فصلنامه علمی - پژوهشی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۳ ، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹

بررسی تأثیر عوامل اکولوژیکی و ادافیکی برمواد مؤثرگیاه فرفیون

(*Euphorbia helioscopia* L.)

ناصر جعفری*[۱]، سیده مبارکه حسینی[۲]، محمدعلی ابراهیم زاده[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۳
تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۳/۱۳

چکیده

گیاه فرفیون (Euphorbia helioscopia L.) یکی از گیاهان دارویی مهم است که در سراسر دنیا در طب سنتی به کار می رود. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر عوامل اکولوژیکی و ادافیکی بر مواد مؤثره ی این گیاه صورت گرفت. برای این منظور گیاه فرفیون از ۳ منطقه با ارتفاع متفاوت (۱۸۶۱، ۹۴۹ و ۲۳۶ متر) و با ۳ تکرار جمع آوری گردید. سپس عصاره با استفاده از متانول اسیدی تهیه شد و میزان فنول آن بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید و فلاونوئید بر اساس منحنی کوئرستین به دست آمد. هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی به ۳ روش به دام اندازی DPPH، نیتریک اکساید و قدرت احیاکنندگی بررسی شد. این مطالعه به وضوح نشان داده است که فعالیت زیستی عصاره به میزان فنول و فلاونوئید آن بستگی دارد. نتایج حاصله از این مطالعه نشان می دهد که گیاه فرفیون منطقه ی چالو، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در آزمون نیتریک اکساید و در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به دو منطقه ی دیگر دارا می باشد. هم چنین نتایج نشان داد که توانایی عصاره های گیاه فرفیون در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد نیتریک اکساید وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد. نتایج این مطالعه نشان داد که گونه ی فرفیون، دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نسبتاً بالایی است که می توان از آن به عنوان یک گونه ی گیاهی دارویی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: ***ترکیبات ثانوی، عوامل اکولوژیکی، فرفیون، فعالیت آنتی اکسیدانی، قدرت احیاکنندگی.***

مقدمه

امروزه استقبال گسترده عامه ی مردم از داروهای گیاهی به دلیل عوارض خطرناک داروهای سنتتیک، پژوهشگران را به تلاش در راستای احیای طب سنتی و شناسایی ترکیبات موثره ی گیاهان دارویی و خواص احتمالی آن ها وا داشته است (Shaghaghi *et al.*, 2019). اخیراً تحقیق و پژوهش بر روی گیاهان دارویی از نظر خواص آنتی اکسیدانی آن ها که می تواند به

۱- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران، ایران
*(نویسنده مسئول: N.Jafari@umz.ac.ir)
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد سیتماتیک بوم شناسی دانشگاه مازندران، ایران
۳- استاد گروه شیمی دارویی دانشگاه علوم پزشکی ساری، ایران

عنوان عوامل مؤثر در بهبود سلامتی انسان مطرح باشد، مورد توجه محققان قرار گرفته است (رهباریان و همکاران، ۱۳۹۸). گیاهان دارویی منابع ارزشمندی از آنتی اکسیدان های طبیعی از قبیل برخی ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی هستند، به طوری که امروزه مورد توجه بسیاری از کشورهای پیشرفته ی جهان قرار گرفته است و به عنوان مواد اولیه برای تبدیل به داروهای بی خطر برای انسان تلقی می شوند (Khoshsokhan *et al*., 2015). در حالت کلی آنتی اکسیدانت به ماده ای اطلاق می شود که بتواند در غلظت های کم با سوبستراهای اکسید شونده رقابت کند و به طور معنی داری اکسیداسیون آن سوبسترا را به تأخیر بیندازد یا مهار کند. آنتی اکسیدان ها موجب افزایش سیستم ایمنی بدن می شوند و در نتیجه میزان عفونت را در بدن کم می کنند. بسیاری از بیماری ها مانند سرطان، آلزایمر، پارکینسون، دیابت و بیماری های قلبی که با تخریب اکسایشی سلول ها در ارتباط می باشند، اهمیت استفاده از آنتی اکسیدان ها را به شدت افزایش داده اند (Jayaprakasha & Tanil selvi, 2003).

گیاهان گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به نام ترکیبات ثانوی را تولید می کنند که توسط انسان به عنوان ترکیب دارویی مصرف می شوند. ترکیبات ثانوی گیاهان ترکیباتی هستند که توسط سلول های گیاهی تولید می شوند، اما غالباً به مصرف خود گیاه نمی رسند و مستقیماً در مراحل رشد و نمو یا تولید مثل موجود زنده شرکت نمی کنند و شامل اسانس ها، مواد معطر، مواد مؤثره دارویی، حشره کش ها، علف کش ها، قارچ ها، هورمون های گیاهی و مواد آللوپاتیک می باشند. متابولیت های ثانویه جزء گرانبهاترین ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند. گیاهان دارویی از لحاظ میزان متابولیت های ثانویه بسیار غنی می باشند. کشور ایران نیز جزء کشورهای غنی از منابع گیاهان دارویی در جهان به شمار می رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان می باشد.

رشد گیاهان دارویی و هم چنین کیفیت و کمیت مواد مؤثره ی آن ها مستقیماً تحت تأثیر دو عامل اساسی محیط و ژنتیک می باشد. تغییرات اقلیمی و محیطی دارای اثراتی روی تمامی موجودات زنده شامل گیاهان و برهم کنش های میان آب و هوا و گیاهان دارویی می باشد. از جمله مهم ترین فاکتورهای تغییر دهنده ی شرایط حاکم بر بوم نظام ها، می توان به ارتفاع از سطح دریا اشاره کرد. تغییرات گرادیان دما در اثر تغییر ارتفاع از مهم ترین عوامل مؤثر در زندگی گیاهان می باشد. به طوری که با افزایش و یا کاهش ارتفاع و به دلیل وجود شرایط اقلیمی در ارتفاعات، عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش دریافتی نیز تغییر می کند. در ارتفاعات به دلیل تشعشعات بالا، دمای پایین، تغییرات سریع دما و کاهش فشار جزئی کربن دی اکسید، شرایط نامساعدی برای انجام عمل فتوسنتز ایجاد می گردد که می تواند برای رشد گیاهان محدود کننده باشد و یا حتی موجب افزایش روند مقابله ی ترکیبات ثانوی با تنش ایجاد شده گردد (Oncel *et al*., 2004).

خصوصیات مختلف خاک بر چگونگی رشد و نمو و نیز بر میزان مواد مؤثره ی گیاهان تأثیر دارد ولی نمی توان مثلاً فقط به خصوصیات فیزیکی یا شیمیایی یک خاک از این نظر اکتفا نمود. کاشت و تکثیر یک گونه ی گیاه در خاک های کاملاً مشابه ممکن است منجر به حصول نتایج متفاوتی از نقطه نظر مواد دارویی یا حتی چگونگی رشد و نمو گردد. عناصر غذایی

خاک با تأثیری که بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارویی دارند باعث تغییراتی در عملکرد محصول می شوند و کیفیت و کمیت مواد مؤثره ی آن ها را نیز تحت تأثیر قرار می دهند (Grudwald & Buttei, 1996).

فرفیون خانواده بزرگی از گیاهان می باشد که از ۳۰۰ جنس و بیش از ۸۰۰ گونه تشکیل شده است (Al-Younis *et al*., 2009) فرفیون گیاهی یک ساله و دو لپه از تیره ی Euphorbiaceae می باشد. و به عنوان یک علف هرز مهم در پهنه ی وسیعی از مناطق به خصوص مناطق گرمسیری جهان شامل اکثر مناطق اروپا، شمال آفریقا و کشورهای شرق آسیا به ویژه در هند و مالزی پراکنده هستند. تعداد زیادی از ترکیبات ثانوی در گیاه فرفیون وجود دارد که شامل تری ترپنوئیدها، دی ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، تانن ها، استروئیدها و چربی می باشد (Pieroni *et al*., 2004). در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره های متانولی حاصل از گیاه فرفیون از ۳ منطقه با ارتفاع متفاوت جمع آوری تا به بهترین شرایط برای بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بررسی شود.

مواد و روش ها

گیاه فرفیون در استان مازندران، از سه منطقه با ارتفاع های متفاوت به ترتیب از روستای عالی کلا با ارتفاع ۱۸۶۱ متر و روستای چالو با ارتفاع ۹۴۹ متر از شهرستان کیاسر و روستای گلورد با ارتفاع ۲۳۶ متر از شهرستان ساری در بهار ۱۳۹۶ جمع آوری و بعد از شستشو توسط آب در محیط سایه در هوای آزاد خشک شدند. نمونه های خشک شده پس از پودر شدن در یخچال نگهداری و برای آزمایش های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (Stark *et al*., 2008). به منظور عصاره گیری از روش خیساندن استفاده شد که در این روش ۱۵ گرم از اندام خشک (ریشه، ساقه و برگ) گیاه با ۵۰ میلی لیتر متانول مخلوط شد. محلول فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و هر ۴ الی ۵ ساعت یک بار هم زده شد سپس عمل صاف کردن با استفاده از کاغذ صافی انجام شد و با استفاده از روتاری (Rotavapor® R-100) تغلیظ وکلروفیل زدایی گردید سپس ۵۰ میلی لیتر به آن آب مقطر اضافه شد.

مجدداً محلول فوق صاف و عصاره در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد (Rabie, *et al*., 2012).

اندازه گیری محتوای فنول کل عصاره ها

محتوای تام فنولی با استفاده از واکنش گر فولین سیوکالتیو اندازه گیری شد. ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی گرم/میلی لیتر) با ۰/۵ میلی لیتر محلول واکنش گر فولین سیوکالتیو و ۰/۰۵ میلی لیتر از محلول ٪۱۰ کربنات سدیم مخلوط گردید و سپس جذب آن در ۷۶۰ نانومتر پس از هم زدن به مدت ۱ ساعت در مقابل بلانک قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد و محتوای تام فنولی بر اساس اکی والان میلی گرم گالیک اسید در گرم

عصاره تست و گزارش شد (Singleton & Rossi, 1965). آزمایشات ۳ بار تکرار شد و میانگین جذب حاصله در معادله ی خط به دست آمد و گزارش شد.

اندازه گیری محتوای تام فلاونوئید عصاره ها

میزان محتوای فلاونوئید هر عصاره از طریق روش‌های رنگ سنجی ارزیابی شد (Chang *et al.*, 2002). غلظت۱میلی گرم / میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ٪۱۰ به آن اضافه و سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول پتاسیم استات ۱ مولار و در نهایت ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر هم به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر مرئی ماوراء بنفش اندازه گیری شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید. آزمایشات ۳ بار تکرار شد و میانگین آن ها گزارش شد (Singleton & Rossi, 1965).

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال DPPH

۴ میلی لیتر از هر عصاره (۱-۲۰ میلی گرم/میلی لیتر) با ۱ میلی لیتر محلول رادیکال DPPH ۱۰ میکرومولار (غلظت پایانی ۰/۲ میلی مولار DPPH) مخلوط و پس از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد و توانایی جاروب کنندگی عصاره محاسبه شد. آزمایشات ۳ بار تکرار گردید و میانگین آن ها گزارش شد. ویتامین ث به عنوان شاهد مثبت برای مقایسه به کار گرفته شد (Singleton & Rossi, 1965).

ارزیابی میزان به دام اندازی نیتریک اکساید

این روش بر این مبنا استوار است که سدیم نیترو پروساید در محلول های آبی در pH فیزیولوژیک به آهستگی نیتریک اکساید تولید می کند که با اکسیژن محیط وارد عمل می شود و یون نیتریت تولید می نماید. یون نیتریت تولید شده در حضور واکنش گر گریس مورد سنجش قرار می گیرد. به دام اندازی نیتریک اکساید در رقابت با اکسیژن موجب کاهش تولید یون نیتریت خواهد شد. به این منظور سدیم نیترو پروساید (۱۰ میلی مولار) در بافر سالین فسفات با غلظت های مختلفی از عصاره که جداگانه در آب حل شده بودند، مجاور شد. مجموعه به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. همان مخلوط واکنش بدون عصاره (اما مقادیر هم حجم آب مقطر) به عنوان بلانک به کار گرفته شد. بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، ۰/۵ میلی لیتر واکنشگر گریس (شامل: سولفانیل آمید ۱٪، نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید ۰/۱٪ در اسید فسفریک ۲٪) اضافه شد.

جذب مخلوط در ۵۴۶ نانومتر قرائت شد. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آن ها گزارش شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای مقایسه به کار گرفته شد (Singleton & Rossi, 1965).

تعیین قدرت احیا کنندگی

میزان قدرت احیا کنندگی عصاره‌ها با استفاده از روش Vinatoru و همکاران (۱۹۹۷) ارزیابی شد. غلظت های مختلف از هر عصاره تهیه شد و با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفاته ۰/۲ مولار با pH= ۶/۵ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد پتاسیم فری سیانید [$K_3Fe(CN_6)$] مخلوط شد. سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد، سپس ۲/۵ میلی لیتر از محلول تری‌کلرواستیک اسید به نمونه ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام این مرحله ۲/۵ میلی لیتر از قسمت بالای محلول با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و ۰/۵میلی لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید ($FeCl_3$) به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. دراین آزمایش آسکوربیک اسید با غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد. آزمایش برای هر نمونه و استاندارد سه بار تکرار شد.

آنالیز خاک

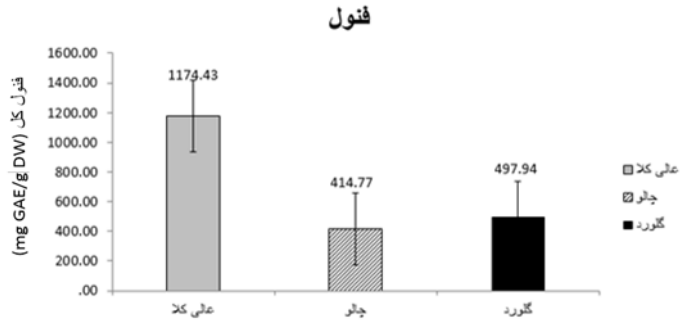
نمونه برداری خاک در استان مازندران و از سه منطقه با ارتفاع متفاوت به ترتیب از روستای عالی کلا با ارتفاع ۱۸۶۱ متر و روستای چالو با ارتفاع ۹۴۹ متر از شهرستان کیاسر و روستای گلورد با ارتفاع ۲۳۶ متر از شهرستان ساری در بهار ۹۶ جمع آوری گردید. از هر یک از این مناطق، سه نقطه به صورت تصادفی انتخاب و با بیلچه در عمق ۳۰-۲۰ سانتی متر تقریبا ۱ کیلوگرم خاک برداشته شد و سپس این نمونه ها کاملاً با هم مخلوط شد، و یک نمونه ی ۱ کیلوگرمی از آن را به عنوان نمونه ی خاک آن منطقه به آزمایشگاه ارسال شد. خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک شامل بافت خاک (Bouyoucos, 1962)، کربن آلی و مواد آلی خاک (Walkey & Black, 1934)، پتاسیم قابل جذب (دستگاه Flame photometer)، فسفر قابل جذب (Olson *et al.*, 1954) نیتروژن خاک (روش کجلدال)، آهک خاک (خنثی نمودن با اسید کلریدریک)، عناصر کم مصرف (Lindsay & Norvell, 1978) و هدایت الکتریکی (گل اشباع) در این مطالعه اندازه گیری شد (Black, 1979).

تجزیه و تحلیل داده ها

برای تجزیه ی آماری داده های به دست آمده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۶ استفاده شد. مقایسه ی میانگین تیمارها، با آزمون حداقل تفاوت معنی داری (LSD) انجام و $P<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی دار بودن اختلاف ها در نظر گرفته شد. نمودارها با استفاده از برنامه Excel 2016 ترسیم شد.

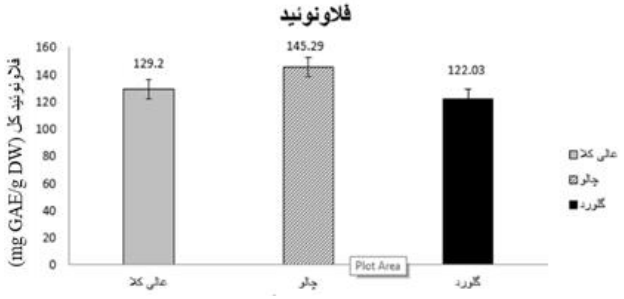
نتایج

محتوای فنول کل با روش فولین سیو کالتیو به صورت اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره بر اساس معادله ی خط منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد. میزان فنول کل عصاره های گیاه فرفیون بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک ۳ منطقه ی مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شد. بیشترین مقدار ترکیبات فنول کل مربوط به عصاره ی فرفیون در منطقه ی عالی کلا است. از تحلیل واریانس داده ها، رابطه ی معنی داری میان میزان فنول در هر سه منطقه عالی کلا، چالو و گلورد در سطح ۰/۰۰۱ مشاهده شده است.

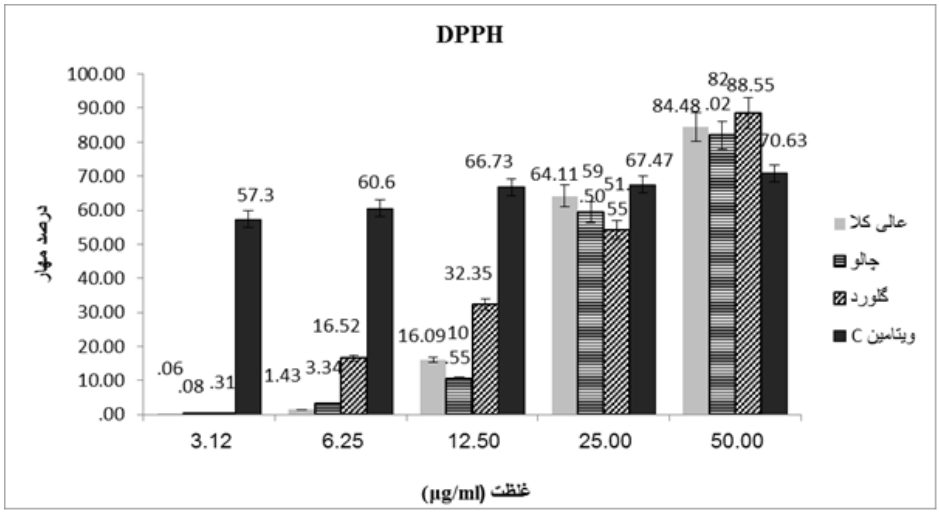


شکل۱: نمودار مقایسه ای مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره های گیاه فرفیون بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک (میانگین ۳ تکرار± انحراف معیار)

محتوای فلاونوئید کل بر مبنای معادله ی خط منحنی استاندارد به صورت اکی والان میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره محاسبه شد و میزان نوسانات فلاونوئید عصاره های گیاه فرفیون در ۳ منطقه مورد مطالعه در شکل ۲ نشان داده شد. بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئید مربوط به گیاه فرفیون در منطقه ی چالو است. تحلیل واریانس داده ها، رابطه ی معنی داری میان میزان فلاونوئید در هر سه منطقه ی عالی کلا، چالو و گلورد در سطح ۰/۰۰۱ نشان می دهد.

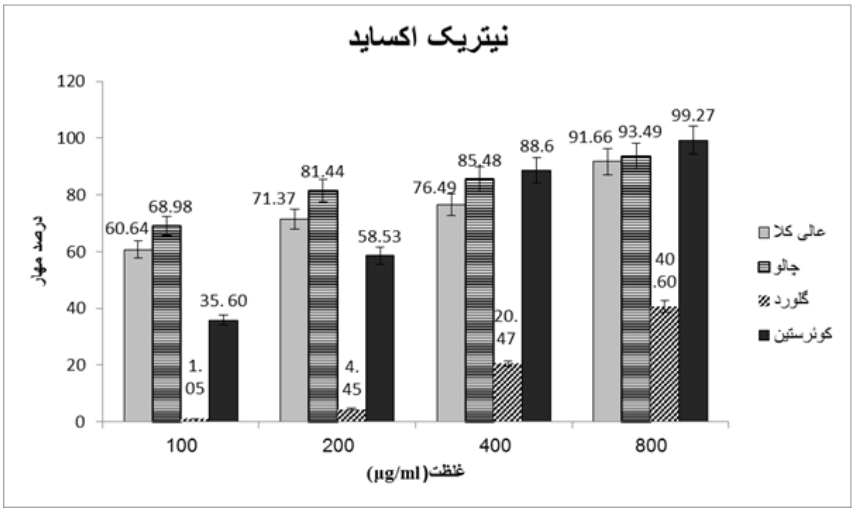


شکل۲: نمودار مقایسه ای مقدار ترکیبات فلاونوئیدی تام عصاره های گیاه فرفیون بر حسب میلی گرم کوئرستین درگرم وزن خشک (میانگین ۳ تکرار± انحراف معیار)



شکل ۳: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاه فرفیون مناطق مختلف و استاندارد با روش DPPH

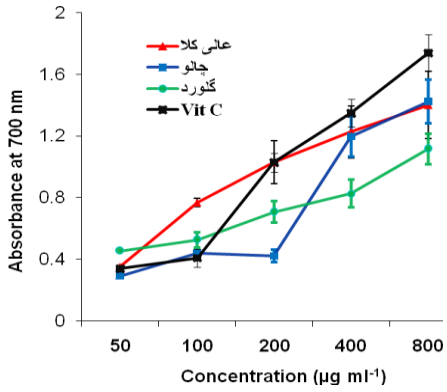
طبق آنالیز آماری، شکل (۳) نشان می دهد که رابطه ی معناداری بین منطقه ی عالی کلا با چالو در سطح ۰/۰۱، عالی کلا با گلورد و چالو با گلورد هر دو در سطح ۰/۰۰۱ وجود دارد. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با استاندارد ویتامین ث، اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۰۱ میان آن ها مشاهده شده است.



شکل ۴: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاه فرفیون مناطق مختلف و استاندارد با روش بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید

طبق آنالیز آماری، شکل (۴) نشان می دهد که رابطه ی معناداری بین منطقه ی عالی کلا با گلورد و چالو با گلورد در سطح ۰/۰۰۱ وجود دارد. اما بین منطقه ی عالی کلا با چالو این اختلاف معنادار نبود. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه‌ی

این سه منطقه با استاندارد کوئرستین، نشان می دهد که اختلاف معنادار بین منطقه ی عالی کلا با کوئرستین در سطح ۰/۰۱ و با گلورد در سطح ۰۰۱/ وجود دارد. اما میان چالو با کوئرستین هیچ گونه رابطه ی معناداری مشاهده نشده است.



شکل ۵: نمودار مقایسه ای میزان خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ی گیاه فرفیون و استاندارد ویتامینC در احیا آهن III

بر اساس شکل (۵)، نتایج نشان داد که قدرت احیاکنندگی عصاره ها با افزایش غلظت زیاد می شود. هم چنین اگرچه نمودار ظاهراً نشان می دهد که عصاره ی متانولی فرفیون منطقه ی چالو و عالی کلا نسبت به منطقه ی گلورد، قدرت احیاکنندگی بهتری را دارا است، اما طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با یکدیگر، هیچ گونه اختلاف معناداری بین آن ها مشاهده نشده است. از طرفی طبق آنالیز آماری با مقایسه ی این سه منطقه با استاندارد ویتامین C، نتایج نشان می دهد که اختلاف معنادار بین منطقه ی گلورد با ویتامین C در سطح ۰/۰۰۱ وجود دارد. اما با مناطق عالی کلا و چالو این اختلاف معنادار نبود.

جدول ۱: همبستگی بین ترکیبات فنولی و فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی با فاکتورهای محیطی و خاک در عصاره گیاه فرفیون

	Flavonoid	Phenol	DPPH	Reducing	Nitric	EC	PH	C.C.E	N	O.M	O.C
Flavonoid	1	-.312	.339	.644	.756*	.385	.178	-.257	-.123	-.122	-.121
Phenol	-.312	1	-.786*	.242	.383	.754*	-.990**	-.837**	.981**	.981**	.981**
DPPH	.339	-.786*	1	.677*	.868**	.995**	-.863**	-.993**	.890**	.890**	.890**
Reducing	.644	.242	.677*	1	.810**	.685*	-.346	-.620	.388	.389	.389
Nitric oxide	.756*	.383	.868**	.810**	1	.893**	-.507	-.826**	.554	.556	.556
EC	.385	.754*	.995**	.685*	.893**	1	-.838**	-.989**	.867**	.868**	.868**
PH	.178	-.990**	-.863**	-.346	-.507	-.838**	1	.905**	-.998**	-.998**	-.998**
C.C.E	-.257	-.837**	-.993**	-.620	-.826**	-.989**	.905**	1	-.927**	-.928**	-.928**
N	-.123	.981**	.890**	.388	.554	.867**	-.998**	-.927**	1	1.000**	1.000**
O.M	-.122	.981**	.890**	.389	.556	.868**	-.998**	-.928**	1.000**	1	1.000**
O.C	-.121	.981**	.890**	.389	.556	.868**	-.998**	-.928**	1.000**	1.000**	1
SAND	.588	.566	.943**	.790*	.961**	.961**	-.672*	-.912**	.712*	.713*	.713*
SILT	.205	-.913**	-.762*	-.207	-.429	-.730*	.917**	.816**	-.910**	-.911**	-.911**
CLAY	-.715*	-.402	-.856**	-.732*	-.974**	-.875**	.521	.825**	-.564	-.567	-.567
Fe	.549	.621	.969**	.752*	.962**	.982**	-.724*	-.949**	.761*	.762*	.762*
Mn	.626	.543	.942**	.777*	.983**	.959**	-.654	-.914**	.695*	.697*	.697*
Zn	.993**	-.408	.239	.598	.686*	.289	.278	-.158	-.224	-.223	-.223
Cu	.842**	-.418	.138	.543	.525	.185	.312	-.050	-.262	-.264	-.264
s.p	-.902**	.688*	.096	-.379	-.406	.046	-.580	-.178	.535	.533	.533
s.k	-.374	.998**	.744*	.193	.322	.710*	-.979**	-.799**	.966**	.966**	.966**
Altitude	.235	.849**	-.55**	.610	.813**	.986**	-.914**	-1.000**	.935**	.936**	.936**
precipitation	-.652	.157	-.248	-.306	-.496	-.247	-.072	.202	.040	.041	.041
Temp	-.635	-.496	.60**	-.636	-.84**	-.94**	.606	.871**	-.647	-.649	-.649
MinTemp	-.672*	-.462	-.888**	-.666	-.970**	-.915**	.576	.859**	-.619	-.621	-.621
MaxTemp	-.584	-.540	-.907**	-.605	-.935**	-.930**	.644	.886**	-.682*	-.684*	-.684*

	SAND	SILT	CLAY	Fe	Mn	Zn	Cu	av.p	av.k	Altitude	precipitation	Temp	MinTemp	MaxTemp
Felavonoid	.588	.205	-.715*	.549	.626	.993**	.842**	-.902**	-.374	.235	-.652	-.635	-.672*	-.584
Phenol	.566	-.913**	-.402	.621	.543	-.408	-.418	.688*	.998**	.849**	.157	-.496	-.462	-.540
DPPH	.943**	-.762*	-.856**	.969**	.942**	.239	.138	.096	.744*	-.55**	-.248	-.897**	-.888**	-.907**
Reducing	.790*	-.207	-.732*	.752*	.777*	.598	.543	-.379	.193	.610	-.306	-.636	-.666	-.605
Nitric oxide	.961**	-.429	-.974**	.962**	.983**	.686*	.525	-.406	.322	.813**	-.496	-.955**	-.970**	-.935**
EC	.961**	-.730*	-.875**	.982**	.959**	.289	.185	.046	.710*	.986**	-.247	-.923**	-.915**	-.930**
PH	-.672*	.917**	.521	-.724*	-.654	.278	.312	-.580	-.979**	-.914**	-.072	.606	.576	.644
C.C.E	-.912**	.816**	.825**	-.949**	-.914**	-.158	-.050	-.178	-.799**	-1.000**	.202	.871**	.859**	.886**
N	.712*	-.910**	-.564	.761*	.695*	-.224	-.262	.535	.966**	.935**	.040	-.647	-.619	-.682*
O.M	.713*	-.911**	-.567	.762*	.697*	-.223	-.264	.533	.966**	.936**	.041	-.649	-.621	-.684*
O.C	.713*	-.911**	-.567	.762*	.697*	-.223	-.264	.533	.966**	.936**	.041	-.649	-.621	-.684*
SAND	1	-.517	-.904**	.983**	.987**	.503	.449	-.189	.512	.906**	-.352	-.941**	-.944**	-.932**
SILT	-.517	1	.533	-.634	-.561	.292	.513	-.552	-.905**	-.821**	.021	.547	.520	.586
CLAY	-.904**	.533	1	-.945**	-.959**	-.648	-.383	.375	-.342	-.810**	.541	.951**	.964**	.934**
Fe	.983**	-.634	-.945**	1	.995**	.461	.323	-.141	.569	.941**	-.374	-.960**	-.962**	-.956**
Mn	.987**	-.561	-.959**	.995**	1	.544	.408	-.234	.487	.904**	-.428	-.966**	-.972**	-.956**
Zn	.503	.292	-.648	.461	.544	1	.847**	-.943**	-.468	.135	-.623	-.557	-.598	-.503
Cu	Z.449	.513	-.383	.323	.408	.847**	1	-.810**	-.465	.038	-.502	-.370	-.406	-.315
av.p	-.189	-.552	.375	-.141	-.234	-.943**	-.810**	1	.734*	.201	.560	.265	.310	.207
av.k	.512	-.905**	-.342	.569	.487	-.468	-.465	.734*	1	.813**	.199	-.440	-.404	-.486
Altitude	.906**	-.821**	-.810**	.941**	.904**	.135	.038	.201	.813**	1	-.187	-.860**	-.847**	-.876**
precipitation	-.352	.021	.541	-.374	-.428	-.623	-.502	.560	.199	-.187	1	.379	.411	.340
Temp	-.941**	.547	.85**	-.960**	-.92**	-.557	-.370	.265	-.440	-.860**	.379	1	.998**	.997**
MinTemp	-.944**	.520	.964**	-.962**	-.972**	-.598	-.406	.310	-.404	-.847**	.411	.998**	1	.990**
MaxTemp	-.932**	.586	.934**	-.956**	-.956**	-.503	-.315	.207	-.486	-.876**	.340	.997**	.990**	1

* معنی دار در سطح ۵٪

** معنی دار در سطح ۱٪

بدون ستاره عدم وجود اختلاف معنی دار

جدول (۱) نشان می دهد بین میانگین دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (Ec)، آهن (Fe)، منگنز (Mn) و شن (Sand)، همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. و با کلسیم کربنات (C.C.E) و رس (Clay) این همبستگی مثبت و معنی دار در سطح ۰/۰۱ می باشد. اما بین میانگین دمای سالیانه با فاکتورهایی از جمله PH، نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM)، کربن آلی (OC)، روی (Zn)، مس (Cu)، پتاسیم قابل جذب (av.K)، فسفر قابل جذب (av.P) و لای (Silt) همبستگی معناداری وجود ندارد.

بین میانگین حداقل دمای سالیانه با محتوای فلاونوئیدی و با آزمون نیتریک اکساید و DPPH همبستگی منفی و معنی داری به ترتیب در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ وجود دارد ولی با محتوای فنولی کل و قدرت احیاکنندگی همبستگی معنی داری مشاهده نشده است. همچنین بین میانگین حداقل دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (Ec)، آهن (Fe)، منگنز (Mn) و شن (Sand) همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ و با کلسیم کربنات (C.C.E) و رس (Clay) همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد.

بین میانگین حداکثر دمای سالیانه با آزمون نیتریک اکساید و DPPH همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد ولی با محتوای فنولی و فلاونوئیدی و قدرت احیاکنندگی همبستگی معنی داری مشاهده نشده است. همچنین بین میانگین حداقل دمای سالیانه با فاکتورهای خاک از جمله هدایت الکتریکی (Ec)، آهن (Fe)، منگنز (Mn) و شن (Sand) همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۱ و با نیتروژن (N)، ماده ی آلی خاک (OM) وکربن آلی (OC) همبستگی منفی و معنی داری در سطح ۰/۰۵ وجود دارد. در کلسیم کربنات (C.C.E) و رس (Clay) همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد اما در پارامترهایی از قبیل PH، روی (Zn)، مس (Cu)، پتاسیم قابل جذب (av.K)، فسفر قابل جذب (av.P) و لای (Silt) همبستگی معناداری وجود ندارد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که گیاه فرفیون منطقه ی عالی کلا بیشترین میزان فنول را نسبت به دو منطقه ی دیگر دارا است. همسو با نتایج این مطالعه گزارش شده است که بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی رابطه ی خاص و معنی داری وجود ندارد (Hinneburg *et al.*, 2006). هم چنین بر خلاف همبستگی مثبتی که قبلاً بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی گزارش شده بود (Jahanban *et al.*, 2008) و (Josuttis *et al.*, 2012) ارتباطی بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی در این تحقیق یافت نشد. شواهد زیادی نیز نشان می دهد که تحت شرایط محیطی مختلف، تولید برخی از این ترکیبات ثانوی افزایش می یابد، اما دلایل زیادی نیز وجود دارد که این تأثیر همیشگی نیست. در موارد زیادی

نیز کاهش میزان متابولیت های ثانوی در شرایط تنش دیده می شود، از طرفی تأثیر تنش بر همه ی این ترکیب ها یکسان نیست.

در مورد ترکیبات فلاونوئیدی نیز فرفیون منطقه ی چالو بیشترین مقدار فلاونوئید را نسبت به دو منطقه ی دیگر نشان داد. افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی، به کاهش برخی بیماری ها در انسان منجر می شود Hertog و همکاران (۱۹۹۳) و Jaakola و Hohtola (۲۰۱۰) در مورد عوامل مؤثر بر تولید فلاونوئیدها این گونه بیان کردند که هر عاملی که در رشد و نمو گیاه مؤثر است، می تواند در تولید متابولیت ها نیز مؤثر باشد. Hemmati و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی گیاه سرخ ولیک نشان دادند که مکان بر میزان فلاونوئید گیاه اثر معنی داری دارد. Oomaha و Mazza (۱۹۹۶) نشان دادند که با افزایش ارتفاع، میزان ترکیبات فلاونوئیدی در اندام های گیاهی افزوده می شود که با نتایج ما همخوانی ندارد. طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون DPPH و در بالاترین غلظت (۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) مربوط به منطقه ی گلورد می باشد. نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره های گیاه فرفیون در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد. Rakic و همکاران (۲۰۰۷) دو گونه‌ی *Quercus cerris* L. و *Quercus_rubra* L. را از نظر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت های مختلف مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که با افزایش غلظت عصاره ی متانولی، درصد مهار رادیکال آزاد به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت. نتایج تحقیقات Young Kil و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH عصاره های گیاهی به غلظت بستگی دارد و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می یابد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که گیاه فرفیون منطقه ی چالو، بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در آزمون نیتریک اکساید و در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به دو منطقه ی دیگر دارا می باشد هم چنین نتایج ما نشان داد که توانایی عصاره های گیاه فرفیون در سه منطقه ی مورد بررسی در مهار رادیکال های آزاد نیتریک اکساید وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد.

Fazli و همکاران (۲۰۱۳) با ارزیابی میزان فنول و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی پوست درختان راش و بلوط دریافتند که با افزایش غلظت، درصد مهار رادیکال آزاد نیتریک اکساید افزایش می یابد که با نتایج ما همخوانی دارد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون احیاکنندگی آهن III در بالاترین غلظت (۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، مربوط به گیاه فرفیون منطقه ی چالو می باشد. مطابق با نتایج مطالعه ی حاضر در روش قدرت احیاکنندگی، جذب نوری نمونه ها رابطه ی مستقیمی با قدرت احیاکنندگی دارند. یعنی جذب نوری بیشتر بیانگر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است. نظری و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی خواص آنتی اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست

درختان اکالیپتوس کاملدولنسیس و کاج جنگلی دریافتند که با افزایش غلظت جذب نوری عصاره ها افزایش یافته است که این تحقیق با نتایج این مطالعه همخوانی دارد.

بررسی نتایج به دست آمده نشان می دهد که بین فاکتورهای خاک و میزان ترکیبات آنتی اکسیدان فنولی در عصاره ی گیاه فرفیون در هر سه منطقه ی عالی کلا، چالو و گلورد همبستگی معناداری وجود دارد. این همبستگی به این مفهوم می باشد که سنتز ترکیبات فنولی می تواند تحت تأثیر عوامل مشترکی قرار داشته باشد. درصد مواد آلی، کربن آلی، درصد ازت خاک، هدایت الکتریکی، فسفر و پتاسیم قابل جذب موجود در خاک با ترکیبات فنولی در عصاره ی گیاه فرفیون همبستگی مثبتی را نشان دادند. در صورتی که pH خاک، کلسیم کربنات و شن موجود در خاک همبستگی معنادار معکوس را با ترکیبات فنولی نشان دادند. عواملی مانند شوری می تواند بر متابولیت های ثانوی تأثیر گذار باشد. EC بالا سبب محدود کردن رشد گیاه می شود و در نهایت می تواند بر خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه تأثیر گذارد و میزان آن را پایین آورد. تحقیق Keltawi و Croteau (۱۹۸۷) نیز نشان داد که محیط های شور علاوه بر تأثیر منفی بر رشد گیاهان موجب کاهش تولید متابولیت های آن می شود. Dowو همکاران (۱۹۸۱) بیان کردند که شوری عملکرد اسانس را در گیاهان خانواده ی نعناع کاهش می دهد. Ozturk و همکاران (۲۰۰۴) نیز به نتایج مشابهی در مورد بادرنجبویه رسیدند. این گزارش ها با نتایج به دست آمده در این پژوهش همخوانی ندارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که گونه ی فرفیون، دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نسبتاً بالایی است که می توان از آن به عنوان یک گونه ی گیاهی دارویی بهره برد. عملکرد آنتی اکسیدانی گونه ی فرفیون تحت تأثیر شرایط آب و هوایی و همچنین خصوصیات رویشگاه و عوامل ادافیکی تغییر می کند که این مطالعه این موضوع را ثابت کرد. شناسایی پتانسیل عصاره ی فرفیون و انتخاب رویشگاه و مرحله ی فنولوژی بهینه بسیار ضروری است تا امکان فراهم کردن استخراج مواد مؤثر در استفاده های کاربردی از فرآورده ها و توان افزایش عملکرد دارویی گیاهان را سبب شود.

منابع

رهباریان، ر.، عزیزی، ا.، بهداد، آ.، میربلوک، آ. (۱۳۹۸) بررسی میزان تحمل گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) به تنش کروم بر اساس رشد، شاخص های فتوسنتز و میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان. مجله زیست شناسی کاربردی۳۲(۱): ۳۳-۵۶.

نظری، ص.، نظرنژاد، ن.، ابراهیم زاده، م.ع. (۱۳۹۲) بررسی خواص آنتی اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست درختان اکالیپتوس کاملدولنسیس و کاج جنگلی. فصلنامهٔ علمی پژوهشی تحقیقات علوم چوب و کاغذ ایران ۲۸(۳): ۵۲۲-۵۳۳.

Al-Younis, N.K. and Abdullah, A.F. (2009) Isolation and antibacterial evaluation of plant extracts from some medicinal plants in kurdistan region. Journal Duhok University. 12(1): 250-255.

Black, C.A. (1979) Methodes of soil analysis. American Society of Agronomy. 2: 1572-1771.

Bouyoucos, G.J. (962) Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agronomy Journal. 54: 464-465.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric method. Journal Food Drug Analysis. 10: 178-182.

Dow, A.I., Cline, T.A. and Homing, E.V. (1981) Salt tolerance studies on irrigated mint. Bulletin of Agricultural Research Center, Washington State University, Pullman. 906 pp.

Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Eslami, B. (2010) Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. Central European Journal of Biology. 5(3): 338-345.

Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Pourmorad, F. (2010) Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 9(32): 5212-5217.

Fazli, R., Nazarnezhad, N., Ebrahimzadeh, M.A. and Zabihzadeh, M. (2013) Evaluation of the antioxidant capacities and total phenolic contents of beech and oak Barks. Armaghane Danesh: 18(2): 137-145.

Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M.A. (2009) Antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of 13 Citrus species peels and tissues. Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences. 22(3): 277-281.

Grudwald, J. and Buttel, K. (1996) European phytotherapeutics market drugs made in germany. Journal of Drugs Made in Germany. 39: 6-11.

Hemmati, K.H., Sharifani, M., Kalati, H. and Badiee, P. (2008) Flavonoid content of Hawthorn (*Crataeguus monogyna*) in Iran. International Horticultural Congress. 765: 287-290.

Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidants flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly study. Lancet. 342: 1007-1011.

Hinneburg, I., Damien Dorma, H.J. and Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry. 97(1): 9-122.

Jaakola, L. and Hohtola, A. (2010) Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Plant Celland Environmental. 1239-1241.

Jahanban, A.S., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidavi, R. and Jamei, R. (2008) Antioxidants and antiradicals in almound hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. Food Chemistry. 115: 529-533.

Jayaprakasha, G.K. and Tamil selvi, K.K. (2003) Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis Vinifera*) seed extracts. Food Research International. 36: 117-122.

Josuttis, M., Carlen, C., Crespo, P., Nestby, R., Toldam-Andersen, T.B., Dietrich, H. and Kruger, E. (2012) Acomparison of bioactire compound of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude. Berry Research. 2(2): 73-93.

Keltawi, N.E. and Croteau, R. (1987) Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. Phytochemistry. 26: 1333-134.

Khoshsokhan, F., Babalar, M., Poormeidani, A. and Fatahi, M.R. (2015) Antioxidant Activity, Total Phenolics and oil content of some *Thymus kotschyanus* and *Thymus daenensis* populations. Plant Production and Technology. 7:153-162.

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L.A. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA, Cire. 939, U. S. Gover. Prin. Office, Washington DC.

Oncel, I., Yurdakulol, E., Keles, Y., Kurt, L. and Yildiz, A. (2004) Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. Acta Oecologica. 26: 211-218.

Oomaha, B.D. and Mazza, G. (1996) Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. Journal of Agricultral and Food Chemistry. 44(7): 1746-1750.

Ozturk, A., Hpek, A., Unlukara, A. and Gurbuz, B. (2004) Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm depression of growth and essential oil formation in (*Melissa officinalis* L.). Pakistan Journal of Botany. 36: 782-792.

Pieroni, A., Quave, C.L. and Santorio, R.F. (2004) Folk pharmaceutical knowledge in the territory of the Dolomiti Lucane, inland southern Italy. Journal of Ethnopharmacology. 95: 373-384.

Rabiei, K.H., Bekhradnia, S., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F. and Ebrahimzadeh, M.A. (2012) Antioxidant activity of polyphenol and ultrasonic extracts from fruits of *Crataegus pentagyna* subsp. elburensis. Natural Product Research. 26(24): 2353-2357.

Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V. and Povrenovic, D. (2007) Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry. 104: 830-834.

Shaghaghi, A. Nejad Ebrahimi, S. and Sonboli, A. (2019) Study of total phenolic, total flavonoid content and antioxidant potential in various organs of genus *Papaver* and *Glaucium* collected from Iran. Journal of Plant Production Research. 26(2): 195-214.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16: 144-158.

Stark, S., Julkunen tiitto, R., Holappa, E., Mikkola, K. and Nikula, A. (2008) Concentration of foliar quercetin in natural populations of white birch (*Betula pubescens*) increase with latitude. Chemical Ecology. 34: 1382-1391.

Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P.I., Lazurca, D. and Nason, T.T. (1997) The use of ultrasound for the extraction of bioactive principle from plant materials. Ultrasonics Sonochemistry. 4(2): 135-139.

Walkley, A. and Black, I.A. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. ***Soil Science***. 37:29-38.

Young Kil, H., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung Hllm Kwon, S.S. and Goh, E.J. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of *Crude sorghum* extract. Food Chemistry. 115: 1234-1239.

The effect of ecological and edaphic factors on the active ingredients of Euphorbia (*Euphorbia helioscopia* L.)

N. Jafari[1]*, S.M. Hosseini[2], M.A. Ebrahimzadeh[3]

Received: 2018.12.4
Accepted: 2020.6.2

Abstract

Euphorbia helioscopia L. is one of the important medicinal plants used in traditional medicine all over the world. This study was conducted to investigate the effect of ecological and edaphic factors on the active ingredients of this plant. For this purpose, the Euphorbia plant was collected from 3land whit different altitudes (1861, 949 and 236 m) and replicated 3 times. The plant extract was then prepared using acidic methanol and the phenol content of *Euphorbia* was calculated according to the standard curve of gallic acid and flavonoid based on the quercetin curve. Its antioxidant activity was also investigated in 3 methods of DPPH, nitric oxide and reducing power. This study has clearly shown that the biological activity of the plant extract depends on the amount of phenol and its flavonoids. The results of this study show that Euphorbia plant in Challufe region has the best antioxidant activity in the nitric oxide test and at the highest concentration (800 µg/ml) compared to the other two regions. Our results also showed that the ability of the extracts of Euphorbia in the three studied areas to inhibits nitric oxide free radicals and anti-radical activity of extracts increase with increasing of extract concentration. The results of this study showed that the species of Euphorbia had a high total phenol and flavonoid content and antioxidant activity which can be used as a medicinal plant species.

Keywords: Antioxidant activity, Ecological factors, Euphorbia helioscopia, Reducing power, Secondary compounds.

1- Associate Professor of Biology of Mazandaran University, Iran.
*(Corresponding Author: N.Jafari@umz.ac.ir)
2- MSc in Ecology and Systematics of Mazandaran University, Iran.
3- Professor of Pharmaceutical Chemistry, Sari University of Medical Sciences, Iran.