود.

در تحقیق حاضر میزان فلاونوئید کل برگ گیاه کنار در عصاره زیاد بوده و حتی بیشتر از عصاره میوه بوده (Rehman, 2003). لذا با توجه به عملکرد آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها می‌توان به جای 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 و همکاران (Fatahi moghadam et al., 2011) میزان فنل پوست ارقام مرکبات ایران کمتر از مقادیر گزارش شده در لمون‌ها و گریپ فروت بوده و در تحقیق فاضلی نسب و میرزایی (Fazeli-Nasab and Mirzaei, 2017) نیز میانگین فنل ژنوتیپ‌های ایران (۰/۲۴) (میلی‌گرم در گرم) در مقابل ژنوتیپ‌های مرکبات خارجی (۰/۲۹) (میلی‌گرم در گرم) بود اما میزان فلاونوئید ژنوتیپ‌های مرکبات ایران (۰/۲۲) در مقابل ژنوتیپ‌های خارجی (۰/۲۰) بوده است اما در تحقیق حاضر میزان فنل کل (میانگین ۲۶/۲۳ میلی‌گرم در گرم عصاره)، فلاونوئید (۱/۸۳ میلی‌گرم در گرم عصاره) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی میوه کنار خیلی بیشتر از مرکبات بوده لذا توصیه میشود میوه کنار در رژیم غذایی بیشتر مورد استفاده قرار گیرد.

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 to heterosis in maize as revealed by sssr-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 sellowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacology online*, 1: 7-14.
- طبق گزارش جمشیدی و همکاران، شارما و همکاران (Sharma et al., Jamshidi et al., 2010) گیاهان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی بالا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند به طوری که عصاره برگ گیاه علف مار با داشتن بیشترین محتوای 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 برگگی و میوه درختان کنار بالا بوده به همین منوال نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی (میوه از ۴۵/۴۹ تا ۸۸/۶۶ و برگ از ۶۹/۳۱ تا ۸۳/۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) نیز داشته‌اند.
- ### نتیجه‌گیری کلی
- در کل نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی میوه بیشترین میزان فنل و عصاره برگگی بیشترین میزان فلاونوئید را داشته‌اند. ژنوتیپ کنار رودان (دو) و سپس ژنوتیپ کنار تالار بهترین ژنوتیپ‌ها از لحاظ خواص آنتی‌اکسیدانی به ترتیب با میزان ۸۳/۰۸۶ و ۸۲/۰۶۴ 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 Haghghat, E. 2012. A review of phytochemistry and medicinal properties of jujube (*Ziziphus Vulgaris* L.). *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, 1: 89-97.

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. Phenotypic diversity and evaluation 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., Číž, 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. Relationship 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.