دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "حفاظت زیست بوم گیاهان"
دوره پنجم، شماره دهم، پاییز و زمستان ۹۶
http://pec.gonbad.ac.ir

# بررسی میزان تغییرات برخی مواد موثره عصاره اندامهای گیاه هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis L. Schrab*) در دو رویشگاه استان سیستان و بلوچستان

**مرتضی صابری*[۱]، حمید نیک نهاد[۲]، غلامعلی حشمتی[۳] ، حسین بارانی[۴]، علیرضا شهریاری[۵]**

[۱] استادیار گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده آب و خاک، دانشگاه زابل، زابل
[۲] استادیار دانشکده مرتع و آبخیزداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
[۳] استاد دانشکده مرتع و آبخیزداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
[۴] دانشیار دانشکده مرتع و آبخیزداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
[۵] دانشیار دانشکده علوم زیست محیطی و کشاورزی پایدار، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۲۴

**چکیده**

**گیاه هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) از گونه‌های گیاهی دارویی ارزشمند و سازگار با تپه‌های ماسه‌ای مناطق بیابانی است که برای درمان بیماری‌های متعددی نظیر التهاب، روماتیسم و دیابت توصیه می‌شود. در پژوهش حاضر بخش‌های مختلف این گیاه (ساقه، برگ، میوه و بذر) در دو مرحله رشد (گل‌دهی و بذردهی) از دو رویشگاه استان سیستان و بلوچستان (زابل و سراوان) به صورت تصادفی جمع‌آوری شد و محتوای فنل، فلاونوئید کل و عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه مطالعه گردید. محتوای فنل و فلاونوئید کل عصاره‌های متانولی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش به دام‌اندازی رادیکال آزاد اندازه‌گیری گردید. این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار انجام گردید. نتایج نشانگر آن است که عوامل رویشگاه، مرحله فنولوژیک و اندام گیاه هر کدام به‌صورت جداگانه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنل و فلاونوئید کل این گیاه اثر معنی‌دار دارند ($P<$ ۰/۰۱). اثر متقابل رویشگاه در اندام گیاه و رویشگاه در مراحل فنولوژیک نیز بر کلیه ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار می‌باشد ($P<$ ۰/۰۵). بنابر نتایج بدست آمده، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره برگ گیاه هندوانه ابوجهل از رویشگاه سراوان (۴۴/۷۷ درصد) و مرحله گلدهی بدست آمد. بیشترین مقدار فنل کل نیز، در عصاره ساقه (۱۵/۸۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک)، مرحله گلدهی و رویشگاه زابل مشاهده شد. بالاترین مقدار فلاونوئید در عصاره میوه (۱۲/۷۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک)، مرحله گلدهی از رویشگاه زابل بدست آمد. نتایج نشان داد که عصاره گیاه در مرحله گلدهی حاوی بیشترین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی بوده و از بالاترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار است. بطور کلی عصاره اندام‌های گیاه هندوانه ابوجهل در رویشگاه زابل از ترکیبات فنل، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی بهتری برخوردار و جهت استفاده توصیه می‌شود.**

***واژه‌های کلیدی:*** **هندوانه ابوجهل، رویشگاه، فنولوژی، آنتی‌اکسیدان، سیستان و بلوچستان**

*نویسنده مسئول: m_saberi63@yahoo.com

**مقدمه**

تنوع کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی و نیزعملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی تحت شرایط اکولوژیکی متفاوت باعث شده تا در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌ها به عنوان منبعی ارزشمند و طبیعی از آنتی‌اکسیدان‌های جدید مطرح شوند. لذا، رویکرد سازمان بهداشت جهانی به سمت انجام تحقیقات کاربردی جهت شناسایی گونه‌های دارویی بومی، شناسایی مواد موثره ثانوی، ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی نیازهای اکولوژیکی و اخذ اطلاعات ارزشمند دارویی بومی با هدف تولید داروهای طبیعی و آنتی اکسیدان منطبق با عملکرد آن‌ها در طب سنتی است (Mazandarani et al., 2012). از آنجایی که تنوع پوشش گیاهی و کیفیت مواد موثره دارویی در گیاهان هر منطقه، متاثر از تنش‌های اکولوژیکی و حتی فنولوژی گونه‌های آن منطقه می‌باشد (Yuan and lin, 2000)، لذا رویکرد سازمان بهداشت جهانی به سمت شناسایی نیازهای اکولوژیک گونه‌ها در رویشگاه‌های طبیعی، استخراج مواد موثره و از همه مهمتر بررسی خواص آنتی اکسیدانی آنها با هدف احیا، کشت، استخراج مواد موثره طبیعی و تولید داروهای طبیعی و کم خطر می‌باشد (Bodeker, 2000).

هندوانه ابوجهل *(Citrullus colocynthis)* یا خربزه روباه که در کتاب‌های سنتی با نام‌های"حنظل" و "مراره الصحاری" و "علقم" نام برده شده است، از گیاهان دارویی خانواده کدوییان (Cucurbitaceae) می‌باشد. این گیاه بومی ایران بوده و در نواحی جنوبی کشور و مناطقی همچون جنوب استان خراسان، کرمان، سیستان و بلوچستان و بندرعباس یافت می‌شود. هندوانه ابوجهل از با ارزش‌ترین گونه‌های گیاهی و دارویی بیابانی و حاشیه کویر است که با توجه به پراکنش بسیار زیاد آن، از جنبه حفاظت خاک نیز حائز اهمیت می‌باشد. مزیت این گیاه نسبت به گیاهان دارویی دیگر، مصرف آن در اشکال مختلف دارویی است. از میوه گیاه به‌طور گسترده در کنترل قند خون و درمان دیابت استفاده می‌شود (Ghaithi et al., 2004). میوه این گیاه دارای گلیکوزیدهای تلخ (کلوسنتین، سیترولین)، مواد رزینی، پکتین، صمغ، آلفا- الاترین ساپونین، آلکالوئید، و تانن بوده و دانه‌های این گیاه دارای ۵۳ درصد روغن و ۲۸ درصد پروتئین می‌باشد. ریشه گیاه نیز حاوی آلفا- الاترین، هنتریاکونتان و ساپونین است (Bankole et al., 2005). روغن این گیاه می‌تواند مورد مصرف غذایی، دارویی و حتی صنعتی قرار گیرد (Yaniv et al., 1999). ترکیبات روغن هندوانه ابوجهل مشابه روغن کلزا بوده و دارای ۸۰ تا ۸۵ درصد اسید چرب غیر اشباع است ( Yokota et al., 2002). توکل افشاری و همکاران (۱۳۸۴) نشان دادند که اثر سیتوتاکسیسیتی عصارهٔ گیاهی هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) جهت مهار رشد و نابودی برخی سلولهای سرطانی نظیر سرطان حنجره کاربرد دارد. فلاح حسینی و همکاران (۱۳۸۴) با بررسی تاثیر میوه هندوانه ابوجهل بر فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم دریافتند که تجویز هندوانه ابوجهل به بیماران دیابتی موجب کاهش معنی دار میزان هموگلوبین و گلیکوزیله قند خون ناشتا شده است.

عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد. هر یک از این عوامل می‌توانند تاثیر به سزایی بر کمیت و

کیفیت محصول گیاهان داشته باشند (حبیبی و همکاران، ۱۳۸۵). نتایج تحقیق انجام شده در خصوص تاثیر ارتفاع بر خصوصیات کمی و کیفی هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) در نواحی مختلف جنوب کرمان (جیرفت، کهنوج و قلعه گنج) نشان داد که منطقه جیرفت به دلیل اقلیم، ارتفاع و خاک متفاوت در مقایسه با سایر مناطق مورد مطالعه، دارای عملکرد رویشی (وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه، وزن خشک میوه و وزن خشک کل گیاه) بیشتر معنی‌داری می باشد، اما در مقدار مواد موثره موجود در میوه این گیاه در مناطق مطالعه شده تفاوت معنی‌داری دیده نشد و در نهایت کشت وسیع هندوانه ابوجهل در منطقه جیرفت توصیه شده است (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۰). تاثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف بررسی شده است و در اکثر موارد بر نقش رویشگاه به عنوان عامل تأثیرگذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است (Srivastava and Shym, 2002). عوامل اکولوژیکی نیز مانند عوامل ژنتیکی می‌توانند بر تولید و مقادیر ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان دارویی موثر واقع گردند. بطوریکه در بررسی انحام شده درباره تأثیر عوامل اکولوژیکی بر درصد بازده اسانس درختچه مورد در رویشگاه‌های مختلف جنگلی استان لرستان نشان داده شد که مولفه فیزیوگرافیک، ارتفاع از سطح دریا و همچنین میزان سدیم خاک نقش برجسته‌ای بر درصد بازده اسانس درختچه مورد (*Myrtus communis*) دارند (میرآزادی و همکاران،۱۳۹۱). بررسی تأثیر عوامل اکولوژیک مختلف بر کمیت و کیفیت ماده موثره گیاه دارویی آویشن کرک‌دار (*Thymus eriocalyx*) در استان‌های همدان، مرکزی، کرمانشاه و کردستان نشان داد که بیشترین مقدار اسانس از لحاظ کمی مربوط به همدان، کوه خان گرمز، ارتفاع ۱۸۵۰-۱۸۰۰ متر و شیب شمالی و کمترین مقدار مربوط به منطقه کردستان، سقز، روستایی ملقرنی، ارتفاع ۱۷۵۰- ۱۶۵۰ و در شیب شمال و شمال شرقی است (کلوندی، ۱۳۸۲).

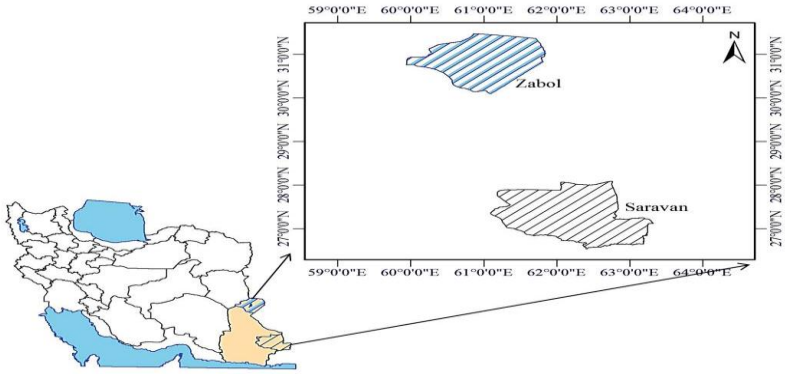
شواهد نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در گیاهان موجب کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های تحلیل‌برنده شده و باعث اثر محافظتی در مقابل استرس‌های اکسیداتیو می‌گردند. این اثرات ممکن است به طبیعت آنتی‌اکسیدان‌ها (اسیدهای فنلی، فلاونوییدها، ترینوئیدها، ویتامین E و غیره) که توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را داشته و محافظت از سلول‌ها در آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند، بازگردد (Konyahoglu, 2004). در دهه‌های اخیر به عصاره و اسانس استخراجی از گیاهان مختلف به‌عنوان منابع تولیدات طبیعی دارای پتانسیل کاربرد در درمان‌های جایگزین بر علیه بسیاری از بیماری‌های عفونی و حفاظت از مواد غذایی در برابر اثرات اکسیدانتی، توجه زیادی شده است، گیاهان یکی از منابع مهم آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند و گیاهان غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو شوند (Kumaran and Karunakaran, 2006). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ابتلا به بیماری‌هایی از قبیل سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته‌های مغزی را کاهش می‌دهند (Prior and Cao, 2000). نتایج پژوهش انجام شده توسط طبیبیان و همکاران (۲۰۱۳) نشانگر آن است که علت افزایش تعداد و تحرک اسپرم و نیز سطح تستوسترون تحت تأثیر عصاره کنگر علوفه‌ای (*Gundelia tournefortii*)، افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله کوئرستین می‌باشد (Tabibian et al., 2013). کوئرستین، از

فلاونوئیدهای بدون گلیکوزید طبیعی است که در بسیاری از گیاهان یافت می‌شود. فلاونوئید بدون گلیکوزید آنتی اکسیدان قوی‌تری نسبت به فلاونوئید گلیکوزیددار است. بسیاری از مطالعات نشانگر اثر آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی ماده کوئرستین است و لذا عصاره متانولی کنگرعلوفه ای دارای ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Ebrahimi and Mohamadi Sani, 2015). در خصوص بررسی ترکیبات ثانویه بذر باریجه (*Ferula gummosa*) نتایج نشان داد که نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف با ارتفاع یکسان، دارای ترکیبات ساختاری متفاوتی می‌باشند، بطوریکه نمونه‌های برداشت شده از مناطق گرم در قیاس با مناطق سردتر، دارای ترکیبات بیشتری بودند (Talebi Kouyakhi et al., 2008). مطالعه اثر آنتی اکسیدانی عصاره اندام‌های مختلف گیاه دارویی باریجه (*Ferula gummosa*) در دو رویشگاه مختلف استان خراسان رضوی نشان داد که بیشترین فنل و فلاونوئید کل متعلق به عصاره متانولی ریشه گیاه در رویشگاه پناهگاه حیات وحش حیدری نیشابور بوده و بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی نیز، مربوطه به عصاره متانولی گل‌های گیاه در منطقه قوچان می‌باشد (Zeinali et al., 2014).

استان سیستان و بلوچستان عرصه وسیع بیابانی با پوشش گیاهی فقیر وگیاهانی که توان تحمل و رویش در این منطقه را دارند محدود می‌باشند. هندوانه ابوجهل از جمله گیاهانیست که اهمیت زیست محیطی، حفاظتی، دارویی، سازگار با شرایط سخت محیطی، تحمل شوری و خشکی بالا، مکانیسم و سیستم ریشه ای عمیق که توانایی انطباق فوق العاده‌ای برای رشد در خاک‌های داغ شنی در ماه‌های تابستان جای که به ندرت گیاهی می‌تواند زنده بماند را دارد. لذا جهت شناخت هر چه بیشتر باید مطالعات جامعی بر روی کلیه جنبه های اکولوژی، فیزیولوژی و کمیت و کیفیت مواد موثره آن برای مناطق مختلف صورت گیرد. با توجه به کاربرد این گیاه در صنعت پزشکی و داروسازی و نظر به اهمیت دارویی آن در درمان بیماری‌ها، مطالعه حاضر با هدف شناخت محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه در مراحل مختلف رشد و اندام‌های مختلف گیاه انجام گرفت تا بتوان مرحله و اندامی که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و خصوصیت آنتی‌اکسیدانی را دارد، انتخاب و برداشت نمود.

## مواد و روش‌ها

**معرفی منطقه مورد مطالعه**: استان سیستان و بلوچستان با وسعتی بالغ بر ۱۸۷۵۰۲ کیلومتر مربع معادل ۱۱/۵ درصد مساحت کشور را به خود اختصاص داده است. این استان بین ۲۵ درجه و ۳ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۹ دقیقه عرض شمالی و ۵۸ درجه ۴۹ دقیقه تا ۶۳ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی واقع شده است. به علت قرار گرفتن در عرض جغرافیایی پایین، از آب و هوایی گرم و خشک برخوردار است و در بیش از نیمی از سال تحت تسلط سیستم پرفشار جنب حاره قرار دارد. همین عامل باعث گرم و خشک شدن هوا می شود (رضیئی، ۱۳۸۶). موقعیت جغرافیایی و اطلاعات اقلیمی رویشگاه‌های زابل و سراوان در شکل ۱ و جدول ۱ آورده شده است.




**شکل ۱- موقعیت دو رویشگاه مورد مطالعه**

**جدول ۱- اطلاعات اقلیمی رویشگاههای مورد مطالعه در استان سیستان و بلوچستان**

| شهرستان | نوع اقلیم بر اساس طبقه بندی گوسن | ارتفاع از سطح دریا (متر) | میانگین درجه حرارت سالیانه (سانتی‌گراد) | متوسط بارندگی سالیانه (میلی‌متر) | درصد رطوبت نسبی |
|---|---|---|---|---|---|
| زابل | منطقه بیابانی | ۴۸۰ | ۲۲ | ۶۰ | ۳۸ |
| سراوان | منطقه بیابانی | ۱۱۹۵ | ۲۲ | ۱۰۷ | ۲۹ |

**روش نمونه برداری:** ابتدا مناطق پراکنش گیاه هندوانه ابوجهل در دو رویشگاه زابل و سراوان به وسیله کارشناسان مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی و بازدیدهای صحرایی تعیین گردید. سپس در هر رویشگاه اندام‌های برگ، ساقه و میوه در مراحل مختلف فنولوژیک (گل‌دهی و بذردهی) به‌صورت تصادفی از ۱۵ پایه گیاه هندوانه ابوجهل در مناطق مختلف هر رویشگاه در اردیبهشت و مرداد ماه ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. سپس، نمونه‌ها پس از پاکسازی، خشک شده و آسیاب شدند و جهت انجام آنالیزهای فیتوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند.

**آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت تهیه عصاره متانولی:** جهت تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده شد. بدین‌منظور، 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 ۲۴ ساعت، مخلوط فوق با سرعت 3000 rpm سانتریفوژ شده و عصاره جهت سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل جدا گردید (Sukhdev et al., 2008). فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH اندازه‌گیری گردید (Burtis and Bucar, 2000). در این روش، از ماده DPPH، که یک ترکیب رادیکالی پایدار چربی دوست با حداکثر جذب ۵۱۷ نانومتر می‌باشد، استفاده می‌شود. 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 باشد، میزان بی رنگ شدن بیشتر خواهد بود. رادیکال پایدار DPPH به مقدار ۰/۰۰۴۷ گرم در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول حل شد تا غلظت $6 \times 10^{-5}$

میلی‌مولار از آن بدست آید. سپس از هر عصارهٔ گیاهی با استفاده از حلال متانول، چهار غلظت ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام به صورت رقیق کردن از عصارهٔ غلیظ قبلی تهیه شد. لازم به ذکر است که عصارهٔ ابتدایی با حداکثر غلظت 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 و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ گیاهی تهیه شده با غلظت‌های مختلف به داخل لوله‌ها اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شده و سپس میزان جذب آنها با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید. علاوه بر لوله‌های مذکور یک لوله جهت نمونه بلانک در نظر گرفته شد. این لوله حداکثر 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 دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین گردید.

$$\%I = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100$$

که در این رابطه $A_c$ و $A_s$ به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند. به منظور 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 ، ۱۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۲۰ درصد اضافه گردید و نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. برای تهیهٔ نمونه بلانک کلیهٔ ترکیبات شرکت کننده به میزان فوق الذکر بدون حضور عصاره گیاهی در لولهٔ آزمایش جهت صفر کردن دستگاه استفاده شد. به منظور تهیه منحنی استاندارد از غلظت های 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). بمنظور سنجش میزان فلاونوئید کل به تعداد نمونه‌ها لوله آزمایش آماده و به داخل هرکدام ۰/۲ میلی‌متر از عصارهٔ گیاهی تهیه شده اضافه گردید. سپس به هر لوله آزمایش، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۰/۲ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر استیک اسید ۰/۳۳ اضافه و به خوبی هم زده شد و در نهایت مخلوط واکنش را با متانول 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 ۴۱۴ نانومتر قرائت گردید و میزان فلاونوئید کل برحسب میلی گرم در گرم وزن خشک گیاهی تعیین گردید. برای تهیهٔ نمونه بلانک کلیهٔ ترکیبات ذکر شده در بالا، مقادیر فوق الذکر بدون حضور عصاره در لولهٔ آزمایش ریخته شد و 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, 2005).

.

## تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS برای هر تیمار با ۴ تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چنددامنه‌ای دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) انجام گرفت.

## نتایج

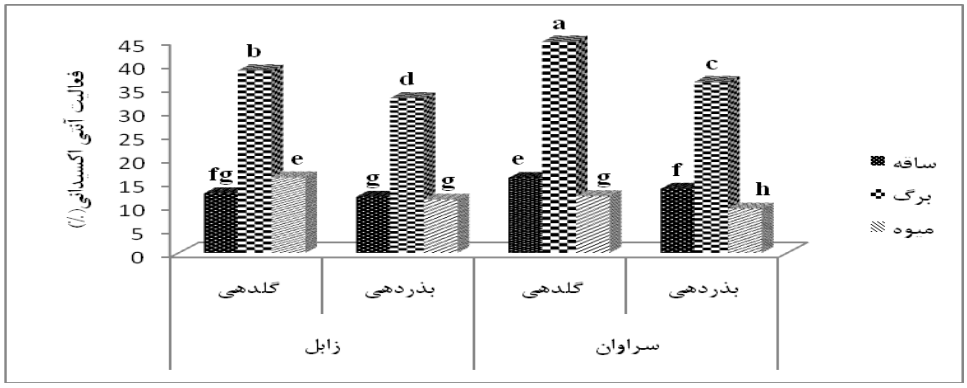
نتایج تجزیه واریانس ترکیبات فنل، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه هندوانه ابوجهل در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج، عوامل رویشگاه، مراحل فنولوژی و اندام گیاه هرکدام بصورت جداگانه با اطمینان ۹۹ درصد بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی فنل و فلاونوئید کل این گیاه اثر معنی‌دار دارند. اثر متقابل رویشگاه در مراحل فنولوژی بر روی فنل و فلاونوئید کل در سطح یک درصد آماری معنی‌دار است. اثر متقابل رویشگاه در اندام گیاه بر روی کلیه ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی در سطح یک درصد آماری معنی‌دار می‌باشد. همچنین اثر متقابل اندام گیاه در مراحل فنولوژی بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح یک درصد و میزان فلاونوئید در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده اما بر میزان فنل معنی‌دار نمی‌باشد. اثر رویشگاه در اندام گیاه در مراحل فنولوژی بر کلیه ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی در سطح ۵ درصد آماری معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲).

**جدول ۲- تجزیه واریانس ترکیب های فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی هندوانه ابوجهل تحت تأثیر رویشگاه، اندام گیاه و مراحل فنولوژی**

| منابع تغییر | درجه آزادی | مهار رادیکال آزاد (٪) DPPH | فلاونوئید کل (mg QE g-1 DW) | فنل کل (mg GAE g-1 DW) |
|---|---|---|---|---|
| رویشگاه | ۱ | ۱۶/۶$^{**}$ | ۲۵۲/۴$^{**}$ | ۸۲/۸$^{**}$ |
| مراحل فنولوژی | ۱ | ۱۲۵/۲$^{**}$ | ۳۵۹/۹$^{**}$ | ۵۱/۸$^{**}$ |
| اندام گیاه | ۲ | ۲۰۷۳$^{**}$ | ۷۳/۰۶$^{**}$ | ۱۰۶/۸$^{**}$ |
| رویشگاه * مراحل فنولوژی | ۱ | ۰/۹۱$^{ns}$ | ۲۹/۸$^{**}$ | ۸/۸$^{**}$ |
| رویشگاه * اندام گیاه | ۲ | ۳۵/۷$^{**}$ | ۱۴/۲$^{**}$ | ۷/۳$^{**}$ |
| اندام گیاه * مراحل فنولوژی | ۲ | ۲۰/۱$^{**}$ | ۴/۶$^{*}$ | ۰/۹$^{ns}$ |
| رویشگاه * اندام گیاه * مراحل فنولوژی | ۲ | ۳/۷$^{*}$ | ۳/۸$^{*}$ | ۳/۳$^{*}$ |
| خطای آزمایش | ۳۳ | ۱/۶ | ۰/۳ | ۱/۰۲ |

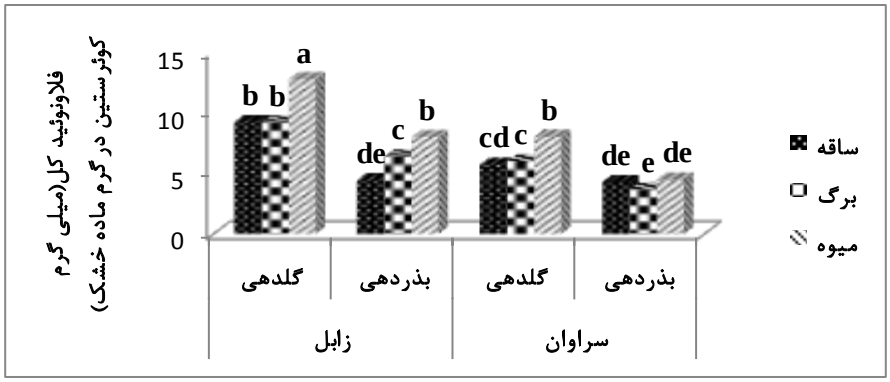
** و* و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**فعالیت آنتی اکسیدانی:** مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رویشگاه سراوان و مرحله گلدهی و برگ گیاه هندوانه ابوجهل (۴۴/۷۷ درصد) به‌دست آمد. همچنین کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره میوه، مرحله فنولوژیک بذردهی و رویشگاه سراوان (۹/۶۳ درصد) حاصل شد (شکل ۲).



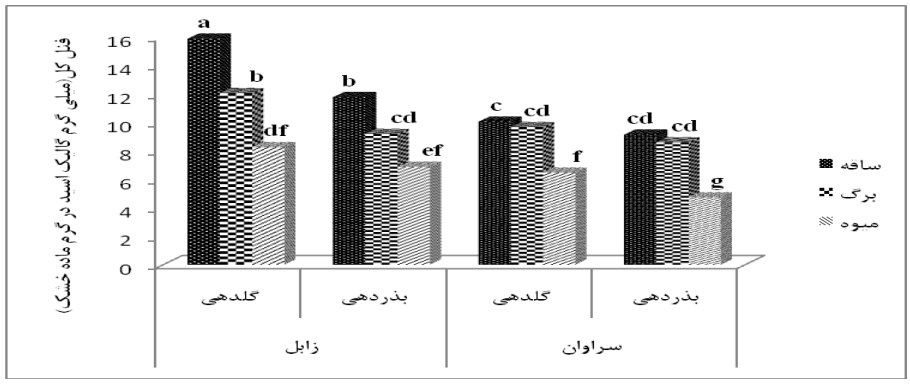

**شکل ۲- اثر متقابل رویشگاه، مراحل فنولوژی و اندام گیاه بر فعالیت انتی اکسیدان عصاره هندوانه ابوجهل در دو رویشگاه**

**فلاونوئید کل:** نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که بین دو رویشگاه و مرحله فنولوژی و اندام از نظر محتوی فلاونوئید کل تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بطوریکه رویشگاه زابل، مرحله گلدهی و عصاره میوه (۱۲/۷۳ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) دارای بیشترین میزان فلاونوئید کل در عصاره هندوانه ابوجهل می‌باشد. همچنین کمترین مقدار فلاونوئید کل در عصاره برگ (۳/۶۶ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک)، مرحله فنولوژی بذردهی و رویشگاه سراوان حاصل شد (شکل ۳).




**شکل ۳- اثر متقابل رویشگاه، مراحل فنولوژی و اندام گیاه بر مقدار فلاونوئید کل عصاره هندوانه ابوجهل در دو رویشگاه**

**فنل کل:** با توجه به نتایج، بیشترین مقدار فنل کل عصاره هندوانه ابوجهل به ترتیب در رویشگاه زابل، مرحله فنولوژیک گلدهی و ساقه گیاه به مقدار ۱۵/۸۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک و کمترین مقدار فنل در اندام برگ، مرحله بذردهی و رویشگاه سراوان به مقدار ۴/۷۳ میلی گرم کوئرستین در گرم ماده خشک به‌دست آمد ( شکل ۴).




**شکل ۴- اثر متقابل رویشگاه، مراحل فنولوژی و اندام گیاه بر مقدار فنل کل عصاره هندوانه ابوجهل در دو رویشگاه**

### ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در بذر رسیده هندوانه ابوجهل

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل عصاره بذر هندوانه ابوجهل در دو رویشگاه زابل و سراوان در مرحله رسیدن بذر حاکی از تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد آماری می‌باشد (جدول ۳). بطوریکه بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان در عصاره بذر رویشگاه سراوان و فنل و فلاونوئید کل در رویشگاه زابل می‌باشد (جدول ۳).

**جدول ۳- نتایج آزمون t و مقایسه میانگین تغییرات آنتی اکسیدان، فنل و فلاونوئید کل در بذر رسیده هندوانه ابوجهل**

| صفات | رویشگاه | درجه آزادی | میانگین | مقدار F |
|---|---|---|---|---|
| آنتی اکسیدان | زابل | ۶ | ۵ ±۰/۵ | ۰/۰۷** |
| | سراوان | ۶ | ۹/۵ ± ۰/۴ | |
| فلاونوئید کل | زابل | ۶ | ۳/۷ ± ۰/۷ | ۲/۲۸** |
| | سراوان | ۶ | ۱/۸ ± ۰/۴ | |
| فنل کل | زابل | ۶ | ۳/۹ ± ۰/۵ | ۲/۲۲** |
| | سراوان | ۶ | ۲/۷ ± ۰/۲ | |

** معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

### بحث و نتیجه‌گیری

در تمام مراحل رشد گیاهان، یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال می‌باشد. عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به طور گسترده با چندین فاکتور مثل مرحله رشد، شرایط اقلیمی، بخش‌های مورد استفاده از گیاه، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی تغییر می‌کند (Mejia et al., 1988). مرحله رشد گیاهان درتغییرات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها موثر است و کیفیت غذایی انواع مختلف گیاهان را در زمان‌های خاص تحت تاثیر قرار می‌دهد (Conforti et al., 2007). در راستای این مطالعات گیاه هندوانه ابوجهل در مراحل مختلف رشد از رویشگاه های طبیعی خود در استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری و مطالعه گردید. نتایج حاکی از تفاوت معنی‌دار محتوای فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های

گیاهی در هر دو مرحله رویشی (گلدهی و بذردهی) و رویشگاه‌های زابل و سراوان می‌باشد. وجود اختلاف معنی‌دار در خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در بخش‌های مختلف گیاه در طی مراحل فنولوژیکی نشانگرآن است که توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای در طی مراحل مختلف فنولوژیک متغیر است. بدین ترتیب باتوجه 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 آنتی اکسیدانی موجود در عصاره های گیاهی دارای چند عملکرد بوده و فعالیت و مکانیسم عمل آنها به شدت به ترکیب آنها و شرایط رویشگاه بستگی دارد؛ زیرا این شرایط بر سنتز مواد شیمیایی گیاهی که خاصیت آنتی اکسیدانی دارند، مؤثر هستند (Wong et al., 2006).

بر اساس نتایج بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل از اندام های عصاره متانولی رویشگاه زابل بدست آمد. شرایط محیطی از قبیل نور، ارتفاع از سطح دریا، رطوبت نسبی، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، درجه حرارت و ... از جمله مهم ترین عوامل تأثیرگذار بر رشد رویشی و میزان متابولیت های ثانویه گیاه دارویی هندوانه ابوجهل می‌تواند باشد. بررسی میزان رطوبت نسبی در دو رویشگاه مورد مطالعه نشان داد که رطوبت نسبی در رویشگاه زابل بیشتر از رویشگاه سراوان بود که این خود می‌تواند دلیلی بر افزایش میزان فنل کل و فلاونوئید در اندام‌های گیاهی این رویشگاه باشد. که با نتایج لاوریل و همکاران (Laurel et al., 1999) مطابقت دارد. عامل دیگر بالا بودن فنل و فلاونوئید می‌تواند به رطوبت در دسترس بیشتر در رویشگاه زابل باشد بطوریکه بر اساس اندازه‌گیری‌های صورت گرفته، عمق ریشه¬دوانی گیاه هندوانه ابوجهل در رویشگاه زابل بیش از ۲ متر در جهت عمودی و افقی مشاهده شد که یقیناً این عمق ریشه دسترسی به رطوبت زیرزمینی را میسر می‌کند. اهمیت تأثیر شرایط محیطی مختلف در رویشگاه های متفاوت بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان قبلاً نیز گزارش شده است (Jovancevic et al., 2011; Gairola et al., 2010). خلاصی اهوازی و همکاران (۱۳۹۵) اظهار نموده‌اند که میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی کنگر علوفه‌ای (*Gundelia tournefortii*) در چهار رویشگاه شمال شرق استان خوزستان با هم متفاوت بوده و تحت تاثیر اقلیم منطقه، خصوصیات رویشگاه و اندام‌های گیاه تغییر می‌کند.

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دو گروه عمده از متابولیت‌های ثانوی هستند که در اکثر اندام‌های گیاهان دارویی وجود دارند و ماهیت و غلظت آنها در اندامهای مختلف، متفاوت می‌باشد (Lincoln et al., 1986). تحقیقاتی که بر روی گونه‌های *Nepeta pogonosperma*، *N. italic*، *N. Cilicia* انجام گرفته، نشانگر پتانسیل بالای این گونه‌ها در تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و سپس عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد (Proestos et al., 2013). خاطرنشان می‌گردد که کمیت و کیفیت مواد موثره ثانویه گونه‌ها بسته به نوع گونه، حلال و روش استخراج و نیز، متاثر از تنش های اکولوژیکی منطقه رشد گیاهان، متفاوت است (Tundis et al., 2013). همچنین گزارش شده است که بین افزایش ارتفاع از سطح دریا با کمیت و کیفیت مواد موثره ثانوی در گیاه آویشن (*Thymus eriocalyx*) رابطه‌ای مستقیم وجود دارد و غلظت آنتوسیانین،

کاتشین، فلاونول، فلاونوئیدها و ترپنوییدها در برگ‌های گیاهانی مثل قره‌قاط (*Vaccinium arctostaphylos*)، گلپر (*Heracleum persicum*)، هواچوبه (*Arnebia euchroma*) و کبر (*Capparis spinosa*) در ارتفاعات، که تحت تاثیر مستقیم نور خورشید و اشعه ماورابنفش قرار دارند، بالاتر است (Mazandarani et al., 2012; Jaakola et al., 2004).

تحقیقات دیگر انجام شده درخصوص فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف نشانگر آن است که در تمامی موارد افزایش ارتفاع باعث افزایش عملکرد آنتی اکسیدانی می‌شود (Yang and Miao, 2010 ; Rajasekaran et al., 2009; Stankovic et al., 2011). در این تحقیق فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اندام های گیاه هندوانه ابوجهل در رویشگاه سراوان بهتر از زابل می‌باشد. لازم به ذکر است که اختلاف ارتفاع از سطح دریا در رویشگاه سراوان ۱۱۹۵ متر و در زابل ۴۸۰ متر است که نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های فوق الذکر همخوانی دارد.

یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار بر متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، نوع اندام‌های گیاهی است بطوری که میزان متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. بررسی اندام‌های مختلف نشان داد در هر دو رویشگاه زابل و سراوان در هر چهار اندام گیاهی (ساقه، برگ، میوه و بذر) اختلاف در میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و عملکرد آنتی اکسیدانی معنی دار شد. در تحقیقی با بررسی فیتوشیمیایی گیاه باریجه (*Ferula gummosa*) نتیجه گرفتند که بیشترین مقدار فنل کل در ریشه گیاه و کمترین مقدار آن در برگ گیاه مشاهده شد (Zeinali et al., 2014). در بررسی دیگر بر روی میزان متابولیت‌های ثانویه و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی اندام‌های هوایی (ساقه، برگ، گل و محور گل) گیاه مرزه سهندی (*Satureja sahendica*) انجام گرفت، به این نتیجه رسیدند که اندام‌های مورد استفاده و عوامل اکولوژیکی نقش انکارناپذیری در میزان متابولیت‌های ثانویه دارند (Tabatabaaei raisi et al., 2007). نتایج پژوهش حاضر بیانگر آن است که تجمع ترکیبات فلاونوئیدی به ترتیب در اندام‌های میوه > برگ > ساقه > بذر بوده و بعد از گل‌دهی مقدار آن کاهش می‌یابد. بدین ترتیب بیشترین میزان این ترکیبات در گیاه هندوانه ابوجهل مربوط به میوه و در دوران گلدهی است. نقش دفاعی برخی از فلاونوئیدها در گیاهان اثبات شده است (Witzell et al., 2003)، برای مثال کوئرستین در گیاه سیاه‌گیله (*Vaccinium myrtills*) چنین نقشی دارد (Vednskaya and Vorsa, 2004). در گیاه عطرسنگ (*Varthemia Persica*) برخی از ترکیبات فلاونوئیدی نظیر میرستین و آپی‌ژنین فقط در مرحله گلدهی وجود دارند (سیاهپوش و همکاران، ۱۳۸۷). اختصاصی بودن بعضی از فلاونوئیدها به بافت‌های خاص در گیاه عناب (*Ziziphus zizyphus*) نیز گزارش شده است (Pellotte et al., 1993). با توجه به نتایج بیشترین و کمترین ترکیبات فنلی به ترتیب در اندام‌های ساقه > برگ > میوه > بذر و مرحله فنولوژیک گلدهی می‌باشد که با رسیدن به مرحله بلوغ مقدار آن در کلیه اندام‌ها کاسته می‌شود. به نظر می‌رسد تاثیر دوره رشد و رسیدگی گیاه بر محتوای فنل و فلاونوئیدها در بین میوه ها و سبزیجات متفاوت باشد، به طوریکه سطح ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در فلفل (*Capsicum annuum*)(Marin et al., 2004) و کلم (*Brassica oleracea*) در پاسخ به رسیدگی

گیاه کاهش می‌یابد و در توت فرنگی (*Fragaria vesca*)، شاه توت (*Morus nigra*) و تمشک (*Rubus caesius*) همراه با رسیدن گیاه، سطح این ترکیبات افزایش می‌یابد (Kim et al., 2004). با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی حاصل از اندام برگ در رویشگاه سراوان مشاهده می‌شود و اختلاف ارتفاع را می‌توان دلیل آن قلمداد نمود (Yang and Miao, 2010 ; Rajasekaran et al., 2009).

نتایج این مطالعه نشان داد که بهترین مرحله جهت استفاده از خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه مرحله فنولوژیک گلدهی می‌باشد و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن نیز تحت تأثیر مراحل رشد، اندام‌های گیاه، شرایط آب و هوایی و نیز خصوصیات رویشگاه تغییر کرده و محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی دارد. بطور کلی با توجه به نتایج بیان شده می‌توان مرحله گلدهی و رویشگاه زابل را به عنوان عملکرد فنل، فلاونوئید و آنتی اکسیدانی بالاتر نسبت به رویشگاه سراوان معرفی کرد. لذا به‌عنوان یک گونهٔ گیاهی چند منظوره، کاربرد آن در احیا مراتع منطقه مورد مطالعه و استفاده در صنعت پزشکی و دارویی توصیه می‌گردد.

## منابع


توکل افشاری، ج.، رخشنده، ح.، زمان. واحدی، ف. ۱۳۸۴. بررسی اثر سیتوتاکسیستی عصاره گیاهی هندوانه ابوجهل بر رده‌های سلولی. مجله پژوهشی حکیم، دوره ۶ (۲): ۵۴-۴۷.

حبیبی، ح.، مظاهری، د.، مجنون حسینی، ن.، چایچی، م.ر.، فخرطباطبایی، م. ۱۳۸۵. اثر ارتفاع بر روغن، اسانس و ترکیبات گیاه دارویی آویشن وحشی (*Thymus Kotschyanus*) منطقه طالقان. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبان.۷۳(۱-۱۰).

خلاصی اهوازی، ل.، حشمتی، غ.ع.، ذوفن، پ.، اکبرلو، م. ۱۳۹۵. بررسی تغییرات محتوای فنل ، فلاونویید کل و عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه دارویی (*Gundelia tournefortii* L.) در مراحل مختلف رشد در چهار رویشگاه شمال شرق استان خوزستان. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی،۱۳(۴): ۳۳-۴۶.

رحیمی، ا. درینی، ا.، پوریوسف، م. ۱۳۹۰. تاثیر مناطق مختلف رویش بر خواص کمی و کیفی هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis L.*) در جنوب استان کرمان. اولین کنگره ملی علوم و فناوری‌های نوین کشاورزی، دانشگاه زنجان.

رضیئی، ط.، دانش کارآراسته، پ.، ثقفیان، ب. ۱۳۸۶. بررسی الگوی زمانی و مکانی خشکسالی‌های هواشناسی در استان سیستان و بلوچستان، مجله علمی کشاورزی، ۳۰(۱).

سیاهپوش، ا.، قاسمی، ن.، اصغری، غ.، اردکانی، م. ۱۳۸۷. بررسی کمی و کیفی فلاونوئیدهای موجود در اندام‌های هوایی، گل و میوه گیاه عطر سنگ (*Varthemia Persica*). مجله علوم پزشکی دانشگاه مازندران. ۲۸-۳۶.

فلاح حسینی، ح.، زارعی، ب.، شیخ سامانی، ا. ۱۳۸۴. بررسی تاثیر میوه هندوانه ابوجهل بر فاکتورهای انتی اکسیدانی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم. فصلنامه گیاهان دارویی، ۵ :۶۰-۵۵.

کلوندی، ر. ۱۳۸۲. بررسی تأثیر عوامل بوم شناختی مختلف بر کمیت و کیفیت ماده مؤثره گیاه دارویی آویشن (*Thymus eriocalyx Ronniger*) در استان‌های همدان، مرکزی، کرمانشاه و کردستان. پایان نامه کارشناسی

ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان.

میرآزادی، ز.، پیله‌و، ب.، مشکات السادات، م. علیرضایی، م.، خونساری، ا. ۱۳۹۱. تاثیر عوامل اصلی اکولوژیک درصد بازده اسانس درختچه مورد (*Myrtus communis* L.)در رویشگاه‌های مختلف جنگلی لرستان. فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه لرستان، ۱۴(۳): ۱۰۳-۱۱۱.

Bankole, S.A., Osho, A., Joda, A.O., Enikuomehin, A.O. 2005. Effect of drying methods on the quality and storability of "Egusi" Melon seeds (*colocynthis citrullus L.*). African Journal of Biotechnology, 4: 799-803.

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.

Bodeker, G. 2000. Traditional health system: valuing biodiversity for human health and well being. In Cultural and Spiritual Values in Biodiversity, (ed.) D.A. Posey, pp. 261–284. Nairobi: Practical Action.

Burtis, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotherapy Research, 14: 323-328.

Conforti, F., Statti, G.A., Menichini, F. 2007. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum var. acuminatum L.*) in relation to maturitystage. Food Chemistry 102: 1096–1104.

Ebrahimi, A., MohamadiSani, A.M. 2015. Application of *Gundelia tournefortii L.* in yoghurt. Journal of Applied Environmental and Biological Science, 4(12): 266-272.

Gairola, S., Shariff, N.M., Bhatt, A., Kala, C.P. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants: Issues needs immediate attention. Jornal Medecinal Plants Resercher, 4 (18): 1825 - 9.

Ghaithi F., El-Ridi M.R., Adeghate E., Amiri, M.H. 2004. Biochemical effects of Citrullus colocynthis in normal and diabetic rats.Molecular Cellular Biochemistry, Feb, 23:1-7.

Jaakola, L., Maatta-Riihinen, K.R., Karenlampi, S., Hohtola, A. 2004. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) leaves. Planta, 218(5): 721-728.

Jovancevic, M., Balijagic, J., Menkovic, N., Savikin, K., Zdunic, G., Jankovic, T., Dekic-Ivankovic, M. 2011. Analysis of Phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) from Montenegro. Jornal Medcinal Plants Resercher, 5 (6): 910 -4.

Kim, D. O., Padilla-Zakour, O.I., Griffiths, P. D. 2004. Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. Journal of Food Science 69: 685-689.

Konyalıoglu, S., Karamenderes, C. 2004. Screening of total flavonoid, phenol contents and antioxidant capacities of *Achillea L.* species growing in Turkey. Acta. Pharm Turcica, 46: 163–170.

Kumaran, A., Karunakaran, R.J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food Chemistry, 97:109-114.

Laurel, F.R., Servio, R.P., Valerie, B.K. 1999. Direct and indirect effects of climate

change on St. Johns wort, Hypericum perforatum L.(*Hypericaceae*). Oecologia, 120: 113-122.

Lincoln, D.E., Murray, M.J., Lawrence, B.M. 1986. Chemical composition and genetic basis for the isopinocamphone chemotype of Mhentha citrate hybrids.Phytochemistry, 25(8): 1857-1863.

Marin, A., Ferreres, F., Tomas-Barberan, F., Gil, M.I. 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum L.*). Journal of the Science of Food and Agriculture 52: 3861-3869.

Mazandarani, M., Zarghami Moghaddam, P., Zolfaghari, M.R., Ghaemi, E.A., Bayat, H. 2012. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in Onosma dichroanthum Boiss. Journal of Medicinal Plants Research, 6(28): 4481-4488.

Mejia, L. A., Hudson, E., Gonzalez de 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.

Özkan, A., Yumrutas, Ö., Saygideger, S.D., 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.

Pellotte, J. P., Maria, A., Martinez, D. P. 1993. Flavonoid variation with the plant age in *zyzyphus mistol* leaves. Biochemistry and Ecology 2: 645-646.

Prior, R.L., Cao, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications Hortic. Sci. 35:588-592.

Proestos, C., Lytoudi, K., Marromelanidou, O.K., Zoumpoulakis, P., Sinanoglu V.J. 2013. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. Antioxidants, 2L11-22.

Rajasekaran. C., Kalaivani. T., Jayakumararaj, R., Singh, A., Pusalkar, V.R., Marimuthu, R. 2009. Studies on the impact of altitudinal gradient on ammonium assimilatory metabolism in Glucine max L. (*Fabaceae*). Ethnobotanical Leaflets, 13: 301-309.

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.

Srivastava, A.W., Shym, S. 2002. Citrus, Climate and soil. International Book Distributing Company, PP: 559.

Stankovic, M.S., Niciforovic, N., Topuzovic, M., Solujic, S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from Teucrium montanuml. var. montanum, F. supinum (L.) Reichenb. Biotechnology & Biotechnological Equipment., 25: 2222-2227.

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.

Tabatabaei raisi, A., Khaligi, A., Kashi, A. 2007. Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil of aerial parts of Satureja sahendica Bornm.

Pharmaceutical Sciences, 3:1-6.
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.
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.
Tundis, R., Nadjafi, F., Menichini, F. 2013. Angiotensin- converting enzyme inhibitory activity and antioxidant properties of Nepeta crassifolia Boiss. & Buhse and Nepeta binaludensis Jamzad. Phytother. Res., 27: 572-580.
Vedenskaya, I.O., Vorsa, N. 2004. Flavonoid composition over fruit development and maturation in American canberry. Plant Science 167: 1043-1054.
Witzell, G., Gref, R., Nasholm, T. 2003. Plant-Part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtills*) plants. Biochemistry and Ecology 31: 115-127.
Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry, 99: 775-783.
Yang, F., Miao, L.F. 2010. Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. Silva Fennica, 44(1): 23-27.
Yaniv, Z.E., Shabelsky, E., Schafferman, D. 1999. Colocynth:potential arid land oilseed from an ancient cucurbit. In: Janick J. (ed.), Perspectives on New Crops and New Uses. ASHS Press, Alexandria,Virginia, pp: 257 261.
Yokota, A., Kawasaki, S., Iwano, M., Nakamura, C., Miyake, C., Akashi, K. 2002. Citrulline and DRIP protein (*ArgEhomologue*) in drought tolerance of wild watermelon. Annals of Botany Company, 89: 825 832.
Yuan, R., Lin, Y. 2000. Traditional Chinese Medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. Pharmacology & Therapeutics, 86: 191–198.
Zeinali, Z., Hemmati, K.h., 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.