نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و پنجم، شماره چهارم، ۱۳۹۷
http://jopp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jopp.2018.14317.2282

ارزیابی برخی ترکیبات زیست‌فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ و میزان اسانس گل ارقام مختلف گیاه داوودی

محبوبه سادات هدایی[1]، *مهدی رحیم‌ملک[2] و احمد ارزانی[3]

[1]دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان،
[2]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان،
[3]استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۰۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۳۱

چکیده

سابقه و هدف: گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی محسوب می‌گردد. گزارش‌های موجود به حضور ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی متفاوت در ارقام مختلف گل داوودی اشاره دارد. همچنین خواص زیستی فراوانی مثل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضد باکتری، و ضد ویروس برای این گیاه شناخته شده است. در این مطالعه ۱۳ رقم گل داوودی از نظر میزان فنول، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و همچنین درصد اسانس گل مورد مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال ۱۳۹٤ اجرا شد. بدین‌منظور از برگ‌های خشک ارقام مختلف عصاره متانولی تهیه شد. سنجش فنول و فلاونوئید کل به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با روش DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. استخراج اسانس از پودر گل گیاهان خشک‌شده به کمک دستگاه کلونجر انجام و درصد اسانس محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارقام داوودی مورد مطالعه از نظر همه صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه دارای تفاوت معنی‌داری بودند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در میان ارقام مختلف میزان کل ترکیبات فنولی بین ۳۳/۲۰-۱۷/٦۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، میزان فلاونوئید کل بین ۵۳/۱۷-۱۲/٦۲ میلی‌گرم بر گرم و IC_{50} بین ۲۲۸-٥٤ µg/ml متغیر بودند. بیش‌ترین میزان فنول کل در رقم پویا ۳ (۳۳/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) وجود داشت، در حالی‌که رقم سهند ۲ (۱۷/٦۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) دارای کم‌ترین میزان آن بود. همچنین از نظر مقدار فلاونوئید کل ارقام مرمر و سهند ۲ به‌ترتیب با ۵۳/۱۷ و ۱۲/٦۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فلاونوئید کل بودند. بر اساس قدرت احیاکنندگی آهن نیز میزان جذب در ارقام مختلف بین ۱/۳۰ تا ۲/۰۳ متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای همه ارقام مورد مطالعه را به پنج گروه تقسیم‌بندی نمود. درصد اسانس در میان ارقام مختلف بین ۰/۰۷ تا ۰/۵۳ درصد متغیر بود و تنوع بالایی نیز از نظر میزان اسانس در ارقام مورد مطالعه مشاهده شد.

* مسئول مکاتبه: mrahimmalek@cc.iut.ac.ir

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی نتایج حاصله نشان از فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اکثر ارقام مورد بررسی داشت. بنابراین می‌توان عصاره برگ‌های گیاه داوودی را به‌عنوان یک منبع مناسب آنتی‌اکسیدان طبیعی معرفی نمود. همچنین در این مطالعه ارقام مرمر، آتش ۲ و اریکا از لحاظ صفات فیتوشیمیایی مورد بررسی و رقم درنا ۲ از نظر میزان اسانس تولیدی برتر از ژنوتیپ‌های موجود ظاهر شدند. بنابراین می‌توان انتظار داشت تلاقی ارقام مرمر، آتش ۲ و اریکا با ارقام گروه پنجم (درنا ۲ و سهند ۲) بتواند ارقام موجود در این گروه را به لحاظ میزان ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی ارتقا بخشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، داوودی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنول

مقدمه

گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) به‌عنوان گیاهی متعلق به تیره Asteraceae، یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی به‌شمار می‌رود (٤ و ۱۱). گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند، می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو شوند، در نتیجه کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی و سکته‌های مغزی را موجب می‌شوند (۳ و ١٦). برگ‌ها و گل‌های گیاه داوودی نیز به‌عنوان منابع خوبی از فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک هستند و خواص زیستی فراوانی مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضد باکتری و ضد ویروس ایدز (HIV) برای آن‌ها شناخته شده است (۱۱ و ۲۵). فلاونوییدها در اندام‌های مختلف گیاهی یافت می‌شوند و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، از نقش مهمی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و حفاظت سیستم‌های زیستی در برابر تنش‌های اکسیداتیو برخوردار هستند. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه داوودی وجود مقادیر معنی‌دار صفات فیتوشیمیایی به‌خصوص فلاونویید در عصاره متانولی برگ و گل‌های گیاه داوودی را نشان داد (۱۵). لین و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر حفاظت‌کنندگی فلاون‌های کل عصاره گل داوودی را به سبب فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بر جلوگیری از آسیب مغزی ناشی از کم‌خونی در موش تأیید نمودند (۱۲). برگ‌های این گونه نیز به‌عنوان یکی از منابع دارویی مهم و پرکاربرد به شکل ضماد گیاهی برای درمان مشکلات پوستی و درمان بیخوابی استفاده می‌شوند (۱۵ و ۲۲). گزارش‌های موجود به حضور ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی متفاوت در ارقام مختلف گل داوودی اشاره دارد. در مطالعه‌ای دوه و همکاران (۱۹۹۹) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چهار رقم گل داوودی، فعالیت قوی آنتی‌اکسیدانی هر چهار رقم را در مدل سیستم‌های اسید لینولئیک و لیپوزوم تأیید کرده و رقم دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را معرفی نمودند (۵).

انواع متنوعی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی وجود دارد که منجر به ایجاد رنگ، طعم و بو در این گیاهان می‌شوند (۲۷). اسانس‌ها ترکیبات شیمیایی معطری هستند که در گیاهان مختلفی وجود دارند. در ساختمان اسانس‌ها ترکیبات بسیار متنوعی مانند الکل‌های ترپنوئیدی، هیدروکربن‌ها، فنول‌ها، آلدئیدها، استرها و کتون‌ها به‌طور طبیعی وجود دارند و از نظر ترکیب شیمیایی همگن نیستند (١٤). اسانس گیاه داوودی از گل و برگ‌های آن به‌دست می‌آید و به‌عنوان طعم‌دهنده و چاشنی در صنعت و در تهیه نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاهان به‌دلیل وجود ترکیبات معطر در اسانس آن‌ها معمولاً بسیار خوشبو هستند (٤). نوع و میزان ترکیبات شیمیایی اسانس گل داوودی بر حسب رقم گیاه و

منشاء آن کاملاً متغیر است. همچنین وجود ترکیبات معطری مانند β-Pinene، eucalyptol، camphor، borneol و bornyl acetate در اسانس گل‌های این گیاه گزارش شده است (۲۰).

امروزه ارقام بسیار متنوعی از گل داوودی در کشورهای مختلف و از طریق روش‌های مختلف به‌نژادی به‌خصوص دورگه‌گیری به‌دست آمده‌اند. آگاهی از تنوع ژنتیکی اولین گام در اصلاح گیاهان می‌باشد، بنابراین پتانسیل ارقام مورد نظر از جهات مختلف باید بررسی شود و سپس انتخاب صورت گیرد. از طرف دیگر، وجود تنوع ژنتیکی جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی دارای اهمیت زیادی می‌باشد (۲۱).

با وجود این‌که داوودی یکی از گیاهان زینتی و دارویی پرمصرف بازار جهانی محسوب می‌شود، اما در سال‌های گذشته پژوهش‌های منسجم و کافی روی ارقام مختلف آن انجام نشده و عمده مطالعات به خصوصیات زینتی معطوف بوده است. بنابراین اطلاعات اندکی در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی، خواص آنتی‌اکسیدانی و صفات فیتوشیمیایی ارقام مختلف گل داوودی، به‌ویژه در ایران، در دسترس می‌باشد. در این مطالعه ارقام مورد مطالعه گل داوودی از لحاظ دارا بودن ترکیبات ثانویه و خواص دارویی مطلوب به‌منظور معرفی ارقام برتر و برنامه‌ریزی هدفمند برای پژوهش‌های به‌نژادی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۱۳ رقم گل داوودی اصلاح‌شده (به روش دورگ‌گیری در پژوهشکده تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات) مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). قلمه‌های ریشه‌دارشده این گیاهان با فاصله ردیف ٦٠ سانتی‌متر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان در اردیبهشت‌ماه سال ١٣٩٤ کشت شدند. آبیاری در فواصل هر ۵ روز یک‌بار در ابتدای دوره رشد انجام شد و پس از استقرار گیاه هر هفته یک بار آبیاری صورت گرفت. نمونه‌های برگی در مرحله رویشی گیاه و حدود دو ماه پس از کشت جمع‌آوری شدند. نمونه‌برداری از گل‌ها نیز قبل از ظهور پرچم‌ها و در زمانی که گل‌ها کاملاً باز شده بودند انجام گرفت.

جدول ۱- ارقام داوودی مورد مطالعه.

Table 1. The investigated *Chrysanthemum* cultivars.

شماره Number	نام Name	شماره Number	نام Name
1	Atash2	8	Sahar
2	Ashna	9	Sahel
3	Erica	10	Atashgoon
4	Shokoh	11	Sahand2
5	Marmar	12	Hour
6	Tarannom2	13	Poya3
7	Dorna2		

تهیه عصاره و ارزیابی فنول کل برگ: میزان فنول کل با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. برای این منظور مقدار ۲/۵ گرم پودر برگ خشک شده گیاه به همراه ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ به‌مدت ٢٤ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. سپس عصاره حاصل سه مرتبه از کاغذ صافی عبور داده شد تا محلول شفافی به‌دست آید. مقدار فنول کل موجود در عصاره برگ‌های این گیاه به‌وسیله رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتو و به روش اسکلینکارد و سینگلتون (۱۹۷۷) مورد بررسی قرار گرفت (۱۹). بدین‌منظور مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی رقیق‌شده با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین- سیوکالتو و ۲ میلی‌لیتر از معرف کربنات سدیم ۷/۵ درصد به خوبی مخلوط و لوله‌های آزمایش به‌مدت ۱۵ دقیقه در حمام بن‌ماری ٤٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٧٦٥ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید تانیک استفاده شد. مقدار فنول کل با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسید تانیک، بر مبنای میلی‌گرم در گرم ماده خشک بیان گردید.

ارزیابی فلاونوئید کل: میزان فلاونوئید با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید، اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور ۰/۱ گرم از برگ گیاه با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسیده و سپس عصاره حاصل روی شیکر با سرعت ۱۱۰ rpm به‌مدت ۸ ساعت قرار گرفت. پس از این مدت به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل آب مقطر افزوده شد تا حجم ۵ میلی‌لیتر به‌دست آید. سپس به محصول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر نیتریت سدیم ۵٪ و پس از پنج دقیقه ۰/٦ میلی‌لیتر $AlCl_3$ ۱۰٪ اضافه شده و در نهایت ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار اضافه شد و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد (۷).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش DPPH: قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH بر اساس روش کولیسیک و همکاران (۲۰۰٤) اندازه‌گیری شد (۵). بدین‌منظور مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی، در غلظت‌های مختلف (۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ ppm) تهیه و به نمونه‌ها محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار افزوده گردید. سپس جذب نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. یک نمونه حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد و ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH به‌عنوان کنترل استفاده شد. برای بررسی فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH از شاخص IC_{50} استفاده شد. IC_{50} بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد. برای بررسی بهتر این فعالیت از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (ButylatedHydroxy Toluene) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

ارزیابی قدرت احیاکنندگی آهن: برای تعیین قدرت احیاکنندگی آهن، محلولی از ۱۰۰ میکروگرم عصاره برگی در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=٦/٥) و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول آبی یک درصد فری سیانید پتاسیم $[K_3Fe(CN)_6]$ مخلوط و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد تری‌کلرواستیک به مخلوط اضافه شد. محلول به‌دست آمده به‌مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول کلرید فریک ($FeCl_3$) مخلوط و جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. افزایش جذب در مخلوط واکنش به‌منظور فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر عصاره خواهد بود (۲).

استخراج اسانس گل: گل‌های گیاه در مرحله گلدهی کامل جمع‌آوری گردید. استخراج اسانس از پودر گل گیاهان خشک‌شده در سایه و پس از توزین به‌میزان ۷۰ گرم، با روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر به‌مدت هفت ساعت انجام شد. اسانس‌های به‌دست آمده پس از آب‌گیری توزین و درصد اسانس بر حسب میزان پودر اولیه هر نمونه محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS.9.1 و آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام و رسم نمودار با نرم‌افزار اکسل صورت گرفت. تجزیه خوشه‌ای داده‌ها به روش Ward's و با استفاده از نرم‌افزار Statgraphics انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که ارقام داوودی مورد مطالعه از نظر همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد دارای تفاوت معنی‌دار بودند (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۵).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات زیست- شیمیایی در ارقام مختلف داوودی.

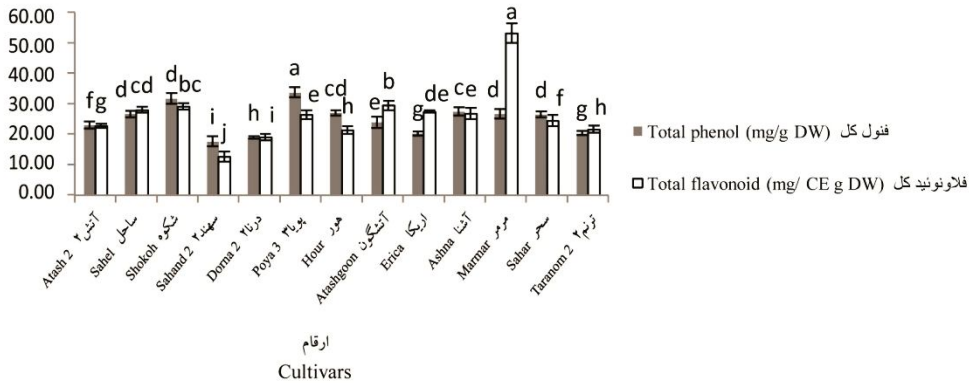
Table 2. Analysis of variance for phytochemical traits in different *Chrysanthemum* cultivars.

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	فنول کل Total phenole	فلاونوئید کل Total flavonoid	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50) Antioxidant activity (IC_{50})	قدرت احیاکنندگی آهن Ferric reducing power	میزان اسانس Essential oil content
تکرار	2	19.15**	25.35^{ns}	22.07**	0.003^{ns}	0.004**
رقم	12	69.87**	261.73**	7192.65**	0.26**	0.05**
اشتباه آزمایشی	24	0.20	0.46	1.11	0.005	0.0003

شکل ۱ میزان فنول کل و فلاونوئید کل استخراج شده از برگ را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولیک به رقم پویا ۳ (۳۳/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم سهند ۲ (۶۳/ ۱۷میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) اختصاص داشت. دوه و همکاران (۱۹۹۹) میزان ترکیبات فنولیک عصاره آبی گونه *C. morifolium* در ارقام چینی را بین ۳۲/۳ تا ۴۵/۷ و میزان کل فلاونوئید عصاره آبی این گونه را ۱۰/۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم گزارش نمودند (۵). بر این اساس میزان فلاونوئید عصاره متانولی این گونه در ارقام ایرانی بیش‌تر از این میزان در عصاره آبی ارقام چینی می‌باشد. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع ارقام مورد استفاده یا حلال‌های مختلف باشد. رنج‌های مختلفی از میزان فنول کل در گونه‌های مختلف داوودی در دیگر کشورها بر اساس کاربرد استانداردها و حلال‌های مختلف گزارش شده است. به‌عنوان مثال میزان فنول کل در برگ گونه *C. balsamita* در کشور بلغارستان از ۹۶/۲۰ تا ۱/۰۷ بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم گزارش شده است (۱). بر اساس گزارش هانگ و همکاران (۲۰۱۲) نیز میزان فنول کل در گونه مورد مطالعه بیش‌تر از گونه *indicum* برآورد شده است (۸).

از نظر مقدار فلاونوئید کل ارقام مرمر و سهند ۲ به‌ترتیب با ۵۳/۱۷ و ۱۲/۶۲ میلی‌گرم بر گرم دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فلاونوئید بودند (شکل ۱).

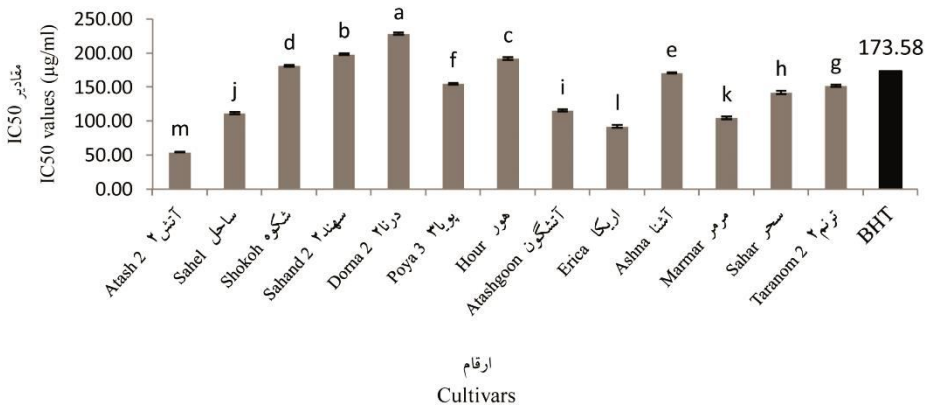
مطالعات گذشته نشان‌دهنده وجود مقادیر متفاوتی از ترکیبات فلاونوئیدی در ارقام مختلف داوودی بوده است. وجود چنین تنوع گسترده‌ای را می‌توان به کاربرد ارقام و حلال‌های مختلف یا مراحل فنولوژیک متفاوت نسبت داد. بر اساس مطالعات انجام‌شده مقدار فلاونوئید کل عصاره آبی گل ارقام داوودی چینی بین ۸۳/۷۹ تا ۱۰/۸۳ میلی‌گرم کتچین بر گرم گزارش شده است (۲۷). همچنین نیسرین (۲۰۱۵) در مطالعه مشابهی به حضور مقادیر معنی‌داری از فلاونوئیدها در عصاره متانولی برگ گیاه داوودی و نقش آن‌ها در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پتانسیل دارویی این گیاه اشاره نموده است (۱۵).



شکل ۱- میزان فنول و فلاونوئید کل ارقام مختلف گیاه داوودی.

Figure 1. Total Phenolic and Flavonoid contents in different *Chrysanthemum* cultivars.

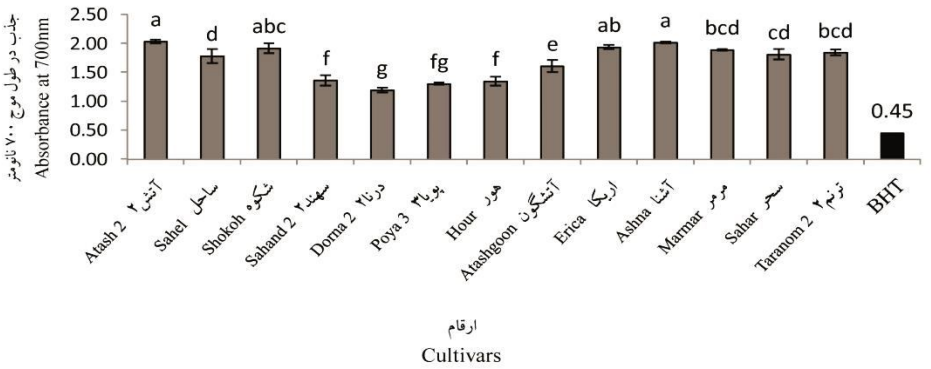
شاخص IC_{50} اندازه‌گیری‌شده در ارقام مورد بررسی، طیف گسترده‌ای را از بیشینه ۲۲۸ تا کمینه ٥٤ µg/ml، به‌ترتیب در رقم درنا ۲ و آتش ۲ به خود اختصاص داد. بنابراین رقم آتش ۲ و در رتبه‌های بعدی ارقام اریکا و مرمر بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر ارقام و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند (شکل ۲). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خود به‌عنوان ترکیبات دارویی مهم قابل‌توجه هستند. تنوع مشاهده شده در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام مورد مطالعه، علاوه بر این‌که بیانگر فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ‌های گیاه داوودی می‌باشد، تفاوت بالای ژنتیکی بین ارقام و تنوع در صفت مورد بررسی را نیز نشان می‌دهد. کاربرد انواع استانداردها و حلال‌های مختلف در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقایسه را دشوار می‌سازد. دوه و همکاران (۱۹۹۹) میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره آبی در ارقام داوودی چینی را ۷۱ تا ۹۵ درصد گزارش نمودند (۵). در حالی‌که زنگ و همکاران (۲۰۱٤) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کم‌تری (۱۱ درصد) را در عصاره اتانولی ارقام چینی مشاهده نمودند (۲۷). در مطالعه‌ای بر روی ۲۰ گیاه مختلف از خانواده Asteraceae بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش DPPH در برگ‌های این گونه‌ها (۱۵/۱۲ درصد) نسبت به گل (۸/۱۷ درصد) و ساقه (۹/٦۱ درصد) گزارش شد (۹)



شکل ۲- مقادیر IC_{50} اندازه‌گیری‌شده در ارقام داوودی.

Figure 2. IC_{50} values evaluated in *Chryanthemum* cultivars.

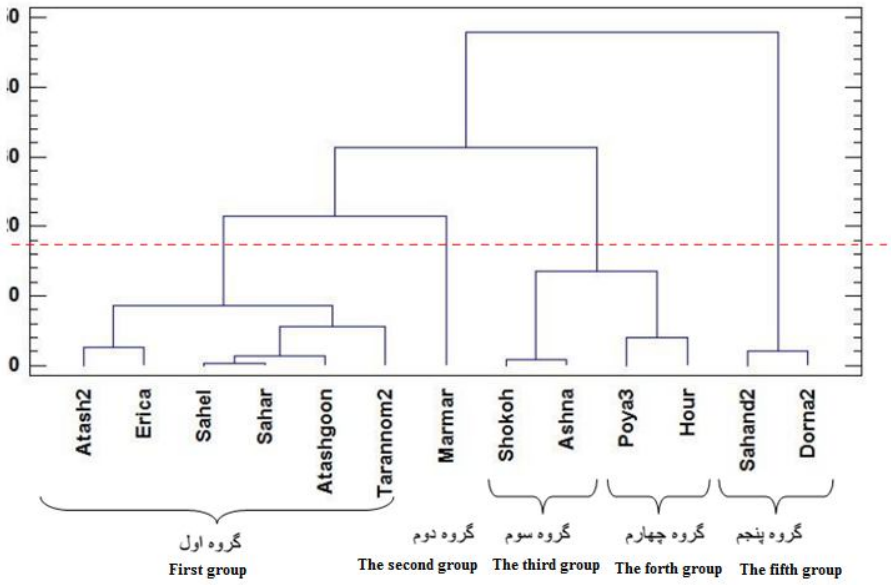
آزمون قدرت احیاکنندگی آهن نشان داد که همه ارقام مورد بررسی از قدرت احیاکنندگی بالاتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT برخوردار هستند. میزان جذب در ارقام مختلف بین ۱/۳۰ تا ۲/۰۳ متغیر بود (شکل ۳). بیش‌ترین میزان جذب به‌ترتیب در ارقام آتش ۲ (۲/۰۳) و آشنا (۲/۰۱) و کم‌ترین میزان جذب در رقم درنا ۲ (۱/۱۹) مشاهده شد. دوه و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی چهار رقم داوودی چینی را ارزیابی کردند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی برای همه ارقام گزارش نمودند (۵). بررسی همبستگی بین مقادیر سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با دیگر صفات اندازه‌گیری‌شده نشان می‌دهد که سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس IC_{50}، با سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس قدرت احیاکنندگی آهن همبستگی منفی و معنی‌داری (r= -۰/٦٦١) دارد. با توجه به این‌که IC_{50} بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره‌ای است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد (٦)، بنابراین مقادیر کم‌تر IC_{50} نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر خواهد بود. همچنین در روش اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن، قدرت آنتی‌اکسیدانی یک نمونه از طریق توانایی آن در احیا نمودن آهن Fe^{3+} و تبدیل آن به Fe^{2+} قابل تشخیص است (۱۸). بنابراین افزایش جذب در مخلوط واکنش به مفهوم قدرت احیاکنندگی و آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر عصاره می‌باشد. بر این اساس، وجود همبستگی منفی بین دو روش مذکور، تأیید نتایج اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس دو مدل را نشان می‌دهد.



شکل ۳- قدرت احیاکنندگی آهن عصاره برگ ارقام مختلف گیاه داوودی.

Figure 3. Reducing power of leaf extracts in different *Chrysanthemum* cultivar.

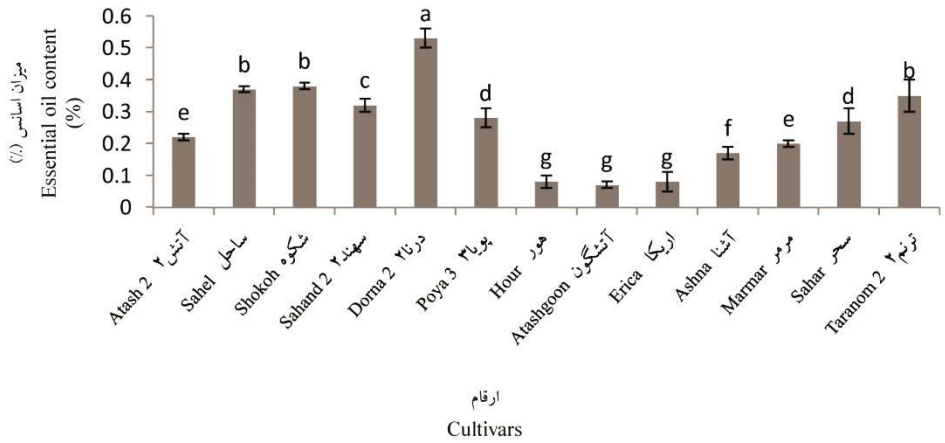
تجزیه خوشه‌ای برای تمام صفات اندازه‌گیری‌شده به روش حداقل واریانس Ward's صورت گرفت. مناسب‌ترین نقطه برش دندروگرام همه ارقام داوودی مورد مطالعه را به پنج گروه تقسیم‌بندی نمود. گروه اول شامل ارقام آتش ۲، اریکا، سحر، ساحل، آتشگون و ترنم ۲ بود که به دو زیر گروه تقسیم شدند. زیرگروه اول ارقام آتش ۲ و اریکا را شامل شد که این ارقام با داشتن کم‌ترین میزان IC_{50} و بیش‌ترین میزان قدرت احیاکنندگی آهن دارای بیش‌ترین فعالیت آنتی‌رادیکالی در بین ارقام مورد مطالعه بودند. ارقام سحر، ساحل، آتشگون و ترنم ۲ در زیرگروه دوم گروه اصلی اول قرار گرفتند. این ارقام از شاخص IC_{50} بالاتری نسبت به ارقام آتش ۲ و اریکا برخوردار بودندکه آن‌ها را از زیر گروه اول متمایز می‌نمود. گروه اصلی دوم رقم مرمر را به لحاظ داشتن بیش‌ترین میزان فلاونوئید از بقیه ارقام جدا کرد. گروه اصلی سوم شامل ارقام شکوه و آشنا بود که دارای سطح مطلوبی از میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و قدرت احیاکنندگی آهن بودند. گروه اصلی چهارم شامل ارقام پویا ۳ و هور بود. این ارقام از نظر همه صفات به غیر از شاخص IC_{50} که در آن‌ها تقریباً بالا بود، از میزان متوسط و مشابهی برخوردار بودند. گروه پنجم شامل ارقام سهند ۲ و درنا ۲ بود که با داشتن کم‌ترین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، قدرت احیاکنندگی آهن و قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH از سایر ارقام متمایز شدند (شکل ٤). در نهایت مطابق نتایج ارائه شده و وجود تنوع در بین ارقام داوودی مورد مطالعه، گام بعدی انتخاب مواد گیاهی مناسب در بین گروه‌ها برای انجام برنامه‌های اصلاحی است. بر این اساس می‌توان انتظار داشت ارقام مرمر، آتش ۲ و اریکا بتوانند از لحاظ صفات زیست- شیمیایی مورد بررسی برتر از ژنوتیپ‌های موجود ظاهر شوند و همچنین تلاقی آن‌ها با ارقام گروه پنجم بتواند ارقام موجود در این گروه را به لحاظ میزان ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی ارتقا بخشد.



شکل ٤- تجزیه خوشه‌ای ارقام داوودی بر اساس صفات فیتوشیمیایی.

Figure 4. Cluster analysis of *C. morifolium* cultivars based on phytochemical traits.

اسانس در ارقام مختلف به رنگ‌های زرد، سبز و آبی و میزان آن در دامنه‌ای بین ۰/۰۷ تا ۰/۵۳ درصد (وزنی/ وزنی) متغیر بود (شکل ۵). در این مطالعه، بیش‌ترین درصد اسانس به‌ترتیب در ارقام درنا ۲، شکوه و ساحل مشاهده شد. ارقام هور، اریکا و آتشگون نیز دارای کم‌ترین درصد اسانس بودند. با توجه به این‌که همه ارقام در یک محیط و در شرایط اقلیمی تقریباً یکسان کشت شده‌اند، عمده تفاوت در میزان اسانس را می‌توان به ژنوتیپ گیاه نسبت داد. بر اساس مطالعات انجام شده در ارقام داوودی چینی درصد اسانس بین ۰/۱ تا ۰/۲۶ درصد گزارش شد (۲۳ و ۲۶). در ارقام ایرانی مورد استفاده در این مطالعه علاوه بر وجود تنوع قابل‌توجه از نظر میزان اسانس، درصد اسانس بیش‌تری نیز نسبت به ارقام چینی مشاهده شد. همچنین بر اساس مطالعات انجام شده، درصد اسانس گزارش شده برای سایر گونه‌ها مانند *C. fontanesii* (۰/۱ درصد) و *C. coronarium* (۰٦/۰ درصد) بسیار کم‌تر از این میزان در گونه *morifolium* بوده است (۱۳). در مطالعه حاضر، ارقام درنا ۲، ساحل و شکوه علاوه بر درصد اسانس بالا از عملکرد گل بالایی نیز برخوردار بودند که صرفه اقتصادی تولید اسانس در این ارقام را به مراتب افزایش می‌دهد.



شکل ۵- میزان اسانس ارقام مختلف گیاه داوودی.

Figure 5. Essential oil content of different *Chrysanthemum* cultivars.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین ارقام مختلف از نظر مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده که وجود چنین تنوعی می‌تواند بیانگر نقش رقم و ژنتیک در تولید این ترکیبات باشد. بر اساس نتایج این مطالعه برگ ارقام داوودی با دارا بودن سطح مطلوبی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه ارقام مرمر، آتش ۲ و اریکا از لحاظ صفات فیتوشیمیایی مورد بررسی برتر از ژنوتیپ‌های موجود ظاهر شدند. نتایج حاصل از این پژوهش را می‌توان در جهت انتخاب صحیح والدین برای انجام تلاقی‌های هدفمند در برنامه‌های اصلاحی بعدی گل داوودی به‌منظور بهبود صفات فیتوشیمیایی ارقام موجود به‌کار برد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از جناب آقای مهندس شفیعی و مسئولین محترم ایستگاه ملی تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات به‌خاطر تأمین مواد گیاهی سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. Alexieva, I., Mihaylova, D. and Popova, A. 2013. Evaluation of the antioxidant capacity of aqueous extracts of fresh *Chrysanthemum balsamita* L. leaves growing in Bulgaria. Научни трудове на русенския університет серия. 10: 88-91.
2. Ardestani, A. and Yazdanparast, R. 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chem. 104: 21-29.
3. Chung, H.S., Chang, L.C., Lee, S.K., Shamon, L.A., van Breemen, R.B., Metha, R.G., Farnsworth, N.R., Pezzuto, J.M. and Kinghorn, A.D.1999. Flavonoid constituents of Chorizanthediffusa with potential cancer chemopreventive activity. J. Agric. Food Chem. 47: 36-41.
4. Da silva, J.A.T. 2003. *Chrysanthemum*: advances in tissue culture, cryopreservation, postharvest technology, genetics and transgenic biotechnology. Biotechnol. Adv. 21: 715-766.
5. Duh, P.D., Tu, Y.Y. and Yen, G.C. 1999. Antioxidant activity of water extract of HarngJyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). LebensmWiss. U. Technol. 32: 269-277.
6. Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., Goli, S.A.H. and Talebi, M. 2012. Effect of drought stress on some physiological properties and antioxidant activity of *Achillea tenuifolia*. J. Herbal Drug. 3: 181-190.
7. Hossain, M., Muhammad, M.D., Charles, G. and Mahammad, I. 2011. In vitro total phenolics, flavonoids contents and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts from the leaves of tropical medicinal plant Tetrastigma from Sabah. Asian. Pac. J. Trop. Med. 4: 717-721.
8. Hung, C.Y., Tsai, Y.C. and Li, K.Y. 2012. Phenolic antioxidants isolated from the flowers of *Osmanthus fragrans*. Molecules. 17: 10724-10737.
9. Hwang, S.H., Paek, J.H. and Lim, S.S. 2016. Simultaneous ultra performance liquid chromatography determination and antioxidant activity of linarin, luteolin, chlorogenic acid and apigenin in different parts of Compositae species. Molecul. 21: 1609.
10. Kulisic, T., Radinoc, A., Katalinic, V. and Milos, M. 2004. Use of different method for testing antioxidative activity of orange essential oil. Food Chem. 85: 633-640.
11. Lin, L.Z. and Harnly, J.M. 2010. Identification of the phenolic components of *Chrysanthemum* flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Food Chem. 120: 319-326.
12. Lin, G.H., Lin, L., Liang, H.W., Ma, X., Wang, J.Y., Wu, L.P., Jiang, H.D., Bruce, I.C. and Xia, Q. 2010. Antioxidant action of a *Chrysanthemum morifolium* extract protects rat brain against ischemia and reperfusion injury. J. Med. Food. 13: 306-311.
13. Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., Figueredo, G., Silini, H. and Kenoufi, M. 2013. Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of Algerian populations of two *Chrysanthemum* species. J. Appl. Pharm. Sci. 3: 6-11.
14. Marotti, M., Dellacecca, V., Piccaglia R. and Glovanelli, E. 1993. Agronomic and chemical evaluation of three varieaties of *Foeniculum vulgare*. J. Acta Hort. 331: 63-69.
15. Nisreen, H. 2015. Flavonoid in flower and leaf of *Chrysanthemum* as antioxidants and therapeutic agents. Int. Hum. Res. J. online at www.ihrj.org. ISSN 2347-7067.
16. Prior, R.L. and Cao, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. Hort. Sci. 35: 588-92.
17. Roein, Z., Hassanpour, M., Sabouri, A. and Dadras, A.R. 2014. Genetic variation of *Chrysanthemum* genotypes from Iran assessed by AFLP markers and phenotypic traits. Plant Syst. Evol. 300: 493-503.
18. Rouhani, R., Eynafshar, S. and Ahmadzadeh, R. 2015. Study of anthocyanin and antioxidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. Iran. Food Sci. Technol. Res. J. 11: 161-170.

19. Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Viticult. 28: 49-55.
20. Sun, H., Zhang, T., Fan, Q., Qi, X., Zhang, F., Fang, W., Jiang, J., Chen, F. and Chen, S. 2015. Identification of floral Scent in *Chrysanthemum* cultivars and wild relatives by Gas Chromatography- Mass Spectrometry. Molecul. 20: 5346-5359.
21. Teixira, D.S.J. 2004. Ornamental *Chrysanthemum*: improvement by biotechnology. Plant Cell Tiss Org. 79: 1-18.
22. Wang, T., Shen, X.G., Guo, Q.S., Zhou, J.S., Mao, P.F. and Shen, Z.G. 2015. Comparison of major bioactive components from leaves of *Chrysanthemum morifolium*. Zhongguo Zhong YaoZa Zhi. 40: 1670-1675.
23. Wang, Y. and Yong, X. 2006. GC-MS analysis of essential oil of the flower of the *Chrysanthemum morifolium* by the different processing methods. J. Chinese Materia Medica. 31: 456-459.
24. Wang, Y.J., Yang, X.W. and Guo, Q.S. 2008. Studies on chemical constituents in Huangjuhua (flowers of *Chrysanthemum morifolium*). Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 33: 526-530.
25. Wang, Y.J., Yang, X.W. and Guo, QS. 2008. Studies on chemical constituents in Huangjuhua (flowers of *Chrysanthemum morifolium*). Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 33: 526-530.
26. Yang, X., Han, M., Tao, H., Wang, Z., Yang, Z. and Xiao, S. 2007. GC-MS analysis of essential oil from anthodiums of *Chrysanthemum morifolium* processed by microwave-airflow and steam calefaction. J. Chin. Mater. 32: 227-231.
27. Zeng, Y., Deng, M., Lv, Z. and Peng, Y. 2014. Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. Springerplus. 3: 315.