ارزیابی تأثیر زمان عصاره‌گیری و اندام مورد استفاده بر محتوای فنل کل جمعیت‌های مختلف کتان سفید (*Linum album* Ky. ex Boiss) در شرایط یکسان

رضا کیانی*[۱]، وحیده ناظری[۲]، کرامت الله رضایی[۳]، رمضان کلوندی[۴]

[۱،۲] گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۳] گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۴] عضو هیئت‌علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، همدان، ایران

*نویسنده مسئول: kianireza37@ut.ac.com

چکیده

ترکیب‌های فنلی نقش عمده‌ای در برهم‌کنش گیاهان با محیط اطرافشان بازی می‌کنند. همچنین برای رشد و تولیدمثل گیاهان ضروری می‌باشند. کتان سفید گیاهی چندساله و علفی از تیره‌ی کتان و اندمیک ایران است که در شمال غرب، غرب و مرکز کشور گسترش دارد. این گیاه حاوی ترکیبات لیگنانی مهمی نظیر پودوفیلوتوکسین و ۶-متوکسی پودوفیلوتوکسین است که دارای ویژگی‌های ضدویروسی و ضد توموری هستند. این تحقیق باهدف ارزیابی تأثیر زمان عصاره‌گیری و محتوای فنل کل در برگ و ساقه‌ی جمعیت‌های مختلف کتان سفید انجام شد. به این منظور آزمایشی با ۱۲ جمعیت کشت‌شده کتان سفید در مزرعه گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد. نتایج نشان داد که افزایش مدت‌زمان عصاره‌گیری بسته به اندام و جمعیت مورد استفاده، باعث کاهش یا افزایش مقدار فنل کل می‌گردد. بیشترین میزان فنل کل در برگ جمعیت A۱۲ (جمعیت اصفهان) در عصاره‌گیری به مدت ۴۸ ساعت مشاهده شد. باوجود یکسان بودن شرایط محیطی برای جمعیت‌های مختلف، میزان فنل کل در جمعیت‌های موردبررسی دارای اختلاف معنی‌داری است. به نظر می‌رسد اختلاف بین جمعیت‌ها ناشی از اختلاف ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه است.

کلمات کلیدی: **تنوع، تیره‌ی کتان، عصاره‌ی متانولی، کتان سفید، گیاهان دارویی.**

مقدمه

ترکیب‌های فنلی نقش عمده‌ای در برهم‌کنش گیاهان با محیط اطرافشان بازی می‌کنند. آن‌ها ممکن است باعث جذب حشرات شوند یا به‌عنوان سیگنال‌هایی بین گیاهان (آللوپاتی) عمل کنند. این ترکیب‌ها از گیاهان در مقابل عوامل تنش‌زای زنده مانند بیماری‌های میکروبی و تنش‌های غیرزنده محافظت می‌کنند (Hutzler *et al*., 1998). همچنین برای رشد و تولیدمثل گیاهان ضروری می‌باشند (Sun *et al*., 2000). ترکیب‌های فنلی با منشأ گیاهی اهمیت خاصی در تغذیه جوامع انسانی دارند.

کتان سفید (*Linum album* Ky. ex Boiss) گیاهی چندساله و علفی از تیره‌ی کتان و اندمیک ایران است که در شمال غرب، غرب و مرکز کشور گسترش دارد (Sharifnia and Asadi, 2000). کتان سفید حاوی ترکیبات لیگنانی مهمی نظیر پودوفیلوتوکسین (PTOX) و ۶-متوکسی پودوفیلوتوکسین (MPTOX) است که دارای ویژگی‌های ضدویروسی و ضد توموری هستند (Vardapetyan *et al*., 2000). این مواد امروزه به‌عنوان مواد اولیه برای برخی از داروهای ضد سرطانی اهمیت زیادی پیدا کرده‌اند. پودوفیلوتوکسین مهم‌ترین آریل‌تترالین لیگنان برای سلامت انسان‌هاست (Moss, 2000). این ماده به علت سمیت سلولی بالایی که از خود نشان می‌دهد، به‌طور مستقیم قابل

استفاده نیست. از این ترکیب برای تولید نیمه مصنوعی سه داروی ضد سرطان اتوپزید[1] اتوفوز[2] و تنوپوزید[3] استفاده می‌شود که برای مقابله با سرطان‌های ریه، تخمدان و تومورهای مغزی به کار می‌روند (Farkya *et al*., 2004).

مهاجرانی[4] (۲۰۱۲) با بررسی مقدار فنل کل خرزهره[5] در شمال ایران گزارش کرد که مقدار فنل کل به روش عصاره‌گیری وابسته است و در این گیاه بیشترین مقدار فنل کل در عصاره‌ی متانولی بدست آمد. همچنین مقدار فنل کل در گل‌ها به‌مراتب بیشتر از برگ‌ها مشاهده شد.

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی تأثیر زمان عصاره گیری جهت تعیین بهترین زمان عصاره گیری جهت استخراج محتوای فنل کل و همچنین بررسی محتوای فنل کل در برگ و ساقه‌ی جمعیت‌های مختلف کتان سفید در شرایطی است که سهم عوامل محیطی در ایجاد تنوع بین جمعیت‌های مختلف به حداقل رسیده (مزرعه) باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور اندازه‌گیری فنل کل در اندام‌های مختلف جمعیت‌های مختلف کتان سفید و بررسی تأثیر مدت‌زمان عصاره‌گیری بر میزان فنل کل از برگ و ساقه‌های ۱۲ جمعیت کشت شده کتان سفید در مزرعه گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران (جدول ۱) در مدت‌زمان‌های مختلف عصاره‌گیری (۲۴ و ۴۸ ساعت) آزمایش فاکتوریل (فاکتورها شامل جمعیت، اندام و مدت‌زمان عصاره‌گیری) در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، در شرایط آزمایشگاه خشک و عاری از هرگونه ناخالصی شدند سپس اندام‌های مختلف جدا و پس از پودر شدن به‌وسیله هاون چینی و آسیاب مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش با سه تکرار انجام شد. از هر بلوک (از ۳ بلوک موجود) یک نمونه (متشکل از ۳ گیاه) مورد استفاده قرار گرفت.

برداشت گیاهان در زمان گلدهی (آبان ۱۳۹۴) انجام شد. عصاره‌گیری با استفاده از متانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو تعیین شد (Singleton and Rossi, 1965). برای رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک به غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها به‌وسیله‌ی نرم‌افزار SAS.v9.2 انجام شد.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی محل جمع‌آوری بذور جمعیت‌های کتان سفید

کد رویشگاه	رویشگاه	ارتفاع (متر)	طول جغرافیایی (شرقی)	عرض جغرافیایی (شمالی)
A۱	همدان- ملایر (جوزان)	۱۹۰۴	۴۸°۵۷'۲۵"	۳۴°۱۳'۵۶"
A۲	همدان- ملایر	۱۸۰۳	۴۸°۵۱'۱۹"	۳۴°۱۵'۱۲"
A۳	همدان- تویسرکان (ولاشجرد)	۱۵۵۱	۴۸°۰۶'۱۹"	۳۴°۳۲'۵۷"
A۴	همدان - رزن	۱۹۷۶	۴۹°۰۲'۳۶"	۳۵°۲۸'۰۲"
A۶	همدان- بهار (باباعلی)	۲۱۷۶	۴۸°۱۱'۳۴"	۳۴°۵۵'۵۰"
A۷	همدان (علی‌آباد)	۲۱۲۴	۴۸°۳۸'۰۲"	۳۴°۴۱'۱۲"
A۸	همدان (سداکباتان)	۱۹۴۶	۴۸°۳۵'۳۵"	۳۴°۴۵'۵۱"
A۹	همدان (حاجی آباد)	۱۹۵۵	۴۸°۴۳'۱۷"	۳۴°۴۶'۱۱"
A۱۰	همدان- ملایر (جوکار)	۱۷۲۱	۴۸°۴۰'۰۲"	۳۴°۲۲'۴۵"
A۱۱	همدان- نهاوند (زرامین)	۱۶۱۶	۴۸°۱۸'۵۳"	۳۴°۱۱'۱۱"
A۱۲	اصفهان	۲۶۳۰	۵۰°۰۴'۳۹"	۳۲°۵۴'۱۱"
A۱۳	فارس	۱۹۲۲	۵۲°۱۱'۲۸"	۲۹°۳۸'۲"

[1] Etopside
[2] Etophose
[3] Teniposide
[4] Mohadjerani
[5] *Nerium oleander* L.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول۲) مقدار فنل کل در برگ و ساقه جمعیت‌های مختلف کتان سفید در شرایط مزرعه با دو زمان عصاره‌گیری، می‌توان گفت در شرایط یکسان میزان فنل کل در جمعیت‌های مختلف این گیاه، تفاوت معنی‌دار (در سطح احتمال ۱ درصد) نشان می‌دهد. هم‌چنین این اختلاف در برگ و ساقه این گیاه مشهود است. تفاوت در مدت‌زمان عصاره‌گیری باعث تغییر معنی‌دار در میزان فنل کل استحصال شده از اندام موردنظر می‌شود. همچنین تمام اثرات متقابل بین جمعیت‌های مختلف کتان سفید، اندام مورد استفاده و مدت‌زمان عصاره‌گیری معنی‌دار است.

جدول ۲- تجزیه واریانس مقدار فنل کل در برگ و ساقه جمعیت‌های مختلف کتان سفید در شرایط مزرعه با دو زمان عصاره‌گیری

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		فنل کل
جمعیت	۱۱	۶۸/۷۳**
اندام	۱	۳۰۴۵/۷۵**
مدت‌زمان عصاره گیری	۱	۹۳/۶۴**
جمعیت × اندام	۱۱	۱۴/۴۷**
جمعیت × مدت‌زمان عصاره‌گیری	۱۱	۱۹/۹۰**
اندام × مدت‌زمان عصاره‌گیری	۱	۵/۶۵*
جمعیت × اندام × مدت‌زمان عصاره‌گیری	۱۱	۱۵/۶۲**
خطای آزمایشی	۹۶	۰/۰۱۵

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

در جدول مقدار فنل کل در برگ و ساقه جمعیت‌های مختلف کتان سفید در شرایط مزرعه با دو زمان عصاره‌گیری آورده شده است. به‌طور خلاصه می‌توان گفت افزایش مدت‌زمان عصاره‌گیری بسته به اندام و جمعیت مورد استفاده باعث کاهش یا افزایش مقدار فنل کل می‌گردد. بیشترین و کمترین میزان فنل کل به ترتیب در برگ جمعیت A۱۲ در عصاره‌گیری به مدت ۴۸ ساعت و در جمعیت A۳ در ساقه و عصاره گیری به مدت ۲۴ ساعت مشاهده شد که با جمعیت‌های A۶، A۸، A۱۰ و A۱۳ با شرایط مشابه تفاوت معنی‌داری ندارد. همچنین باوجود یکسان بودن شرایط محیطی برای جمعیت‌های مختلف، میزان فنل کل در جمعیت‌های موردبررسی دارای اختلاف معنی‌داری است.

جدول ۳- مقدار فنل کل در برگ و ساقه جمعیت‌های مختلف کتان سفید در شرایط مزرعه با دو زمان عصاره‌گیری

میزان فنل کل (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)				
ساقه		برگ		
جمعیت	عصاره‌گیری (۲۴ساعت)	عصاره‌گیری (۴۸ساعت)	عصاره‌گیری (۲۴ساعت)	عصاره‌گیری (۴۸ساعت)
A۱	۲۲/۸۹qrs	۲۳/۷۹pq	۲۸/۲۲mno	۲۷/۸۹no
A۲	۲۰/۱uv	۲۰/۰۲uv	۲۸/۶۳l-o	۳۴/۱۲cde
A۳	۱۹/۷۷v	۲۲/۲۳q-t	۳۱/۱۷h-k	۲۹/۶۱k-n
A۴	۲۲/۸۹qrs	۲۱/۴۹r-v	۳۲/۵۶e-h	۳۶/۵۸b
A۶	۲۰/۶۷tuv	۲۲/۰۷q-u	۳۲/۴e-i	۲۹/۷۸k-n
A۷	۲۳/۳pqr	۲۵/۱p	۳۵/۱۹bcd	۳۴/۳۷cde
A۸	۲۰/۹۲s-v	۲۲/۰۷q-u	۳۱/۹۱g-j	۳۲/۰۷f-j
A۹	۲۳/۵۴pqr	۲۲/۹۷qrs	۳۰/۱j-m	۳۳/۳۸d-g
A۱۰	۲۰/۳۵tuv	۲۳/۵۴pqr	۲۸/۱۴mno	۳۲/۰۷f-j
A۱۱	۲۳/۱۳pqr	۲۲/۰۷q-u	۲۷/۵۶o	۲۹/۲k-o
A۱۲	۲۲/۸۹qrs	۳۵/۷۶bc	۳۵/۹۳bc	۴۰/۸۵a
A۱۳	۲۰/۲۶tuv	۲۳/۷۱pq	۳۴/۰۴c-f	۳۰/۵۱i-l

a-v:اعداد با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

منابع

Farkya, S., Bisaria, V. S. & Sirvastava, A. K. 2004. Biotechnological aspects of the production of the anticancer drug podophyllotoxin. Applied Microbiology Biotechnology, 65, 504-519.

Hutzler, P., Fischbach, R., Heller, W., Jungblut, T. P., Reuber, S., Schmitz, R. & Schnitzler, J. P. 1998. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. Journal of Experimental Botany, 49(323), 953-965.

Mohadjerani, M. 2012. Antioxidant activity and total phenolic content of *Nerium oleander* L. grown in north of Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(4), 1121.

Moss, GP. 2000. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC Recommendations 2000). Pure Appl. Chem. 72, 1493-1523.

Sharifnia, F. & Asadi, M., 2000. Flor of Iran No. 34, Linaceae family. Research Institute of Forests and Rangelands Publication. Tehran. 42. (in Persian).

Singleton, V. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 16(3), 144-15.

Sun, F., Hayami, S., Ogiri, Y., Haruna, S., Tanaka, K., Yamada, Y. & Kojo, S. 2000. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 1500(2), 181-185.

Vardapetyan, H., Alfermann, W., & Penesyan, A., 2000. Induction of biosynthesis of podophyllotoxin in callus cultures of different *Linum* species, Abst. PSE Meeting, Lisbon (Portugal.), p. A68.

Evaluation of Total Phenol Content in Organs and Populations of *Linum album* Ky. Ex Boiss in the Nature Conditions

Reza Kiani[1]*, Vahideh Nazeri[2], Karamatollah Rezaei[3], Ramezan Kalvandi[4]
[1,2] Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[3] Department of Food Science, Engineering and Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[4] Agricultural and Natural Resources Research Center of Hamedan, Hamedan, Iran
Corresponding Author: kianireza37@ut.ac.ir

Abstract

Phenol compounds play major role in plant interaction with their surrounding environment. Also, they required in plant reproduction. Phenol compounds with plant origin are of great importance in nutrition of human societies *Linum album* is a member of flax family and one of the Iran's endemic plants, which contains important Lignan compounds such as podophyllotoxin (PTOX) and 6-methoxypodophyllotoxin (6-MPTOX). This research was conducted with aim of evaluating the effect of extracting time and total phenol content in leaves and stem of different *Linum album* populations. For this, an experiment was designed as factorial in completely randomized experiment with 12 population at Tehran University Department of Horticulture Farm. Extracting was implemented using 80% methanol for 24h at 25 ˚C. Total phenol was determined by Folin-Ciocalteu reagent. The results showed that increasing extracting time based on organ and population, led to reduction or increase total phenol. The highest amount of total phenol was seen in leaf of A12 population (Esfahan population) at 48h extracting time. Despite being similar environmental conditions for different populations, the amount of total phenol at studied population had significant differences. It seems that differences among studied populations arising from genetic differences.

***Keywords*: Diversity, Linaceae family, *Linum album*, Medicinal Plant, Methanolic extract**.