دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد نوزدهم، شماره دوم، ۱۳۹۱
http://jopp.gau.ac.ir

(گزارش کوتاه علمی)

مطالعه اثر رویشگاه بر میزان برخی از ترکیبات فلاونوئیدی درخت نمدار (*Tilia platifolia* L.)

خدایار همتی[۱]، عظیم قاسم نژاد[۲]، کامبیز مشایخی[۳] و زین العابدین بشیری صدر[۴]

[۱،۳]دانشیار گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه باغبانی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۴]استادیار سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران

چکیده

نمدار از درختان پهن برگ است که در نوار ساحلی دریای خزر و دامنه‌های جنوبی رشته کوه‌های البرز پراکنش دارد. گل، برگ، میوه و پوست نمدار حاوی ترکیبات پلی فنلی مهم از جمله فلاونوئیدهای کرسیترین، کریستین، روتین و کامفرول است که در صنایع دارویی استفاده می‌شوند. در تحقیق حاضر سعی شد که تغییرات برخی ترکیبات فلاونوئیدی برگ، گل، براکته، میوه و پوست نمدار در دو منطقه پراکنش گرگان و کلاردشت مورد بررسی قرار گیرد. اندام‌های مختلف در زمان گلدهی (خرداد ماه) از دو منطقه مورد مطالعه جمع‌آوری شد. در آزمایشگاه وزن‌تر، وزن خشک، عصاره کل، میزان روتین و کرسیترین اندازه گیری شد. نتایج تجزیه اندام‌های مختلف نشان داد که بین مناطق رشد و اندامهای مورد بررسی از نظر میزان ترکیبات فلاونوئیدی اندازه‌گیری شده در اکثر موارد اختلاف معنی داری وجود دارد. بطوری‌که بیشترین میزان روتین (۰/۵۳٪) و کرسیترین (۲/۱۸٪) به‌ترتیب در درختان نمدار منطقه کلاردشت مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: نمدار، اقلیم، پلی فنل، فلاونوئید، روتین، کرسیترین

*مسئول مکاتبه: aghasemnajad@hotmail.com

مقدمه

نمدار از درختان پهن برگ جنگلی است که گل، برگ، میوه و پوست آن حاوی متابولیت‌های ثانویه‌ای است که در برخی کشورها در صنایع دارویی استفاده می‌گردد (امیدبیگی، ۱۹۹٦؛ چانگ و همکاران، ۲۰۰۵). این درخت در شمال ایران و در نوار ساحلی دریای خزر و دامنه‌های جنوبی رشته کوه البرز پراکنش دارد (ثابتی، ۲۰۰۳). نمدار درختی خزان‌کننده است. در طبیعت اندام‌های رویشی و زایشی این گیاه که سرشار از مواد دارویی هستند بعد از دوره رویشی و زایشی از بین می‌روند. در گل، برگ، میوه و پوست نمدار ترکیبات پلی فنلی ارزشمند از جمله فلاونوئید های کرسیترین، کوئرستین، روتین و کامفرول وجود دارد (امیدبیگی، ۱۹۹٦). امروزه ارزش ضد اکسیداسیونی ترکیبات پلی فنلی از جمله فلاونوئیدها بر کسی پوشیده نیست. این ترکیبات به‌دلیل نقشی که در بیولوژی سلول و سلامت انسان دارند مورد توجه زیادی هستند. روتین پایه تمامی بیوفلاونوئیدهاست و نقش مهمی در درمان دارد. به عنوان مثال سبب کاهش درد و کاهش فشار چشم می گردد (چنا و همکاران، ۲۰۰۰؛ جیانگ و همکاران، ۲۰۰۷). عوامل محیطی در تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی نقش مهمی دارند. عواملی چون درجه حرارت، میزان بارندگی، شدت نور و ارتفاع از سطح دریا که تعیین کننده اقلیم یک منطقه هستند، از جمله مهمترین عوامل محیطی تاثیرگذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه هستند (داویس و آلبریگو، ۱۹۹٤). تفاوت میزان مواد موثره یک گیاه دارویی تحت تاثیر اقلیم بصورت وسیع مورد بررسی قرار گرفته است (همتی و همکاران، ۲۰۰۳، سیروستاوا و شیم، ۲۰۰۲). البته تجمع و پراکنش متابولیت های ثانویه در یک گیاه بصورت یکسان انجام نمی گیرد. در بررسی میزان فلاونوئیدهای سرخ ولیک(*Crataegus monogyna*) میزان کوئرستین این گیاه در گل نسبت به برگ یا میوه بیشتر بود، درحالیکه بین برگ، گل و میوه از نظر میزان روتین اختلاف معنی داری مشاهده نشد (همتی و همکاران، ۲۰۰٦). در گیاه *Hypericum brasiliense* نشان داده شد که بالاترین میزان روتین و کوئرستین در مرحله گلدهی به‌دست آمد (لورل و همکاران، ۱۹۹۹).

با توجه به اهمیت فلاونوئیدها در درمان بیماری ها و استفاده روز افزون این ترکیبات و همچنین فراوانی درخت نمدار در جنگل های شمال ایران به‌عنوان منبع غنی و از طرفی تنوع اقلیمی در رویشگاه‌های طبیعی آن در این آزمایش سعی شد تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی اندام‌های مختلف گیاه در مناطق مختلف با شرایط آب و هوایی مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آماده کردن نمونه برای اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی: پس از مشخص کردن گیاهان آزمایشی(۳ درخت در هر منطقه) در جنگل شصت کلاته گرگان و جنگل کلاردشت، نمونه‌برداری (از همه جهات جغرافیایی) از اندام‌های مختلف برگ، گل، براکته، میوه و پوست درخت در زمان گلدهی درخت (خردادماه) در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. پس از اندازه‌گیری وزن‌تر، نمونه‌ها در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد آون به‌مدت ٤٨ ساعت خشک شدند (مانتی و گروهمن، ۱۹۹٦). پس از خشک کردن، وزن خشک نمونه‌ها تعیین شد. سپس نمونه‌ها آسیاب شده و برای عصاره‌گیری آماده شدند. نمونه‌های پودر شده طی دو مرحله عصاره‌گیری شدند؛ ابتدا با محلول هگزان چربی و اسانس آن‌ها حذف شده و سپس نمونه‌ها در مخلوط متانول و دی‌متیل‌سولفوکساید (به نسبت ۳:۱) به‌مدت ۵۰ دقیقه با استفاده از هیتر مگنت دار هم زده شد. عصاره بدست آمده پس از عبور از کاغذ صافی واتمن جهت تعیین درصد روتین و کرسیترین، به دستگاه HPLC[1] تزریق شد. علاوه بر پارامترهای یاد شده، وزن خشک، وزن تر و عصاره خشک نمونه‌ها نیز ثبت شد. تجزیه تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و همچنین روش مقایسه میانگین‌ها انجام گرفت. برای آنالیز نمونه‌ها از دستگاه HPLC ساخت شرکت واترز، مجهز به ستون C18 با دمای ۳۰ درجه و دتکتور UV استفاده شد. در این آزمایش از آب و استونیتریل به نسبت ۲۱/۵: ۷۸/۵ (روش ایزوکراتیک) با جریانی معادل ۲ میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان فاز متحرک استفاده شده و نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری شدند.

نتایج و بحث

اثر مکان بر صفات اندازه گیری شده: نتایج آنالیز آماری صفات مورد مطالعه نشان داد که بین صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری بین مناطق مورد مطالعه مشاهده نشد، ولی میزان روتین و کرسیترین تحت تاثیر رویشگاه قرار داشتند (جدول ۱). نتایج نشان داد که در مقایسه با منطقه گرگان کرسیترین اندام‌های مختلف گیاه در منطقه کلاردشت بیشتر بوده است (۰/۱۲۵٪ و ۰/٤۲٪ به‌ترتیب در گرگان و کلاردشت). تاثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف بررسی شده است

1- High performance liquid chromatography

که در اکثر موارد بر نقش رویشگاه به‌عنوان عامل تاثیر گذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است (همتی و همکاران، ۲۰۰۳، سیروستاوا و شیم، ۲۰۰۲؛ همتی و همکاران، ۲۰۰٦). مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرایند تشکیل مواد موثره تاثیر گذار باشد. مثلاً بیشترین میزان تجمع هایپرسین در گل راعی (*Hypericum perforatum*) زمانی انجام می‌شود که رشد و نمو گیاه در مناطقی با رطوبت نسبی بالا صورت گیرد (لورل و همکاران، ۱۹۹۹). مکانیسم تاثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه به درستی روشن نیست. با این وجود این نکته روشن است که محیط از طریق تاثیری که در فرایند تولید متابولیت و عوامل مرتبط به فرآیند تولید (مثل آنزیم‌ها) دارد، در نوع و شدت واکنش‌های شیمیایی موثر است.

جدول ۱- تأثیر مکان روی متغیرهای اندازه‌گیری شده

رویشگاه	وزن تر	وزن خشک	عصاره کل	روتین	کرسیترین
گرگان	۱۱/۲۰۷ a	٤/۰۹۲ a	۱/۸٦۱ a	۰/۰۲۳ b	۰/۱۲۵ b
کلاردشت	۱۱/٤۱٦a	۳/۹٦۹ a	۱/۹٤۲a	۰/۰۸۲ a	۰/٤۲ a

*علائم مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است

همتی و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی تاثیر مکان کشت بر میزان فلاونوئیدهای مرکبات گزارش نمودند که ترکیبات هیسپردین و نارنجین پوست مرکبات بصورت معنی‌داری تحت تاثیر مکان کشت قرار داشت، بطوری‌که میزان هیسپردین مرکبات شمال کشور بصورت معنی‌داری از مرکبات جنوب بیشتر بود. نتایج مشابه‌ای توسط سیروستاوا و شیم (۲۰۰۲) در مرکبات گزارش شد. در بررسی‌های گیاه سرخ ولیک (*Crataegus monogyna*) نشان داده شد که مکان بر میزان فلاونوئیدهای آن اثر معنی‌داری دارد (همتی و همکاران ۲۰۰٦).

مطالعه تغییرات صفات مورد مطالعه در اندام های مختلف: نتایج این تحقیق نشان داد که در بین اندام‌های مختلف، بیشترین میزان فلاونوئید کرسیترین در گل (۱/۷ درصد) تولید شده و اختلاف معنی‌داری بین برگ، براکته و میوه وجود ندارد. همچنین داده‌ها نشان داد که درصد تجمع کرسیترین پوست بسیار ناچیز است. در هر دو منطقه میزان روتین در براکته (۰/۰۵ درصد) بیشتر از اندام‌های دیگر بود. در مقابل کمترین میزان روتین در پوست (۰/۰۰٤) مشاهده شد (جدول ۲). درجه حرارت از جمله عوامل محیطی تاثیر گذار در تشکیل و تجمع متابولیت‌های ثانویه است (داویس و آلبریگو،

۱۹۹٤). داویس و آلبریگو (۱۹۹٤) گزارش نمودند که میزان فلاونوئید پوست میوه مرکبات رابطه مستقیمی با درجه حرارت محیط دارد. بررسی‌های اولیه نشان داد که در مناطقی با درجه حرارت پایین‌تر تجمع فلاونوئید بیشتر است. داده‌های هواشناسی حاکی از آن است که منطقه رویش درختان نمدار در منطقه کلاردشت دارای آب و هوای خنک‌تری نسبت به منطقه گرگان دارد.

جدول ۲- تأثیر اندام‌های مختلف بر متغیرهای اندازه‌گیری شده در دو منطقه کلاردشت و گرگان

اندام گیاهی	وزن‌تر		وزن خشک		عصاره		روتین		کرسیترین	
	۱*	۲	۱	۲	۱	۲	۱	۲	۱	۲
برگ	۱۵/٤^{a}**	۱٤/۰^{a}	٥/٦ ^{a}	٤/۷^{b}	۱/۹ ^{ab}	۱/۱^{c}	۰/۰۳ ^{a}	۰/۰٤ ^{ab}	۰/۰۸^{b}	۰/۰۲^{b}
پوست	۱۰/۷ ^{bc}	۱۱/۳^{b}	٤/٥^{b}	٤/۹^{a}	۲/۰ ^{ab}	۲/۱^{b}	۰/۰۱ ^{b}	۰/۰ ^{c}	۰/۰^{b}	۰^{b}
براکته	۹/۹^{c}	۹/٦۲^{c}	۲/۸^{c}	۳/٤^{b}	۲/۲^{a}	۱/۸^{b}	۰/۰٥ ^{a}	۰/۰٥ ^{a}	۰/۲ ^{b}	۰/۰۳^{b}
گل	۹/٤ ^{c}	۱۰/٤^{bc}	۳/۲^{cd}	٤/٥^{ab}	۱/۲ ^{b}	۱/۳^{c}	۰/۰۱ ^{b}	۰/۰۱ ^{bc}	۱/۷ ^{a}	۰/٤^{a}
میوه	۱۱/۷ ^{b}	۱۰/٦ ^{bc}	۳/۸^{bc}	٤/۷^{ab}	۲/٥ ^{a}	۲/۹^{a}	۰/۳ ^{a}	۰/۰ ^{c}	۰/۲ ^{b}	۰/۲ ^{b}
کل	٥۷/۱	٥٥/۹	۱۹/۹	۲۲/۲	۹/۸	۹/۲	۰/٥۳	۰/۱	۲/۱۸	۰/٦٥

*۱: کلاردشت، ۲: گرگان، ** علائم مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥٪ است.

این موضوع می تواند دلیلی بر تجمع بیشتر فلاونوئیدهای اندازه‌گیری شده در درختان نمدار منطقه کلاردشت باشد. علاوه بر این با توجه به اینکه منطقه کلاردشت نسبت به جنگل شصت‌کلا گرگان در ارتفاع بالاتری قرار دارد و اشراف به نقش فلاونوئیدها در حفاظت گیاه در برابر نور فرابنفش تراکم بیشتر ترکیبات فلاونوئیدی در منطقه کلاردشت توجیح پذیر است. تاثیر هوای خنک بر تجمع مواد موثره اندازه‌گیری شده می‌تواند بیشتر نحوی به طولانی‌تر بودن دوره تقسیم سلولی و فعالیت بافت گیاهی در مناطق خنک مرتبط باشد.

اثر متقابل اندام گیاه و مکان رویش بر صفات مورد مطالعه: نتایج نشان داد که میزان ماده خشک در اندام‌های مختلف نمدار در دو منطقه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند، به‌طوری‌که بیشترین درصد ماده خشک برگ (٥/٦۰۷ درصد) جمع‌آوری‌شده از کلاردشت و کمترین آن (۲/۷٥۳ درصد) در براکته‌های همان منطقه به‌دست آمد (جدول ۲). با این وجود مقدار کل وزن خشک در منطقه گرگان بیشتر از کلاردشت بود (جدول ۲). سیروستاوا و شیم (۲۰۰۲) بیان کردند که بدلیل بالا بودن رطوبت اندام‌های گیاهی در مناطق پرباران تجمع مواد خشک گیاهان این مناطق کمتر از مناطق کم‌باران است.

داده‌های هواشناسی نشان می‌دهد که در طول انجام آزمایش میزان بارندگی کل در کلاردشت بیشتر از گرگان است. بنابراین بارندگی می‌تواند دلیل اصلی اختلاف مشاهده شده در وزن خشک نمونه‌های دو منطقه باشد. بر اساس نتایج این تحقیق، عصاره کل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اندام‌های مختلف و مکان قرار گرفت به‌طوریکه بیشترین میزان عصاره کل (۲/۹ گرم در صد گرم وزن خشک) از میوه‌های جمع‌آوری شده از گرگان و کمترین آن (۱/۱۰۳گرم در صد گرم وزن خشک)در برگ‌های جمع‌آوری شده از گرگان به دست آمد (جدول ۲). بیشترین میزان روتین (۰/۳۰۷ درصد) در میوه درختان در کلاردشت و کمترین در پوست درخت نمدار (۰/۰۰۳ درصد) بدست آمد. کرسیترین در پوست تولید نشد ولی بیشترین میزان آن در گل تولید شد.

نتایج نشان داد که در مقایسه با مناطق جنگلی گرگان، تجمع فلاونوئید های اندازه گیری شده در منطقه کلاردشت بیشتر است. بررسی ها نشان داد که درختان نمدار جنگل های غرب مازندران پتانسیل تولید مواد دارویی بیشتری نسبت به جنگلهای گلستان دارند. با این وجود نتیجه گیری کلی در مورد تشابه و تفاوت کمی و کیفی ترکیبات فلاونوئیدی اندام رویشی گیاه نمدار در رویشگاهای ذکر شده نیاز به بررسی بیشتری دارد.

منابع

1. Chang, H.J., Soeg, H., Choi IPark, M. and Yoncho, H. 2005. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild Ginseng leaves. Korea Food Research Institute. LWT - Food Science and Technology, 39(3): 266-274
2. Chena, G., Zhang, H.B. and Yea, J. 2000. Determination of rutin and quercetin in plants by capillary electrophoresis with electrochemical detection Analytica Chimica Acta 423: 69–76.
3. Davise, FS. and Albrigo, L.G. 1994. Citrus. CAB. International Press, Wallington, UK, P 9814.
4. Hemati, KH, Omidbeigi, R. and Bashiri Sadr, Z. 2003. Effect of climate and harvest time on the qualitative and quantitative characteristics of flavonoids of citrus varieties. Ph.D thesis, Submitted to Modares University.
5. Hemati, KH., Sharifani, M., Kalati, H. and Badiee, P. 2006. Flavenid content of Hawthorn (*Crataeguus monogyna*) in Iran. ISHS Acta Hort. 765: XXVII International Horticultural Congress -International Symposium on Plants as Food and Medicine: The Utilization and Development of Horticultural Plants for Human Health.

6. Jiang, P., Burczynski, F., Campbell, C., Pierce, G., Austria, J.A. and Briggs, C.J. 2007. Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species Fagopyrum esculentum, F. tataricum, and F. homotropicum and their protective effects against lipid peroxidation. Food Res Int. 40: 356-364.
7. Laurel F.R., Servio R.P., Valerie B.K., Gregory M.J. and Ian, C.P. 1999. Direct and indirect effects of climate change on St. John's wort, *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Oecologia. 120: 113-122.
8. Manthy, J.A. and Grohmann, K. 1996. Concenteration of hespreidin and other orange peel flavonoids in citrus processing by products. J. Agric. Food Chem. 44: 811–14.
9. Omidbeigi, R. 1996. Approaches of medicinal plants production and processing. Nashr publishing House.
10. Sabeti, H. 2003. Iranian forest, trees and shrubs, University of Science and Industry publishing house.
11. Srivastava, A.W. and Shym, S. 2002. Citrus: Climate and soil. International Book Distributing Company, p. 559.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Production, Vol. 19(2), 2012
http://jopp.gau.ac.ir

(Short Technical Report)

Site effect on some important flavonoid compounds of Linden tree (*Tilia platifolia* L.)

Kh. Hemati[1], *A. Ghasemnezhad[2], K. Mashayekhi[3] and Z. Bashiri Sadr[4]
[1,3]Assistante Prof., Dept. of Horticultureal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Associate Prof. Dept. of Horticultureal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [4]Assistante Prof. in Research Organization of Iran, Tehran

Abstract

Linden tree is one of the plant species growing along the border of Caspian Sea and south of Alborz Mountain. The flowers, fruits, leaves and the bark of the plant contain some valuable polyphenols compounds including chersiterin, Christine, rutin and campherol that widely are used in pharmaceutical industries. It was the aim of present experiment to investigate the effect of growing regions on the quality and quantity of polyphenols of different parts of linden tree. Flowers, fruits, leaves, and barks of the experimental plants were collected based on randomized block design with three replications, both in Gorgan and Kelardasht forests. Parameters like fresh weight, dry weight, total extract of samples, and the content of rutin and chersiterin were measured in this experiment. Results showed that growing region significantly influenced on the amount of measured polyphenolic compounds. Generally the accumulation of polyphenolic compounds of linden trees influenced by environmental conditions, in which the highest content of rutin (0.53%) and chersiterin (2.18%) were recorded in Kelardasht.

***Keywords*:** Linden tree; Climate; Polyphenols; Rutin; Chersiterin

*Corresponding author; Email: aghasemnajad@hotmail.com