Research Article

Plant Prod., 2021, 44(3), 407-420
http://plantproduction.scu.ac.ir//

ISSN (P): 2588-543X
ISSN (E): 2588-5979

Morphological, Biochemical and Antioxidant Activity Diversity in Different *Hypericum Perforatum* L. Populations in Iran

Arezoo Shaghaghi[1], Mohammad Omidi Ghaleh-Mohammadi[2], Mohammad Mahdi Jowkar[3]*

1- M.S. of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2- Ph.D. of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran
3- ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran (mjowk@iauksh.ac.ir)

Citation: Shaghaghy, A., Omidi Ghaleh-Mohammadi, M., & Jowkar, M. M. (2021). Morphological, biochemical and antioxidant activity diversity in different *Hypericum perforatum* L. populations in Iran. *Plant Productions,* 44(3), 407-420.

10.22055/ppd.2020.31182.1829

Received: 7 November, 2019 Accepted: 19 February, 2020

Abstract

Introduction

Hypericum perforatum L. is one of the most important species of the genus *Hypericum*. This plant is a perennial herbaceous plant with great adaptation ability. Therefore, St John's Wort can be found widespread throughout the country from sea side levels to 2000m altitude. It is also one of the most important medicinal plants in the world due to its various positive and well-known medicinal properties, especially in the treatment of depression. Hypericin and Hyperforin are known as the main bioactive compounds of this medicinal plant. Due to the high dispersion of *Hypericum* plants in Iran, this experiment was conducted to evaluate 15 populations of *Hypericum* plants at flowering stage using morphological and biochemical properties in order to indicate the best metabolite producing population.

Materials and Methods

Plant materials were selected randomly at full flowering stage from 15 different populations at full bloom in different provinces during summer 2017. Morphological features such as height of plant, number of flower stalk, length of flower stalk, number of non-flower bearing stems, number of flowers, height of the lowest and the highest leaf were evaluated. Plant materials were then dried at room temperature and kept in dark for analysis. Leaf and petals were ground and extraction was conducted by methanol. Hypericin and Hyperforin content of leaves and flowers

© 2021 Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

were evaluated by HPLC equipped with DAD detector. Antioxidant activity of leaves and flowers of *Hypericum* samples were evaluated by DPPH scavenging assay. Phenol content was evaluated by Folin–Ciocalteu (F-C) reaction. Total flavonoid content determination was also conducted by a spectrophotometric assay based on aluminium complex formation.

Results and Discussion

The results showed that there was a significant difference between different populations in terms of morphological traits. The highest aerial part height was seen in 'Khoramabad' population with a value of 92.44 cm. 'Nahavand' population had the shortest height with a value of 49.55 cm. The largest number of flower stalk was seen in 'Sarpol Zahab' population with 16.48 flower stalks. This was while 'Firoozkouh' population had the least number of flower stalks. 'Sijan' population had the most non-flower bearing stems, while 'Shazand' had the least number of non-flower bearing stems. There was a significant difference between antioxidant activity in leaf and flowers of the studied populations. The highest antioxidant activity was observed in 'Borojerd' population. Total Phenol content and flavonoids also differed not only among populations, but also between leaf and flower. 'Sarpol Zahab' had the highest total Phenol content in between the studied populations. This was while 'Nahavand' population had the highest flavonoid content. The results also revealed that the flowers had the highest levels of Hypericin and Hyperforin compared to leaves. The levels of Hyperforin in both organs were significantly higher than Hypericin in all studied populations.

Conclusion

In general, it can be concluded that there is a high variation among different populations and this variation can be used to identify populations with high yields and high levels of effective substances in breeding programs.

Keywords: Flavonoids, Hyperforin, Hypericin, St John's Wort, Total phenol

مقاله پژوهشی

Plant Prod., 2021, 44(3), 407-420
http://plantproduction.scu.ac.ir//

ISSN (P): 2588-543X
ISSN (E): 2588-5979

تنوع مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند جمعیت گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.) در ایران

آرزو شقاقی[۱]، محمد امیدی‌قلعه‌محمدی[۲]، محمدمهدی جوکار[۳]*

۱- کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- دکتری علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی،پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- *نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران (mjowk@iauksh.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۳۰

چکیده

گل‌راعی با نام علمی (*Hypericum perforatum* L) یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس *Hypericum* می‌باشد. این گیاه با دارا بودن مواد مؤثره بیشمار همچون هیپریسین و هیپرفورین و داشتن اثرات شناخته شدهٔ دارویی در درمان افسردگی، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در سطح جهان به‌شمار می‌رود. باتوجه به پراکندگی زیاد گل‌راعی در ایران، این آزمایش به‌منظور ارزیابی مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ۱۵ جمعیت این گیاه در مناطق مختلف ایران در طی سال ۱۳۹۷ انجام و آنالیزهای بیوشیمیایی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه صورت پذیرفت. خصوصیات بیوشیمیایی مختلف منجمله ظرفیت آنتی‌اکسیدانی درکنار میزان متابولیت‌های ثانویهٔ هیپریسین و هیپرفورین در دو اندام برگ و گلبرگ جمعیت‌های مختلف این گیاه مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد بین جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه، از نظر مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. درخصوص صفات بیوشیمیایی، بین اندام‌های مختلف نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. بازده عصاره‌گیری نیز در بین اندام‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه متغییر و متفاوت بود. تفاوت بیوشیمیایی جمعیت‌های گل‌راعی در ایران تنها به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در مهار رادیکال آزاد DPPH محدود نگردید، بلکه شامل مکانیزم‌های غیرآنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات دخیل در شکار رادیکال‌های آزاد همچون فنول‌ها و فلاونوئیدها نیز گردید. محتوای فنل‌کل و فلاونوئید نیز نه تنها در بین جمعیت‌ها بلکه بین اندام‌های برگ و گل نیز تفاوت معنی‌داری داشت. در میزان متابولیت‌های ثانویهٔ نیز بین اندام‌ها و جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به‌نحوی که گلبرگ‌ها در مقایسه با برگ‌ها میزان هیپریسین و هیپرفورین بیشتری داشتند. میزان هیپرفورین در مقایسه با میزان هیپریسین در هر دو اندام و کلیهٔ جمعیت‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. به‌طورکلی تنوع موفولوژیکی و بیوشیمیایی بالایی بین جمعیت‌های مختلف مورد بررسی وجود داشت. از این تنوع علاوه بر شناسایی جمعیت‌های با عملکرد و میزان مواد مؤثره بیشتر جهت برنامه‌های اصلاحی، می‌توان در ایجاد ارقام مقاوم به تنش‌های غیرزیستی نیز استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها: علف‌چای، فلاونوئیدکل، فنل‌کل، هیپریسین، هیپرفورین

مقدمه

گل‌راعی (علف‌چای یا هوفاریقون) با نام علمی *Hypericum perforatum* L. از خانواده Hypericaceae، یک گیاه چندساله ریزوم‌دار و و بومی غرب اروپا، آسیا و شمال آفریقا است (Crockett, 2010). این گیاه به دلیل توانایی بالا در سازگاری، پراکنش وسیعی در کشور دارد داشته و در استان‌های شمالی ایران از ارتفاع صفر تا بیش از ۲۰۰۰ متر از سطح دریا یافت می‌گردد (Azadi, 1999). در ایران حدود ۱۷گونه از گل‌راعی ثبت گردیده که با ارزش‌ترین گونه آن *perforatum* است (Esmaeili et al., 2010). گل‌راعی به دلیل وجود ترکیبات مهمی همچون نفتودیانترون‌ها (هایپریسین و سودوهایپریسین)، آسیل فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین)، زانتون‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها در طب سنتی به‌عنوان داروی ضدافسردگی، خشک‌کننده و بازکننده مخاط بینی و کاهش آن، درمان کزاز و باز کردن گرفتگی‌های معده و کبد و ازدیاد ترشح ادرار، تسکین سردردهای میگرنی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Fathi and Ebrahimzadeh, 2013, Garcia et al., 2015). اصلی‌ترین ترکیبات گل‌راعی هیپرفورین و هیپریسین می‌باشند که دارای خواص ضدافسردگی و ضد میکروبی هستند. هیپریسین در نقطه‌های سیاه رنگ که روی اندام‌های مختلف گیاه تشکیل می‌شود وجود داشته و وجود غده‌های تیره رنگ روی برگ و گل گیاه با صفات مورفولوژیکی و شیمیایی گل‌راعی ارتباط دارد (Glisic et al., 2006). گیاه گل‌راعی دارای دامنه گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه همانند فلاونوئیدها، پروانتوسیانیدین‌ها، نفتودیانترون‌ها (هیپریسین)، آسیل فلوروگلوسینول‌ها (هیپرفورین و ادهیپرفورین) می‌باشد و تاکنون خواص درمانی بالایی برای این گیاه دارویی گزارش شده است که بیشترین تأثیر و کاربرد آن در درمان افسردگی گزارش شده است (Bertoli et al., 2011).

مطالعات زیادی به‌منظور بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و ترکیبات اسانس گیاه گل‌راعی صورت گرفته است ولی نتایج متفاوتی توسط محققین گزارش شده است. علت وجود این تفاوت‌ها می‌تواند به شرایط آب و هوایی منطقه، مرحله‌ی رشدی گیاه در هنگام برداشت نمونه، خصوصیات ژنتیکی گیاه، شرایط تغذیه‌ای و نوع خاکی که گیاهان در آن رشد کرده اند ارتباط داد. شرایط مذکور بر کیفیت و کمیت اسانس گل‌راعی نیز مؤثر هستند (Schwob et al., 2004). در پژوهشی که Cirak et al. (2007) بر روی ترکیبات شیمیایی و چهار صفت مورفولوژیکی (تعداد غدد تیرهٔ برگ، سطح برگ، نسبت طول به عرض برگ و ارتفاع گیاه) جمعیت‌های گیاه گل‌راعی در ترکیه انجام دادند، اختلاف معنی‌داری را از نظر این صفات در بین جمعیت‌های مختلف گزارش کردند. در مطالعهٔ دیگری که Maggi et al.(2014) در کشور ایتالیا انجام دادند، مشخص گردید که ویژگی‌های مورفولوژیکی، هیستولوژیکی و فیتوشیمیایی جنس *Hypericum* اختلاف معنی‌داری از نظر اندازه و شکل برگ‌ها وگل‌ها و هم‌چنین اندازه و توزیع ساختارهای ثانویه در قسمت‌های مختلف با یکدیگر داشتند. میزان هیپریسین موجود در گونه‌های مختلف هیپریکوم تأثیر به‌سزایی در خواص مشاهده شده از آن دارد (Gitea, et al., 2010). میزان هیپریسین استخراج شده از گیاه متأثر از عوامل متعددی منجمله زمان برداشت گیاه، میزان نور، موقعیت جغرافیایی و نوع حلال مورد استفاده می‌باشد. تعداد غده‌های روی اندام‌های مختلف گیاه که دارای هیپریسین و دیگر ترکیبات مهم هستند، با افزایش شدت نور فتوسنتزی افزایش می‌یابند (Buter and Buter, 2002). در طی مطالعاتی که روی تأثیر شدت نور بر تعداد غده تیره رنگ در برگ انجام شد، محققان دریافتند که با افزایش شدت نور، تعداد غده‌های تیره رنگ در برگ افزایش معنی‌داری پیدا کرد. هم‌چنین گزارش کردند که تفاوت در میزان نور در مکان‌های مختلف و پارامترهای محیطی تأثیر بسزایی روی صفات مورفولوژیکی گل‌راعی دارند (Briskin and Gawienowski, 2001). Odabas et al. (2009) تأثیر میزان نور بر صفات

فیتوشیمیایی گل‌راعی را بررسی نمودند و دریافتند که افزایش شدت میزان نور موجب افزایش معنی‌دار تجمع میزان هیپرفورین، هیپریسین و پسودوهیپریسین می‌گردد. از آنجا که گونه‌های بومی گیاه گل‌راعی در هر منطقه ازجمله مهمترین منابع ژنتیکی ارزشمند هر کشور می‌باشد، بررسی دقیق آن‌ها از نظر میزان و وجود مواد مؤثره و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اهمیت زیادی دارد. با توجه به این‌که کشت گل‌راعی در سال‌های اخیر رو به افزایش بوده و گونه‌های مختلف گیاه گل‌راعی در ایران دارای پراکنش جغرافیایی گسترده هستند و به فراوانی در چندین منطقه آب و هوایی یافت می‌شوند، لذا این پژوهش به ارزیابی برخی صفات مورفولوژیکی، محتوای آنتی اکسیدان، فلاونوئید و فنل کل در ۱۵ جمعیت گل‌راعی ایران پرداخته تا مناسب‌ترین جمعیت از نظر میزان متابولیت‌های ثانویه و هم‌چنین محتوای آنتی‌اکسیدانی تعیین و شناسایی گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی نمونه‌های گیاهی

باتوجه به پراکنش بسیار وسیع گل‌راعی در ایران، مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش اندام هوایی ۱۵ جمعیت جمع‌آوری شده گل‌راعی از نقاط مختلف کشور بود (جدول ۱). نمونه‌برداری گیاهان مورد نظر به شکل تصادفی در مرحله گلدهی کامل در فصل تابستان سال ۱۳۹۶ انجام شد. پس از بررسی صفات مورفولوژیکی و جمع‌آوری اندام هوایی (از هر جمعیت میانگین ۸ تا ۱۰ بوته)، نمونه‌ها به مدت دو تا سه هفته در دمای اتاق حدود ۲۵-۳۰ درجه سانتیگراد و به‌صورت طبیعی خشک گردیدند. سپس تا زمان بررسی صفات فیتوشیمیایی در پاکت کاغذی تیره در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و دور از نور خورشید نگهداری شدند.

صفات مورفولوژیکی مورد ارزیابی

پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و انتقال به آزمایشگاه، صفات مورفولوژیکی مانند :ارتفاع بوته، تعداد ساقهٔ گلدار، تعداد ساقهٔ بدون گل، تعداد گل، طول بالاترین و پایینترین برگ و طول گل‌آذین مورد سنجش قرار گرفت.

استخراج و بازده عصاره‌گیری

پیکرهٔ رویشی و گلبرگ‌های هر جمعیت از گل‌راعی پس از انتقال به آزمایشگاه در شرایط سایه خشک شد و سپس آسیاب گردید. در ادامه پیکرهٔ رویشی و گلبرگ هر نمونه جداگانه به روش تقطیر با متانول توسط کلونجر به مدت ۴ ساعت عصاره‌گیری و در محل تاریک با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد (Akhbari and Ebrahimian, 2017).

Table 1. Origin and geographical coordination of collected *Hypericum* populations from various parts of Iran

No.	District name	Latitude	Longitude	Altitude
1	Tehran (Damavand)	52.4	35.43	2067
2	Tehran (Firozkouh)	52.46	35.45	1938
3	Alborz (Karaj)	50.58	35.49	1312
4	Alborz (Taleghan)	50.46	36.10	1809
5	Alborz (Sijan)	51.08	35.55	2095
6	Lorestan (Boroujerd)	48.45	38.53	1752
7	Lorestan (Khoramabad)	48.21	33.29	1188
8	Khorasan (Nishabour)	58.47	36.12	1198
9	Hamedan (Nahavand)	48.22	34.11	1661
10	Hamedan (Hamedan)	48.30	34.47	1818
11	Markazi (Shazand)	49.29	33.55	1904
12	Mazandaran (Nour)	51.58	36.32	81
13	Mazandaran (Kalardasht)	51.90	36.30	1201
14	Kermanshah (Sarpo-Zahab)	54.52	34.27	556
15	Charmahal Bakhtiyari (Farsan)	50.33	32.15	2036

اندازه‌گیری میزان هیپریسین و هیپرفورین

برای اندازه‌گیری میزان ترکیب‌های هیپریسین و هیپرفورین از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به آشکارساز آرایه دیودی (DAD) استفاده شد. دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Agilent مدل ۱۲۰۰ با گستره طول موج قابل تنظیم از ۱۹۰تا ۷۵۰ نانومتر و محل تزریق دستی با حجم لوپ ۲۰ میکرولیتر بود. جداسازی‌ها در ستون Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 تجزیه‌ای با طول ۱۵ سانتی‌متر و قطر درونی ۴/۶ میلی‌متر انجام شد. فاز متحرک مورد استفاده شامل متانول: استونیتریل: بافر فسفات ۰/۰۳ درصد (با نسبت‌های حجمی ۱۰:۴۰:۵۰) و با شدت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه بود. برای سنجش میزان هیپریسین و هیپرفورین از استاندارد مواد مذکور استفاده و منحنی کالیبراسیون در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این ترکیب‌ها تهیه و رابطه رگرسیونی آن‌ها به‌دست آمد (Azizi and Dias, 2003).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از روش Sun et al. (2007) و رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی عصاره‌های گیاهی با غلظت ۱۰ الی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر متانول تهیه شدند. سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (۸ میلی گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر) و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف تهیه شد. جذب نمونه‌ها پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه و تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر در سه تکرار خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از رابطه زیر به دست آمد:

درصد بازداری = $A517^{control}$-$A517^{Sample}$/$A517^{control}$×100

در رابطه فوق $A517^{control}$ و $A517^{Sample}$ به‌ترتیب شدت نور جذب شده توسط شاهد و نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر می‌باشد. به‌منظور مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهوم IC50 (غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد رادیکال آزاد را از بین می‌برد) استفاده شد.

اندازه‌گیری فنل کل

به‌منظور ارزیابی فنل کل، طبق روش پیشنهادی Slinkard and Singleton. (1977) به ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی ۱ میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتیو (۰/۱) و ۰/۸ میلی‌لیتر سدیم‌کربنات (۷/۵) درصد اضافه شد. در نهایت جذب همه نمونه‌ها پس از نگهداری به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Lambda-EZ-201) اندازه‌گیری گردید. منحنی استاندارد بر اساس اسیدگالیک رسم و میزان ترکیبات فنلی گیاه معادل میلی‌گرم گالیک‌اسید در یک گرم عصاره خشک مشخص گردید.

تعیین میزان فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید بر اساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید پیشنهادی توسط Chang et al. (2002) انجام شد. طبق این روش ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد با ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره و ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر از آب‌مقطر مخلوط گردیده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد و سپس جذب آن در ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Lambda-EZ-201) خوانده شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین ۱۰۰ -۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در متانول جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و محتوای فلاونوئید به‌صورت اکی‌والان‌های کوئرستین بر گرم وزن عصاره خشک بیان شد.

آنالیز داده‌ها

بررسی‌های آماری براساس آنالیز واریانس تک عاملی توسط نرم افزار Minitab ویرایش ۱۶ و تجزیه و تحلیل مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی صفات مورفولوژیکی جمعیت‌های مختلف گل‌راعی نشان داد که بین جمعیت‌های مورد مطالعه در کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲). بیشترین ارتفاع گل‌راعی در جمعیت‌های مورد مطالعه به‌ترتیب در گیاهان خرم‌آباد با میانگین ۹۲/۴۴ سانتی‌متر و سرپل ذهاب با میانگین ۹۰/۱۱ سانتی‌متر مشاهده گردید. از سوی دیگر کمترین ارتفاع نیز

در نمونه‌های نهاوند با میانگین ۴۹/۵۵ سانتی‌متر مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین ساقهٔ گلدار در جمعیت گل‌راعی منطقهٔ سرپل ذهاب با میانگین ۱۶/۴۸ ساقهٔ گلدار در بوته و کمترین تعداد ساقهٔ گلدار نیز در جمعیت مربوط به منطقهٔ فیروزکوه با میانگین ۷/۱۱ ساقهٔ گلدار در بوته مشاهده گردید. برای صفت تعداد ساقهٔ بدون گل در هر بوته نیز بیشترین ساقه‌های بدون گل در نمونه‌های جمعیت سی‌جان استان البرز با میانگین ۱۳/۲۹ ساقه و کمترین تعداد ساقهٔ بدون گل در جمعیت شازند با میانگین ۶/۳۲ ساقه مشاهده گردید (جدول ۲). با توجه به بررسی صورت گرفته، بیشترین و کمترین تعداد گل در بوته به‌ترتیب در جمعیت‌های گل‌راعی مناطق نهاوند با میانگین ۹۲/۲۳ و دماوند با میانگین ۳۹/۲۱ گل در بوته مشاهده شد. هم‌چنین نتایج بررسی صفت طول بالاترین برگ در ساقه نشان داد که بیشترین طول برگ در جمعیت طالقان با میانگین ۱۲/۷۴ و کمترین طول برگ نیز در نمونه‌های جمع آوری شده از منطقهٔ بروجرد با میانگین ۵/۳۹ میلی متر مشاهده گردید. بیشترین طول گل‌آذین در جمعیت‌های گل‌راعی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقهٔ نور استان مازندران با میانگین ۷/۸۲ میلی‌متر و کمترین طول گل‌آذین در گل‌راعی منطقه شازند با میانگین ۴/۱۹ میلی متر مشاهده شد.

بازده استخراج عصاره‌ی برگ و گل

میزان عصارهٔ حاصل از نمونه‌های برگ و گل جمعیت‌های گل‌راعی به‌منظور سنجش تفاوت بین جمعیت‌های مختلف گل‌راعی بررسی شد. نتایج بررسی بازده استخراج عصاره از نمونه‌های برگ جمعیت‌های گل‌راعی نشان داد که تفاوت زیادی بین جمعیت‌های مختلف گل‌راعی ایران وجود دارد. بازده استخراج عصاره برای برگ گل‌راعی در جمعیت‌های مورد مطالعه بین ۸ تا ۱۵/۶ درصد متغییر است. به نحوی که بیشترین بازده عصاره از برگ به‌ترتیب در جمعیت نور با میانگین ۱۵/۶ درصد و طالقان با میانگین ۱۴/۵ درصد مشاهده شدند. کمترین درصد بازده استخراج عصاره از برگ در نمونه‌های گل‌راعی جمعیت کلاردشت با میانگین ۸/۹۸ درصد مشاهده گردید (شکل ۱الف). این صفت مورد مطالعه می‌تواند در تعیین و انتخاب بهترین جمعیت جهت بدست آوردن حداکثر بازدهی عصاره کمک نماید. دامنهٔ بازده استخراج عصاره برای نمونه‌های گل در جمعیت‌های گل‌راعی بین ۵ تا ۱۲ درصد متغیر بود به‌طوری‌که بیشترین درصد استخراج عصاره از گلبرگ‌های گل‌راعی به‌ترتیب در جمعیت طالقان با میانگین ۱۱/۲۸ درصد و شازند با میانگین ۱۱/۲۴ درصد مشاهده گردید. کمترین بازده عصاره از گل نیز در جمعیت مربوط به منطقه نیشابور با میانگین ۵/۱۵ درصد به‌دست آمد (شکل ۱ الف).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج به‌دست‌آمده درخصوص میزان فعالیت

Table 2. Morphological traits studied in various *Hypericum* populations

District name	Plant height (cm)	Number of flower stalk	Number of non-flower bearing stems	Number of flowers	Highest leaf height (mm)	Flower stalk length (mm)
Tehran (Damavand)	87.34^{ab}	11.24^{ab}	8.17^{bc}	39.21^{c}	9.11^{ab}	5.15^{bc}
Tehran (Firozkouh)	54.19^{c}	7.11^{c}	9.54^{ab}	41.14^{bc}	10.61^{ab}	6.21^{bc}
Alborz (Karaj)	71.56^{bc}	10.36^{ab}	13.12^{ab}	50.35^{b}	8.32^{ab}	7.4^{ab}
Alborz (Taleghan)	65.14^{bc}	9.26^{bc}	10.72^{ab}	48.82^{b}	12.74^{a}	5.33^{bc}
Alborz (Sijan)	75.23^{bc}	8.17^{bc}	13.29^{a}	72.51^{ab}	8.19^{ab}	6.14^{bc}
Lorestan (Boroujerd)	78.63^{bc}	9.91^{b}	8.73^{bc}	48.03^{b}	5.39^{b}	5.22^{bc}
Lorestan (Khoramabad)	92.44^{a}	10.16^{b}	10.64^{ab}	39.94^{bc}	9.54^{ab}	5.44^{bc}
Khorasan (Nishabour)	82.47^{ab}	13.45^{ab}	9.18^{ab}	49.36^{b}	10.48^{ab}	7.30^{ab}
Hamedan (Nahavand)	49.55^{c}	13.25^{ab}	8.32^{bc}	92.23^{a}	9.11^{ab}	6.25^{bc}
Hamedan (Hamedan)	80.36^{ab}	8.18^{bc}	10.71^{ab}	40.34^{bc}	9.46^{ab}	7.55^{ab}
Markazi (Shazand)	86.53^{ab}	15.65^{a}	5.32^{c}	72.18^{ab}	12.27^{ab}	4.19^{c}
Mazandaran (Nour)	56.77^{bc}	10.44^{ab}	7.25^{bc}	43.40^{bc}	10.72^{ab}	7.82^{a}
Mazandaran (Kalardasht)	76.39^{bc}	13.66^{ab}	7.69^{bc}	87.16^{ab}	12.37^{ab}	7.64^{ab}
Kermanshah (Sarpo-e-Zahab)	90.11^{ab}	16.48^{a}	6.79^{bc}	41.29^{bc}	8.75^{ab}	6.92^{ab}
Charmahal Bakhtiyari (Farsan)	73.68^{bc}	7.61^{bc}	9.69^{ab}	64.83^{ab}	12.65^{a}	7.35^{ab}

Means with similar letters in a column are not significantly different at probability level of 5 % using DMR test.

آنتی‌اکسیدانی نشان داد بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های برگ جمعیت بروجرد با میانگین ۶۷ و سپس نمونه‌های برگ جمعیت همدان با میانگین ۶۶ مشاهده شد. از سوی دیگر کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ در جمعیت کلاردشت با میانگین ۳۷ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۱ب). بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گلبرگ به‌ترتیب در جمعیت‌های بروجرد و کلاردشت به میزان ۴۵ و ۱۹ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید (شکل ۱ ب). در مجموع نتایج مشاهده شده برای فعالیت اکسیدانی در برگ و گلبرگ جمعیت‌های گل‌راعی نشان داد که تفاوت بسیار زیادی بین دو اندام و جمعیت‌ها مورد مطالعه وجود دارد. این اختلاف می‌تواند در نتیجهٔ تاثیر شرایط رشد گیاهان بر میزان تولید آنتی اکسیدان‌ها در برگ و گل گیاهان باشد.

محتوای فنل کل

نتایج حاصل درخصوص محتوای فنل کل در برگ جمعیت‌های مختلف گل‌راعی نشان داد که بیشترین مقدار فنل برگ در جمعیت سرپل ذهاب با میانگین ۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و کمترین مقدار آن در جمعیت فارسان استان چهارمحال و بختیاری با میانگین ۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک وجود داشت. بین گیاهان گل‌راعی سایر مناطق نیز اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فنل برگ مشاهده گردید (شکل ۱ پ). مطالعه محتوای فنل کل در گل‌های جمعیت‌های مختلف گل‌راعی نیز نشان داد بین جمعیت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین و کمترین میزان فنل کل به‌ترتیب در گلبرگ جمعیت‌های کرج و فارسان به‌ترتیب با میانگین ۵۵ و ۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک وجود داشت. تفاوت زیاد در فنل کل بین جمعیت‌های گل‌راعی در مناطق مختلف ایران می‌تواند در شناسایی و انتخاب جمعیت مناسب اهداف اصلاحی کمک نماید.

محتوای فلاونوئید

بررسی میزان فلاونوئید در برگ و گل جمعیت‌های مختلف گل‌راعی مورد مطالعه، نشان داد بین اندام و جمعیت‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری در میزان فلاونوئید وجود دارد. بیشترین محتوای فلاونوئید برگ در جمعیت نهاوند با میانگین ۲/۳۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و سپس در جمعیت‌های مناطق طالقان و سرپل ذهاب مشاهده گردید. کمترین محتوای فلاونوئید برگ نیز به‌ترتیب در جمعیت‌های بروجرد و نیشابور با میانگین ۰/۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک مشاهده گردید. بیشترین و کمترین محتوای فلاونوئید گل در جمعیت‌های مناطق کلاردشت و بروجرد با میانگین ۱/۲۴ و ۰/۵۶ میلی‌گرم برگرم وزن خشک رؤیت گردید (شکل ۱ت).

میزان هیپریسین و هیپرفورین

بررسی میزان هیپریسین و هیپرفورین در بین جمعیت‌های گل‌راعی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بین میزان این دو ماده در اندام‌های مختلف مورد مطالعه و جمعیت‌های مختلف مورد بررسی وجود دارد (شکل ۲). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، گل‌ها در مقایسه با برگ‌ها هیپریسین و هیپرفورین بیشتری دارند. هم‌چنین نتایج نشان داد که میزان هیپرفورین در بین جمعیت‌های مورد مطالعه در مقایسه با میزان هیپریسین به‌طور معنی‌داری بیشتراست (شکل ۲). بیشترین مقدار هیپریسین در برگ جمعیت کرج با میانگین ۲/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و کمترین میزان آن در گل‌راعی متعلق به جمعیت سی‌جان با میانگین ۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد. هم‌چنین بیشترین و کمترین مقدار هیپریسین به‌ترتیب در گل‌های جمعیت همدان با میانگین ۳/۷۵ و سی‌جان استان البرز ۱/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد. بیشترین میزان هیپرفورین در نمونه‌های برگ و گل جمعیت همدان با میانگین ۶۳/۱۶ و ۴۹/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد. کمترین مقدار هیپرفورین نیز در نمونه‌های اندام گل و برگ جمع‌آوری شده از جمعیت بروجرد با میانیگن ۲۴/۳۶ و ۱۵/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک مشاهده شد (شکل ۲ ب).

همان‌طور که در نتایج ذکر گردید، بین جمعیت‌های مختلف گل‌راعی تفاوت‌های زیادی از لحاظ مورفولوژیکی و آناتومی وجود دارد. این تفاوت در بروز صفات ظاهری می‌تواند به دلیل تأثیر شرایط محیطی بر

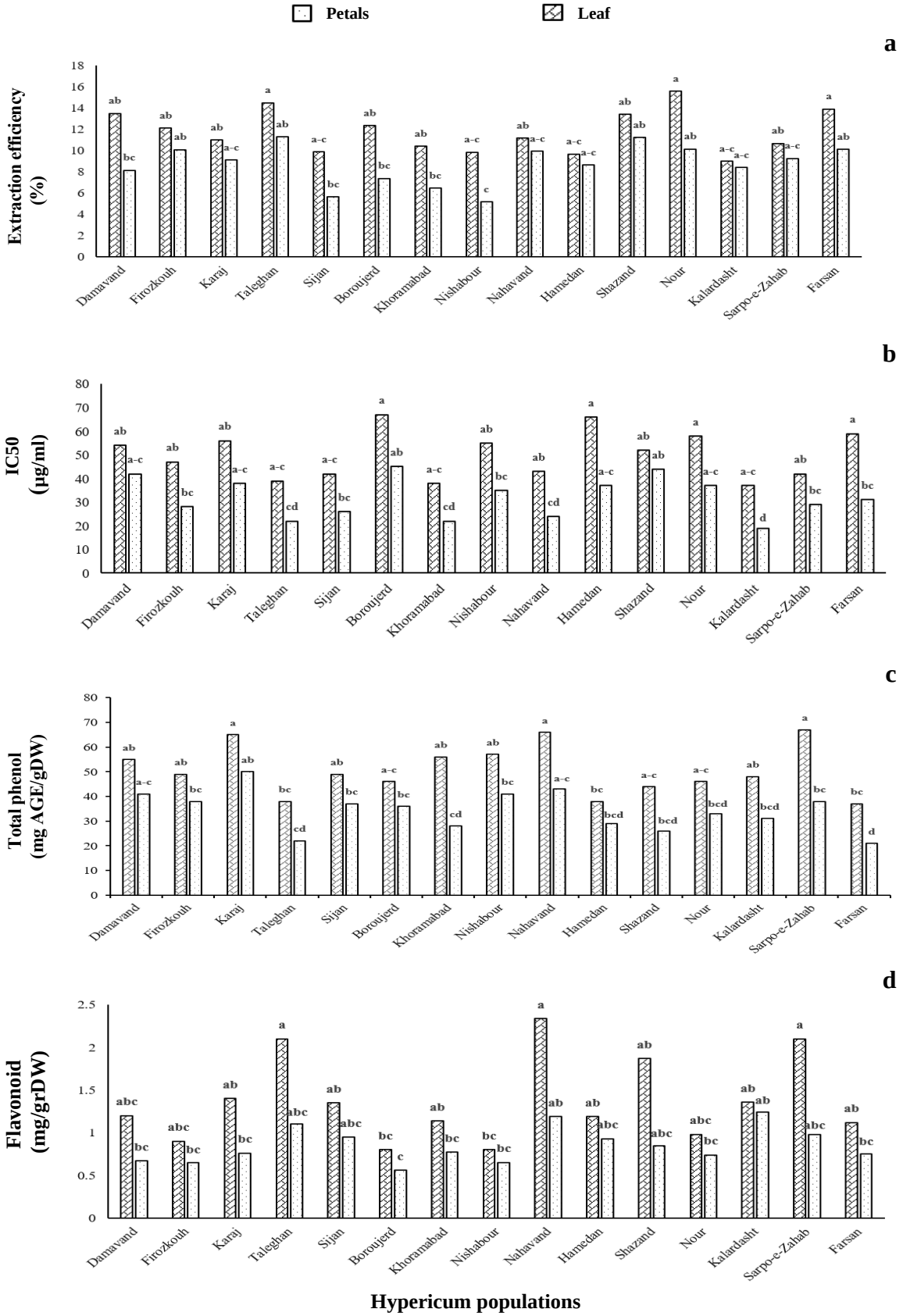

Figure 1. a) Methanol extraction efficiency, b) antioxidant IC50 capacity, c) total phenol content and d) flavonoids content in flowers and leaves of various studied *Hypericum perforatum* populations (means with similar letters are not significantly different at 5% probability level using DMR test)

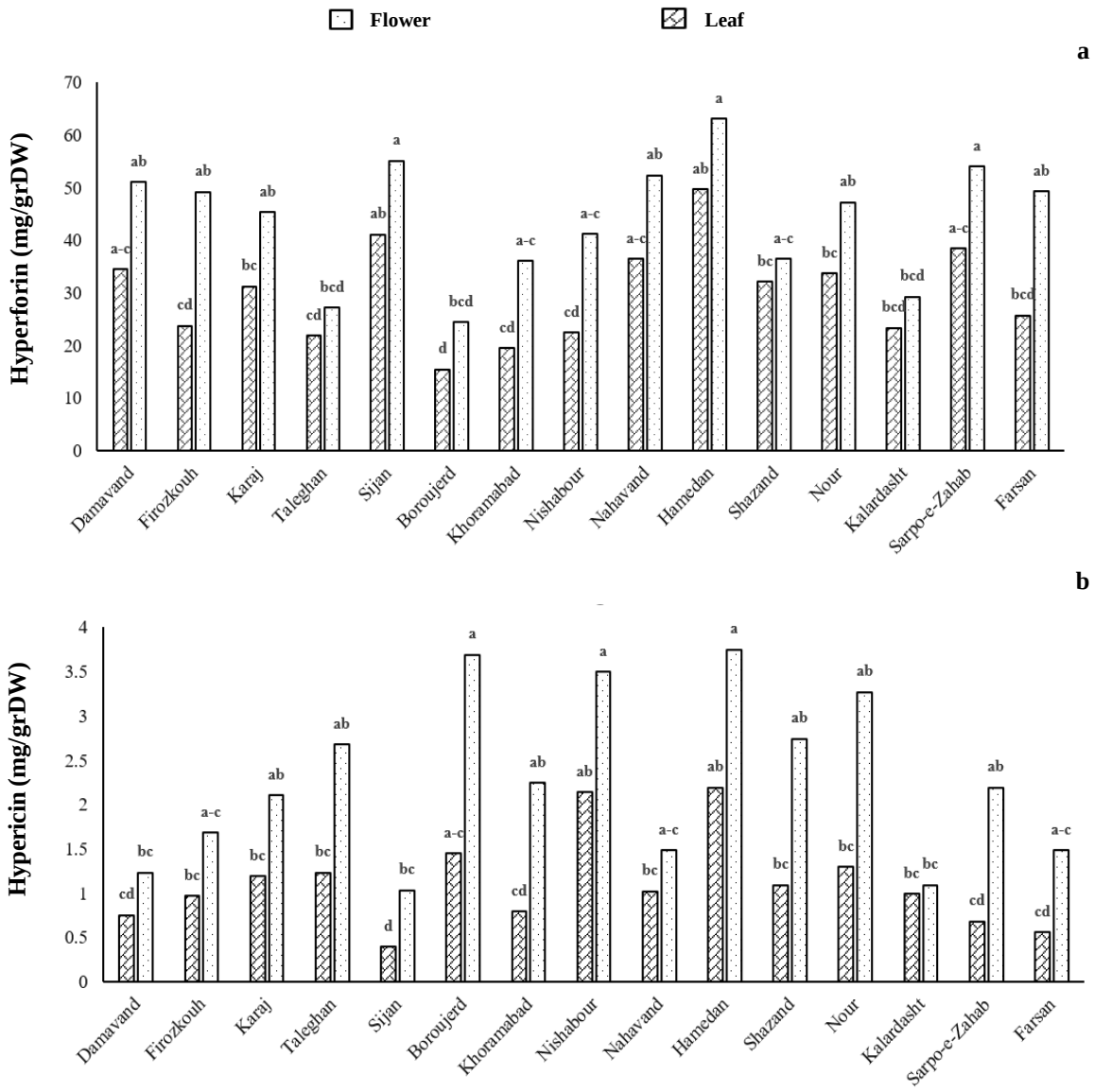

Figure 2. Hyperforin (a) and Hypericin (b) content in flowers and leaves of various studied *Hypericum perforatum* populations (means with similar letters are not significantly different at 5% probability level using DMR test)

رشد گیاهان باشد که درنتیجه آن یک گونهٔ یکسان در نقاط مختلف، عادت رشد متفاوتی را بروز دهد. مطالعات زیادی به منظور بررسی تنوع مورفولوژیکی گل‌راعی انجام شده است. در مطالعه‌ای که توسط Cirak et al. (2007) بر روی ویژگی‌های مورفولوژیکی و مواد مؤثره گیاه گل‌راعی (ترکیبات عصاره مانند هیپریسین و هیپرفورین) در ترکیه انجام شد، تنوع بالای در صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی برای جمعیت‌های مورد مطالعه گزارش گردید. در گیاهان دیگر همچون خارمریم نیز مشخص شده است که کمیت و کیفیت مواد مؤثره تحت تأثیر خصوصیات جغرافیایی محل رویش و هم‌چنین زمان تغییر می‌نماید (Hamid et al., 2014).

Roblek et al. (2008) گزارش نمودند که همبستگی مثبتی بین ارتفاع با فاصله میانگره و تعداد گل در جمعیت‌های گل‌راعی وجود دارد. درواقع، نتایج پژوهش پیش‌رو نشان داد که صفات مورفولوژیکی و پراکنش

جغرافیایی گیاه گل‌راعی از الگوی خاص و مشابهی پیروی نکردند که این نتایج با نتایج Riazi et al. (2011) همخوانی داشت. از سویی دیگر مطالعات Schwob et al. (2004) نشان داد که خصوصیات ژنتیکی گیاه، نحوهٔ فرآوری و تغییرات فصلی نیز از جمله عوامل دیگری هستند که می‌توانند بر نوع ترکیبات عصاره‌ی گل‌راعی مؤثر باشند. عصارهٔ گل‌راعی محتوی ترکیبات فنلی زیادی از جمله فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی می‌باشد که بیانگر خاصیت آنتی اکسیدانی عصارهٔ این گیاه می‌باشد. در پژوهش پیش‌رو نیز تفاوت زیادی در میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنل کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بین جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه مشاهده شد. هم‌چنین در بین جمعیت‌های مختلف بین اندام‌های برگ و گل نیز اختلاف معنی‌داری از نظر وجود این ترکیبات مشاهده شد. این تفاوت در میزان اسانس بین اندام‌های مختلف در گیاهان دارویی دیگر نیز مشاهده گردیده است (Pourhosseini et al., 2018). علاوه بر اسانس، گل راعی حاوی ترکیبات فنلی زیادی چون فلاونوئیدها، هایپریسین و هایپرفورین است که عمده شهرت این گیاه به دلیل وجود این ترکیبات است. در مطالعاتی که به‌منظور بررسی جمعیت‌های گل‌راعی ایران انجام پذیرفت، وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به منظور مهار فعالیت پراکسایش لیپید ضروری ارزیابی شد (Akhbari et al., 2012a; Akhbari et al., 2012b). فلاونوئیدها از دیگر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه به شمار می‌روند که نقش حفاظتی زیادی نیز برای گیاه دربر دارند. در تحقیقی که روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حاوی مقادیر بالای فلاونوئید گل‌راعی در کشور چین انجام پذیرفت، مشخص شد که این فلاونوئیدها توانایی زیادی در بازدارندگی رادیکال‌های DPPH و سوپر اکسید دارند (Zou et al., 2004). در بررسی دیگری که روی خاصیت آنتی اکسیدانی عصارهٔ اتانولی این گیاه در کشور پرتغال صورت گرفت IC50 یا قدرت بازدارندگی DPPH بالایی به دست آمد، که نتایج به دست آمده از این مطالعه و دیگر مطالعات صورت گرفته در این گیاه بیانگر فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی گیاه گل‌راعی می‌باشد (Fathi and Ebrahimzadeh, 2013). پژوهش‌های صورت گرفته دیگر نشان داده‌اند که ترکیبات ثانویه گیاهان تحت تأثیر شرایط محیطی مانند دما، تابش ماورای بنفش، موجودیت آب و ارتفاع می‌باشد (Dorri et al., 2009). در مطالعات صورت گرفته زیادی رویشگاه‌های مختلف بر میزان و نوع متابولیت‌ها و ترکیبات اسانس گل‌راعی مؤثر بوده‌اند. به‌طوری‌که تأثیر شرایط اقلیمی بر میزان مواد مؤثر گل‌راعی کاملاً واضح است. در پژوهشی Lebaschi et al.(2014) مشاهده نمودند که بیشترین میزان هیپریسین در بین رویشگاه‌های مختلف در نمونه گرگان بدست آمد. مطالعات صورت گرفته در هفت منطقه از آمریکا توسط Walker et al. (2001) نیز نشان داد محیط رویشگاه بر خصوصیات ظاهری و میزان هیپریسین گیاه گل‌راعی تأثیر گذار است. در مطالعه‌ای دیگر، Pietta et al. (2001) با جمع‌آوری نمونه‌های گل‌راعی از نواحی مختلف ایتالیا مشاهده نمودن میزان هیپریسین در نواحی مختلف با یکدیگر تفاوت دارد. هم‌چنین Xenophontos et al. (2008) در بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر روی میزان هیپریسین کل در یونان به این نتیجه رسیدند که بسته به ارتفاع زیستگاه، تفاوت زیادی در میزان هیپریسین کل وجود دارد و با افزایش ارتفاع، میزان هیپریسین کل افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد بین جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه گل‌راعی در ایران، از نظر مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. تفاوت بیوشیمیایی جمعیت‌های گل‌راعی در ایران تنها به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در مهار رادیکال آزاد DPPH محدود نمی‌گردد، بلکه شامل مکانیزم‌های غیرآنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات دخیل در شکار رادیکال‌های آزاد همچون فنول‌ها و فلاونوئیدها نیز می‌گردد. بین اندام‌های

مورد مطالعه در هر گیاه نیز، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مکانیزم غیرآنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید. به‌طورکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات دخیل در شکار رادیکال‌های آزاد در برگ‌ها بیشتر از گلبرگ‌ها ثبت گردید. بین میزان متابولیت‌های ثانویه مورد مطالعه همچون هیپریسین و هیپرفورین در جمعیت‌های مورد مطالعه و اندام‌های مختلف نیز تفاوت معنی‌دار مشاهد گردید. متابولیت‌های ثانویه همچون هیپریسین و هیپرفورین در گلبرگ‌ها بیشتر از برگ‌ها وجود داشت.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه به جهت حمایت‌های صورت گرفته در جهت پیشبرد پژوهشی حاضر در قالب طرح پژوهشی مستقل با شماره ۵۷۳ کمال تشکر را دارند.

References

Akhbari, M., & Ebrahimian, M. (2017). Comparison of hypericin content, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of Hypericum perforatum L. from three geographic regions of Iran. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 19(1),89-95. [In Farsi]

Akhbari, M., Batooli, H., & Kashi, F. J. (2012). Composition of essential oil and biological activity of extracts of *Viola odorata* L. from central Iran. *Natural Product Research*, 26(9), 802-809.

Akhbari, M., Batooli, H., & Mozdianfard, M. (2012). Comparative study of composition and biological activities of SDE prepared essential oils from flowers and fruits of two *Hypericum* species from central Iran. *Natural Product Research*, 26(3), 193-202.

Azadi, R. (1999). Iranian Flora No. 27: Guttiferae. Iran: Institute of Forests and Rangelands Research Press.

Azizi, M., & Dias, A. (2003). The study on morphological characteristics of Iranian St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) and active substances content by HPLC-DAD. *Agricultural Sciences and Technology*, 17(1), 21-30.

Bertoli, A., Cirak, C., & Teixeira da Silva, J. A. (2011). *Hypericum* species as sources of valuable essential oils. In J. A. Teixeira da Silva (Ed.), *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology* (pp. 29-47). UK: Global Science Books.

Briskin, D. P., & Gawienowski, M. C. (2001). Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(12), 1075-1081.

Buter, K. B., & Buter, B. (2002). Ontogenetic variation regarding hypericin and hyperforin levels in four accessions of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 9(2-3), 95-100.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.

Cirak, C., Radusiene, J., Karabuk, B., Janulis, V., & Ivanauskas, L. (2007). Variation of bioactive compounds in *Hypericum perforatum* growing in Turkey during its phenological cycle. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49(5), 615-620.

Crockett, S. L. (2010). Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (*Hypericaceae*). *Natural Product Communications*, 5(9), 1493-1506.

Dorri, M. H., Hosseini, S. A., & Lebaschi, M. H. (2009). Investigating the amount of hypericin in two natural sites of *Hypericum perforatum* in Golestan province. *Iranian Scientific Research Quarterly Journal of Aromatic Herbs*, 24(2), 117-125.

Esmaeili, S., Abdollahi, P., Mahmoodpur, H., & Naghibi, F. (2010). Identification and determination of hypericin in *Hypericum perforatum*'s products in Iran's market. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2), 87-87.

Fathi, H., & Ebrahimzadeh, M. A. (2013). Antioxidant and free radical scavenging activities of *Hypericum perforatum* L. (st. John's wort). *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 3(2), 68-72.

Garcia, I., Ballesta, S., Gilaberte, Y., Rezusta, A., & Pascual, A. (2015). Antimicrobial photodynamic activity of hypericin against methicillin-susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Future Microbiology*, 10(3), 347-356.

Gitea, D., Sipos, M., Mircea, T. A. M. A. S., & Pasca B. (2010). The analysis of alcoholic extracts of *Hypericum* species by UV/VIS spectrophotometry. *Analele Universităţii din Oradea-Fascicula Biologie*, 17, 111-115.

Glisic, S. B., Popadic, S. V., & Skala, D. U. (2006). St. John's Wort *Hypericum perforatum* L.: Supercritical extraction, antimicrobial and antidepressant activity of extract and some component. *Hemijska Industrija*, 60(3-4), 61-71.

Hamid, R., Siahpoush, M. R., Mamaghani, R., & Siahpoush, A. (2014). Evaluation of ten *Silybum marianum* (L.) ecotypes using morphological, phenotypical and phytochemical characteristics. *Plant Productions*, 37(1), 36-47. [In Farsi]

Lebaschi, M. H., Matin, A., & Sharifi-Ashurabadi, A. (2004). Comparing the agricultural and natural ecosystems in the production of hypericin. *Research and Construction in Natural*, 16(2), 48-54.

Maggi, F., Ferretti, G., Pocceschi, N., Menghini, L., & Ricciutelli, M. (2004). Morphological, histochemical and phytochemical investigation of the genus *Hypericum* of the Central Italy. *Fitoterapia*, 75(7-8), 702-711.

Odabas, M. S., Radugieneuml, J., Camas, N., Janulis, V., & Ivanauskas, L. (2009). The quantitative effects of temperature and light intensity on hyperforin and hypericins accumulation in *Hypericum perforatum* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(7), 519-525.

Pietta, P., Gardana, C., & Pietta, A. (2001). Comparative evaluation of St. John's wort from different Italian regions. *Il Farmaco*, 56(5-7), 491-496.

Pourhosseini, S.H., Mirjalili, M.H., Nejad Ebrahimi, S., & Sonboli, A. (2018). Essential Oil Quantity and Quality of Different Plant Organs from *Perovskia abrotanoides* Karel in Natural Habitat of North Khorasan province. *Plant Productions*, 40(4), 53-62. [In Farsi]

Riazi, A., Majnon Hosseini, N., Naghdibadi, H., Naghavi, M. R., Rezazadeh, S. H., & Ajani, Y. (2011). Study of morphological characteristics of wild populations of Hypericum in Iran's Natural Habitats. *Journal of Medicinal Plants*, 10(39), 49-64.

Roblek, M., Germ, M., Trost Sedej, T. A. D. E. J. A., & Gaberscik, A. (2008). Morphological and biochemical variations in St. John's wort, *Hypericum perforatum* L., growing over altitudinal and UV-B radiation gradients. *Periodicum Biologorum*, 110(3), 257-262.

Schwob, I., Bessiere, J. M., Masotti, V., & Viano, J. (2004). Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(8), 735-745.

Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.

Sun, T., Xu, Z., Wu, C. T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W., & No, H. K. (2007). Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, 72(2), 98-102.

Walker, L., T. Sirvent, D. Gibson and Vance, N. (2001). Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the northwestern United States. *Canadian Journal of Botany*, 79(10), 1248-1255.

Xenophontos, M., Stavropoulos, I., Avramakis, E., Navakoudis, E., Dornemann, D., & Kotzabasis, K. (2008). Influence of the habitat altitude on the (proto) hypericin and (proto) pseudohypericin levels of *Hypericum* plants from Crete. *Planta Medica*, 74(12), 1496.

Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5032-5039.