ارزیابی محتوی فنل و فلاونوئید کل طی مراحل مختلف رشد برگ ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف گردو (*Juglans regia* L.)

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.) دارای مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی است. فنل‌ها ترکیبات آروماتیک با گروه‌های هیدروکسیل هستند که در عالم گیاهی پراکنده شده‌اند. محتوی فنل و فلاونوئید گیاهی پتانسیل خوبی به‌عنوان منبع قوی آنتی اکسیدانی هستند. محتوی فنلی در گردو بسیار متغییر بوده و تحت تأثیر عوامل مختلف مانند شرایط محیطی، مرحله رشد، نوع رقم و روش‌های باغبانی قرار می‌گیرد. در این پژوهش، محتوی فنلی و فلاونوئید کل برگ در ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف گردو به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور شامل ارقام چندلر و جمال و ژنوتیپ‌های Z60 و B21 و مراحل مختلف رشد برگ در ماه‌های اردیبهشت، تیر و شهریور و در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعه حاضر، نشان می‌دهد که مرحله رشد برگ، رقم (ژنوتیپ) و اثر متقابل مرحله رشد در رقم اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۱$) از نظر مقادیر فنل و فلاونوئید کل دارند. مقادیر فنل کل برگ، در طی فصل رشد روند صعودی دارد، بطوریکه اوایل فصل رشد (اردیبهشت ماه) کمترین میزان و اواخر فصل رشد (شهریور ماه) بیشترین میزان را دارد. در مقایسه با فنل کل، طی فصل رشد فلاونوئید کل مقادیر متفاوتی دارد. کمترین و بیشترین مقدار فنل کل برگ را به ترتیب رقم چندلر در اردیبهشت ماه و رقم جمال در شهریور ماه دارد. همچنین، کمترین و بیشترین مقدار فلاونوئید کل برگ را به ترتیب ژنوتیپ Z60 در تیر ماه و ژنوتیپ B21 در شهریور ماه دارد.

کلمات کلیدی : گردو (*Juglans regia* L.)، فنل، فلاونوئید، فصل رشد.

مقدمه

فنل‌ها ترکیبات آروماتیک با گروه‌های هیدروکسیل هستند که در عالم گیاهی در تمام بخشهای گیاهان پراکنده شده‌اند (آشا و همکاران، ۲۰۱۰). محتوی فنلی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی هستند. بیش از ۶۰۰۰ فلاونوئید در گیاهان شناخته شده‌اند. فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در قلمرو گیاهی پراکنده شده اند. (آشا و همکاران، ۲۰۱۰). گردوی ایرانی (Juglans regia L.) بدون تردید از مهم‌ترین گونه‌های خانواده ژوگلانداسه می‌باشد که بیشترین سطح زیر کشت گردو را در جهان دارد. گردوی ایرانی دارای مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی است (لاباکاس و همکاران، ۲۰۰۸). محتوی فنل و فلاونوئید گیاهی پتانسیل خوبی به‌عنوان منبع قوی آنتی اکسیدانی هستند. محتوی فنلی در گردو بسیار متغییر است. محتوی فنلی تحت تأثیر 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. مقادیر محتوی فنلی دانه گردو نیز تحت تأثیر فاکتورهای محیطی (قاسمی و همکاران، ۲۰۱۱)، ترکیب خاک، میزان بلوغ دانه (واکلینگ و همکاران، ۲۰۰۱)، رقم و زمان برداشت (بولینگ، ۲۰۱۰) قرار دارد. 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 بنظر می رسد 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 پژوهش، به بررسی محتوی فنلی و فلاونوئیدی ارقام (ژنوتیپ‌های) مختلف طی مراحل مختلف رشد برگ می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی: ارقام (ژنوتیپ‌ها) مورد استفاده در این پژوهش شامل ارقام چندلر، جمال و ژنوتیپ‌های Z60، B21 از ایستگاه تحقیقات گردوی تویسرکان تهیه و در طی فصل رشد در ماه‌های اردیبهشت، تیر و شهریور از برگ آنها نمونه گیری شد.

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.

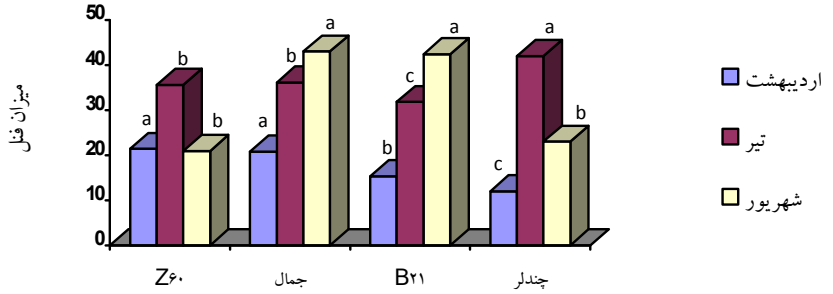
تجزیه و تحلیل داده‌ها: میزان فنل کل و فلاونوئید کل برگ در تیمارهای مورد نظر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور شامل مرحله رشد برگ و ارقام (ژنوتیپ‌ها) در ۴ تکرار انجام خواهد گرفت. مرحله رشد برگ در ۳ سطح (شامل ماه‌های اردیبهشت، تیر و شهریور) و ارقام (ژنوتیپ‌ها) در ۴ سطح (شامل چندلر، جمال، Z60، B21) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مقادیر فنل کل طی مراحل مختلف رشد برگ ارقام (ژنوتیپ‌ها) (جدول ۱) نشان داد که مرحله رشد، رقم (ژنوتیپ) و اثر متقابل مرحله رشد در رقم اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۱$) دارند. بررسی میزان فلاونوئید (جدول ۱) طی مراحل مختلف رشد برگ ارقام (ژنوتیپ‌ها) نیز حاکی از معنی دار بودن اثر مرحله رشد، رقم (ژنوتیپ) و اثر متقابل مرحله رشد در رقم ($p<۰/۰۱$) است. این نتایج نشان از تأثیر متقابل زمان‌های مختلف نمونه گیری (ماههای مختلف) بر میزان فنل و فلاونوئید کل ارقام انتخابی دارد و نشان‌دهنده تأثیر شرایط محیطی بر محتوای فنل کل و فلاونوئید کل برگ در ارقام دارد.

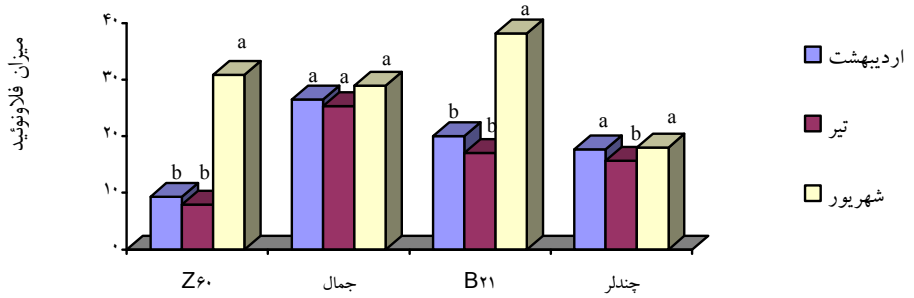
جدول ۱- تجزیه واریانس میزان فنل و فلاونوئید کل طی مراحل مختلف رشد برگ ارقام (ژنوتیپ‌ها) مختلف

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات فنل کل	مجموع مربعات فلاونوئید کل
مرحله رشد	۲	۲/۶۸۱۴۳**	۲/۳۴۸۳۰**
رقم (ژنوتیپ)	۳	۰/۳۵۴۱۵**	۰/۸۵۵۹۷**
مرحله رشد*رقم	۶	۱/۴۹۵۴**	۰/۶۲۹۶۸**
اشتباه آزمایشی (e)	۲۲	۰/۰۱۶۴۲	۰/۰۱۷۶۳
کل	۳۵	۵/۵۴۷۵۱	۳/۸۵۲۳۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۴۹۸۶	۳/۷۲۶۱۴



شکل ۱- میانگین میزان فنل کل در ارقام (ژنوتیپ‌ها) مختلف طی مراحل مختلف رشد برگ (ماه‌های مختلف). میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

با مقایسه میانگین مقادیر بدست آمده برای تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش، اثر متقابل رقم و مرحله رشد برگ در میزان فنل کل (شکل ۱) نشان‌دهنده این است کمترین مقدار فنل کل را رقم چندلر و در اردیبهشت ماه دارد. بطور کلی، کلیه ارقام (ژنوتیپها) در اردیبهشت ماه مقادیر کمتری از فنل کل را نسبت به ماههای تیر و شهریور دارند. مقادیر فنل کل در شهریور ماه در رقم جمال و ژنوتیپ B21 بیشترین مقدار را دارد که اختلاف معنی‌داری با هم ندارند و در مقابل رقم چندلر و ژنوتیپ Z60 در همین ماه (شهریور ماه) میزان فنل کل کمتری دارند. کمترین و بیشترین مقدار فنل کل برگ را به ترتیب رقم چندلر در اردیبهشت ماه و رقم جمال در شهریور ماه را دارد.



شکل ۲- میانگین میزان فلاونوئید کل در ارقام (ژنوتیپ‌ها) مختلف طی مراحل مختلف رشد برگ (ماه‌های مختلف). میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

نتایج اثر متقابل رقم و مرحله رشد برگ در میزان فلاونوئید کل (شکل ۲) نشان‌دهنده این است که میزان فلاونوئید کل نسبت به فنل کل در ارقام مختلف طی مراحل مختلف رشد بجز در ژنوتیپ Z60 نسبتاً کم نوسانی دارد، بطوریکه در ژنوتیپ Z60 فقط در شهریور ماه مقادیر بیشتری از فلاونوئید کل را در مقایسه با اردیبهشت و تیر ماه مشاهده می‌کنیم. در رقم جمال تفاوتی بین ماه‌های مختلف مشاهده نمی شود. در ژنوتیپ B21 نیز بیشترین مقادیر در شهریور ماه بدست آمده است. در رقم چندلر تفاوتی بین مقادیر فلاونوئید کل در اردیبهشت ماه با شهریور ماه وجود نداشته و در تیر ماه کمترین مقدار را دارد. کمترین و بیشترین مقدار فلاونوئید کل برگ را به ترتیب ژنوتیپ Z60 در تیر ماه و ژنوتیپ B21 در شهریور ماه دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه، نشان می‌دهد که میزان فنل و فلاونوئید کل برگ در ارقام مختلف تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد و در طی فصل رشد محتوی آنها کاهش یا افزایش می‌یابد. در نتیجه بسته به نوع کار و هدف از پژوهش، برای انجام تحقیقات با اهداف اصلاحی و یا کاربردهای دارویی، بایستی هم ارقام و هم فصل رشد (شرایط محیطی) را مورد بررسی جامع قرار داد.

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.

Evaluation of total phenol and flavonoid content among some cultivars (genotypes) of Persian walnut (*Juglans regia* L.) in different stages of Leaf growth

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

The phenols are aromatic compounds with hydroxyl group that distributed in plant kingdom. The plant total phenol and flavonoid content are good potential as active antioxidant source. Persian walnut (Juglans regia L.) has a high quantity of phenolic compounds. In walnut, these compounds have been very changeable that affected some factor including environmental conditions, growth stage, type of cultivar and horticultural methods. 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 stages of leaf growth (May, July and September month) in four replications. Result of this study indicated that shoot growth stage, cultivar (genotype) and interaction between growth stage and cultivar (genotype) had a significant difference ($p<0.01$) on aspect total phenol and flavonoid content. Quantity of leaf total phenol, increased on follow growth season, therefore on onset growth season (May month) has a minimum content in comparison with follow growth season. In comparison with total phenol, total flavonoid has variation content in growth season. The minimum and maximum total phenol content of leaf related with Chandler cultivar in May month and Jamal cultivar in September month, respectively. Also, the minimum and maximum total flavonoid content of leaf related with Z60 genotype in July month and B21 genotype in September month, respectively.

Keywords: walnut (Juglans regia L.), phenol, flavonoid, growth season.