تأثیر استفاده از پوشش‌های مختلف شاخه برخی ارقام (ژنوتیپ‌ها) گردو (*Juglans regia* L.) بر محتوی فنل و فلاونوئید کل شاخه

عبداله احتشام‌نیا [۱*]، منصور غلامی [۲]، محمود اثنی عشری [۲]

۱- دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران. ۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران.

*نویسنده مسئول

چکیده

گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های خانواده ژوگلانداسه است که حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی در اندام‌های مختلف درخت می‌باشد. به نظر می‌رسد وجود ترکیبات فنلی در شاخه این درخت، سبب شده است که تکثیر رویشی موفق این گیاه به یکی از چالش‌های اصلی در ازدیاد آن تبدیل شود. در این پژوهش، محتوی فنلی و فلاونوئید کل شاخه در ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف گردو به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور شامل ارقام چندلر و جمال و ژنوتیپ‌های Z60 و B21 و پوشش‌های مختلف شاخه یکساله (پوشاندن شاخه سال قبل، پیش از شروع فصل رشد) شامل پلی اتیلن سیاه (پلاستیک)، پارچه سفید و بدون پوشش (شاهد) و در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه، حاکی از آن است که بکارگیری پوشش‌های مختلف شاخساره و ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۱$) از نظر مقادیر فنل و فلاونوئید کل شاخه دارند. اما اثر متقابل پوشش‌های مختلف در ارقام روی محتوی فنل کل شاخه، اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۵$) دارد. رقم چندلر و رقم جمال به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار فنل کل شاخه و همچنین، ژنوتیپهای B21 و Z60 به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار فلاونوئید با استفاده از پوشش‌های مختلف شاخه بودند. کمترین مقدار فنل و فلاونوئید کل با استفاده از پوشش پارچه سفید بدست آمد. استفاده از پوشش پلی اتیلن سیاه تأثیری در کاهش محتوی فنل کل نداشت ولی مقدار فلاونوئید کل را در مقایسه با شاهد کاهش داد.

کلمات کلیدی : گردو (Juglans regia L.)، فنل، فلاونوئید، پوشش شاخه.

مقدمه

گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) یکی از گونه‌های شناخته شده خانواده ژوگلانداسه است که حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی در اندام‌های مختلف درخت می‌باشد. روش معمول تکثیر گردو از طریق بذر و پیوند است (ثابتی، ۱۳۴۴). در تکثیر گیاه از طریق بذر، گیاهان جدیدی با صفات ژنتیکی متفاوت از گونه والد تولید می‌شود. بنابراین، برای رسیدن به یک ساختار ژنتیکی از درخت بالغ برگزیده و ازدیاد انبوه آن، به روش‌های تکثیر غیر جنسی روی می‌آورند. هر چند تکثیر گردو با هر یک از این روش‌ها (قلمه، پیوند، کشت بافت و...) با مشکلاتی مانند تراوش ترکیبات فنلی از اندام برش یافته و... روبرو است که سبب شده است که تکثیر رویشی موفق این گیاه به یکی از چالش‌های اصلی در ازدیاد آن تبدیل شود. مطالعات نشان داده است که مقادیر ترکیبات فنلی در گردو تحت تأثیر عوامل مختلف از قبیل دوره زمانی (آمارال و همکاران، ۲۰۰۴)، دوره زمانی و منشأ جغرافیایی (کاسمولسکو و همکاران، ۲۰۱۰)، مرحله رشد (سولار و همکاران، ۲۰۰۶)، شرایط اقلیمی و روش‌های باغداری (آمارال و همکاران، ۲۰۰۸)، انتخاب رقم و زمان برداشت (جاکوپیک و همکاران، ۲۰۰۷) و برخی فاکتورهای کشاورزی (آریاز و همکاران، ۲۰۰۰) قرار می گیرد و مقادیر آن متغییر است. با توجه به ارتباط بین زمان محصول دهی و محتوی فنلی، آمارال و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که مقادیر میانگین اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و محتوی فنل کل روند کاهشی تا ماه سپتامبر دارند، این در حالی است که سولار و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که هر گروه فنلی منحنی منحصر به خود را تحت تأثیر نوسانات فصلی خواهد داشت. این مطالعه، به بررسی تأثیر بکارگیری پوششهای مختلف روی محتوی فنلی و فلاونوئید کل شاخه در ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف می-پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی: مواد گیاهی مورد نیاز در این تحقیق از ایستگاه تحقیقات گردوی تویسرکان تهیه گردید. قبل از شروع فصل رشد و شکوفایی برگ و گل آذین، شاخه یکساله (سال قبل) ارقام (ژنوتیپ‌ها) مورد استفاده در این پژوهش شامل ارقام چندلر، جمال و ژنوتیپ‌های Z60، B21 با پوششهای مختلف شامل اتیلن سیاه (پلاستیک)، پارچه سفید و بدون پوشش (شاهد) پوشانده شد (اواخر اسفند ماه). بعد از گذشت دو ماه (اواخر اردیبهشت ماه) پوششها برداشته و از شاخه سالجاری ارقام (ژنوتیپ‌ها) نمونه گیری انجام و بلافاصله به آزمایشگاه برای اندازه گیری محتوی فنلی و فلاونوئید کل شاخه منتقل گردید.

سنجش فنل کل: بر اساس روش کار سینگلتون و راسی (۱۹۶۵) انجام خواهد شد. ۵ گرم از بافت را با ۳ میلی لیتر متانول ٪۸۵ له کرده و سپس از کاغذ صافی عبور داده می‌شود. ۳۰۰ میکرولیتر از این محلول را برداشته به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه کرده و بعد از گذشت ۸ دقیقه به آن ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم اضافه می‌کنیم. پس از ۲ ساعت نگهداری در دمای اتاق و شرایط تاریکی، میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه گیری خواهد شد.

سنجش فلاونوئید کل: بر اساس روش کار محمدزاده و همکاران (۲۰۰۸) انجام خواهد شد. ۱/۰ از عصاره بافت را با ۹/۰ متانول رقیق کرده و به ۵/۰ میلی لیتر از آن، ۱/۰ میلی لیتر نیترات آلومینیوم ۱۰٪ ، ۱/۰ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۳/۴ میلی لیتر متانول اضافه می‌گردد. پس از ۴۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب در ۴۱۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه گیری خواهد شد.

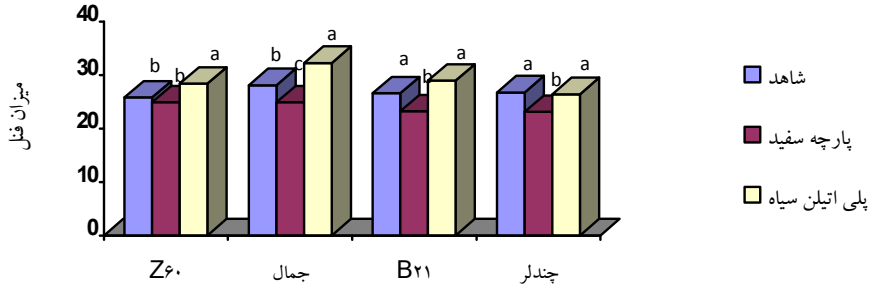
تجزیه و تحلیل داده‌ها: میزان فنل کل و فلاونوئید کل شاخه در تیمارهای مورد نظر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور شامل پوشش‌های و ارقام (ژنوتیپ‌ها) مختلف در ۴ تکرار انجام خواهد گرفت. پوشش‌های مختلف در ۳ سطح (پلی اتیلن سیاه (پلاستیک)، پارچه سفید و بدون پوشش (شاهد)) و ارقام (ژنوتیپ‌ها) در ۴ سطح (شامل چندلر، جمال، Z60، B21) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که بکارگیری پوشش‌های مختلف شاخساره و ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۱$) از نظر مقادیر فنل و فلاونوئید کل شاخه (جدول ۱) دارند. اما اثر متقابل پوشش‌های مختلف در ارقام روی محتوی فنل کل شاخه، اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۵$) داشت. این نتایج نشان‌دهنده تأثیر پوشش‌های مختلف بر محتوای فنل کل و فلاونوئید کل شاخه در ارقام دارد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پوشش‌های مختلف شاخه ارقام (ژنوتیپ‌ها) بر میزان فنل و فلاونوئید کل شاخه

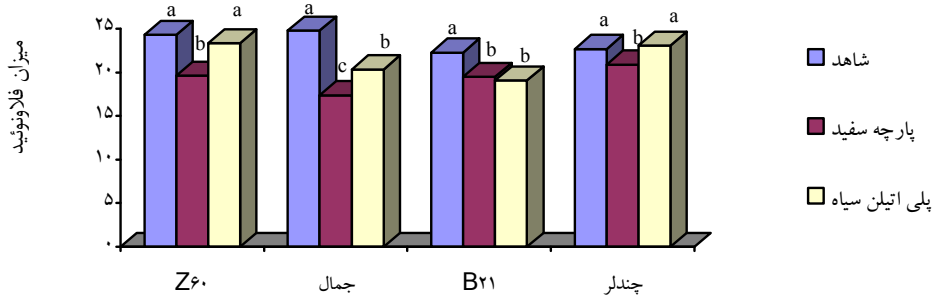
منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات فنل کل	مجموع مربعات فلاونوئید کل
پوشش شاخه	۲	۰/۰۴۸۸۳**	۰/۰۵۵۲۰**
رقم (ژنوتیپ)	۳	۰/۰۱۴۵۳**	۰/۲۵۱۵**
پوشش شاخه*رقم	۶	۰/۰۰۷۶۸*	۰/۰۱۱۹۳**
اشتباه آزمایشی (e)	۲۲	۰/۰۰۸۶۱	۰/۰۱۰۱۳
کل	۳۵	۰/۷۹۹۲	۰/۱۰۳۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳/۲۰۶۳	۴/۲۹۷۰



شکل ۱- میانگین میزان فنل کل در ارقام (ژنوتیپ‌ها) مختلف با پوشش‌های مختلف شاخه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

با مقایسه میانگین مقادیر فنل کل دست آمده برای تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش (شکل ۱)، اثر متقابل رقم و پوشش‌های مختلف شاخه در میزان فنل کل نشان‌دهنده این است کمترین مقدار فنل کل با بکارگیری پوشش پارچه سفید در ارقام مختلف بدست آمده است. در ژنوتیپ Z60 بیشترین میزان فنل کل با پوشش پلی اتیلن سیاه حاصل شد که اختلاف معنی داری با پوشش پارچه سفید و شاهد (بدون پوشش) دارد. در رقم جمال بالاترین میزان فنل کل با کاربرد پوشش پلی اتیلن سیاه بدست آمد و پارچه سفید کمترین میزان فنل کل را داشت که اختلاف معنی داری با شاهد داشت. در رقم چندلر و ژنوتیپ B21 تفاوت آماری بین کاربرد پوشش پلی اتیلن سیاه با شاهد (بدون پوشش) روی محتوی فنل کل وجود نداشت، امّا پوشش پارچه سفید کمترین مقدار فنل کل شاخه را بهمراه داشت که اختلاف معنی داری با کاربرد دو پوشش قبلی داشت.

تصویر ۱- پوشش‌های مختلف شاخه قبل از شروع فصل رشد و در ادامه فصل رشد.



شکل ۲- میانگین میزان فلاونوئید کل در ارقام (ژنوتیپ‌ها) مختلف با پوشش‌های مختلف شاخه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

با مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و پوشش‌های مختلف شاخه در مقادیر فلاونوئید کل (شکل ۲)، نتیجه می‌شود که در اینجا نیز تقریباً پوشش پارچه سفید شاخساره ارقام مختلف سبب کاهش محتوی فلاونوئیدی شاخه نسبت به پوشش شاخساره با پلی اتیلن سیاه و بدون پوشش (شاهد) شده است. در ژنوتیپ Z60 و رقم چندلر اختلاف معنی داری بین کاربرد پوشش پلی اتیلن سیاه با شاهد (بدون پوشش) وجود نداشت، امّا پوشش پارچه سفید کمترین مقدار فلاونوئید کل شاخه را در این دو رقم (ژنوتیپ) بهمراه داشت که اختلاف معنی داری با دو پوشش قبلی داشت. در رقم جمال بکارگیری هر دو پوشش پلی اتیلن سیاه و پارچه سفید سبب کاهش معنی داری محتوی فلاونوئید کل شاخه در مقایسه با شاهد (بدون پوشش) شده است. در این رقم نیز، پوشش پارچه سفید کمترین مقدار فلاونوئید کل شاخه را داشت. در ژنوتیپ B21 نیز همانند رقم جمال بکارگیری پوشش سبب کاهش معنی داری محتوی فلاونوئید کل شاخه در مقایسه با شاهد (بدون پوشش) شده است ولی پوشش‌ها اختلاف معنی داری در محتوی فلاونوئید کل شاخه با هم ندارند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه، نشان می‌دهد که پوشاندن شاخه میزان فنل و فلاونوئید کل شاخه را در ارقام مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد. با توجه به اینکه بطور کلی در این مطالعه، پوشاندن شاخه یکساله قبل از شروع فصل رشد با پارچه سفید بهترین نتیجه را در کاهش محتوی فنل و فلاونوئید کل در مقایسه با شاهد دارد، از این نتیجه می‌توان برای انتخاب شاخه‌های با محتوی فنل و فلاونوئید کمتر در تکثیر غیرجنسی این گیاه بهره برد.

سپاسگزاری

از ریاست محترم مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان همدان، همچنین مسئول محترم ایستگاه تحقیقات گردوی تویسرکان جناب آقای مهندس بختیاری، به پاس همکاری‌های صمیمانه جهت تأمین نمونه‌های گیاهی مورد نیاز، کمّال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

Amaral, J.S., R.M. Seabra, P.B. Andrade, P. Valentao, J.A. Pereira, and F. Ferreres. 2004. Phenolic profile in the quality control of walnut (Juglans regia L.) leaves. Food Chemistry. 88: 373-379.

Areias, F., P. Valentão, P.B. Andrade, F. Ferreres, and R.M. Seabra. 2000. Flavonoids and phenolic acids of sage: influence of some agricultural factors. J. Agric. Food Chemistry. 48(12): 6081-6084.

Cosmulescu, S., A. Baciu, G. Achim, M. Botu, and I. Trandafir. 2009. Mineral composition of fruits in different walnut (Juglans regia L.) cultivars. Not. Bot. Horti, Agrobo. 37(2): 56-160.

Ghasemi, K., Y. Ghasemi, A. Ehteshamnia, S. Mohammad Nabavi, S. Fazel Nabavi, M. Ali Ebrahimzadeh, and F. Pourmorad. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (Juglans regia L.) green husks. J. Med. Plants Res. 5(7): 1128-1133.

Jakopic, J., M. Colaric. R. Veberic, M. Hudina, A. Solar, and F. Stampar. 2007. How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur? Food Chemistry. 104(1): 100-105.

Labuckas, D.O., D.M. Maestri, M. Perelló, M.L. Martínez, and A.L. Lamarque. 2008. Phenolics from walnut (Juglans regia L.) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins. Food Chemistry. 107(2): 607-612.

Solar, A., M. Colarič, V. Usenik, and F. Stampar. 2006. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (Juglans regia L.). Plant Science. 170(3): 453-461.

Wakeling, L.T., R.L. Mason, B.R. D'arcy, and N.A. Caffin. 2001. Composition of pecan cultivars Wichita and Western Schley (Carya illinoinensis (Wangenh.) K. Koch) grown in Australia. J. Agric. Food Chemistry. 49(3): 1277-1281.

Effect of different shoot covering in some cultivars (genotypes) of Persian walnut (*Juglans regia* L.) on total phenol and flavonoid content of shoot

A. Ehteshamnia[1*], M. Gholami[2] and M. Asna-ashari[2]
1- PhD student of Horticultural sciences, Dept. of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan-Iran. 2- Dept. of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan- Iran.
*Corresponding author

Abstract
Persian walnut (Juglans regia L.) is the most important species of Juglandaceae family, which contain high quantity of phenolic compounds in different organ of tree. It seems that existing of these compounds in shoot of this tree, caused vegetative propagation of this plant into main problem in propagation of those. In this study, evaluated shoot total phenol and flavonoid content in factorial test in completely randomized design with two factors including cultivar (Chandler and Jamal cultivars and Z60 and B21 genotypes) and different shoot covering (black poly ethylene, white cheese cloth and control) in four replications. Result of this study indicated that use of different shoot covering and cultivars (genotypes) have a significant difference ($p<0.01$) on aspect total phenol and flavonoid content, but interaction between shoot covering with cultivars had a significant difference ($p<0.05$). Chandler and Jamal cultivar has minimum and maximum total phenol content of shoot, respectively. Also, the minimum and maximum total flavonoid content of shoot related with B21 and Z60 genotype with different shoot covering. The minimum of total phenol and flavonoid content obtained with white cheese cloth. Use of black poly ethylene don't effect on decrease total phenol content, but decreased total flavonoid content in comparison with control.

Keywords: walnut (*Juglans regia* L.), phenol, flavonoid, shoot covering.