مقاله پژوهشی

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۴، زمستان ۱۴۰۰ / صفحات: ۸۵-۷۵

Doi: 10.30495/iper.2022.679555 ***Dor: 20.1001.1.24237671.1400.16.64.2.6***

بررسی میزان فلاونویید نارنجین، هسپریدین و برخی مواد ثانویه در برگ و میوه پرتقال رقم تامسون (*Citrus sinensis Var. thampson*) تحت تاثیر جهت جغرافیایی تاج درخت در استان گلستان

سعید دانش[1*]، خدایار همتی[2]، صادق آتشی[2]

[1]گروه گیاهان دارویی اداره کل آموزش و پرورش استان گلستان، گرگان، ایران

[2]گروه علوم باغبانی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۳۱

چکیده

پرتقال تامسون (*Citrus sinensis Var. thampson*) درختی است که از برگ، گل، میوه و ضایعات پوست میوه‌ی آن در صنایع مختلف بویژه آرایشی، بهداشتی و صنایع غذایی استفاده می‌گردد. به منظور بررسی میزان برخی مواد ثانویه در برگ و میوه پرتقال (رقم تامسون) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. نمونه برداری برگ و میوه، از باغات پرتقال شهرستان بندرگز که در فاصله ۴۲ کیلومتری غرب گرگان واقع میباشد، انجام پذیرفت. تیمارهای تحقیق عبارت بود از چهار جهت جغرافیایی تاج درخت (شمال، جنوب، مشرق و مغرب) و اندام‌های برگ و میوه درخت. متغیرهای مورد اندازه‌گیری شامل، میزان فنل کل، فلاونویید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قند محلول کل و فلاونوئیدهای نارنجین و هسپریدین بودند که بوسیله دستگاه‌های اسپکتروفتومتر و HPLC مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج اثرات متقابل نشان داد حداکثر میزان قند محلول کل(۱۹ درصد)، فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل(۱۸ درصد) و فلاونوئید کل(۲۵/۷۹ درصد) مربوط جهت جغرافیایی شرق در میوه بود. بالاترین مقدار فلاونوییدهای نارنجین(۳۴/۷۵ درصد) و هسپریدین(۵۰ درصد) مربوط به جهت جنوب در میوه می‌باشد. همچنین بیشترین میزان فنل کل(۲۳درصد) مربوط جهت جغرافیایی غرب و میوه بوده است. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش مشخص شد که جهت جغرافیایی جنوب و مشرق بیشترین تاثیر را بر صفات بیوشیمیایی و اندام میوه داشتند.

واژه‌های کلیدی: اسپکتروفتومتر، نارنجین، هسپریدین، مواد ثانویه، HPLC

مقدمه

اهمیت محصولات کشاورزی در تامین سلامتی و تغذیه‌ی انسان دو مطلب اساسی مورد توجه است. امروزه استفاده از فرآورده‌های باغبانی در رژیم‌های غذایی به طور گسترده‌ای مورد توجه قرار می‌گیرد (Esna-ashari et al., 2008). پرتقال (*Citrus Sinensis* L.) از تیره سداب (*Rutaceae*) می‌باشد (Martinez-romero et al., 2005) و تیره سداب دارای سه جنس مهم به نام‌های سیتروس، پونسیروس و فورچونلا می‌باشند. گونه‌های جنس سیتروس دارای میوه‌های خوراکی بوده که دارای ویتامین C و ترکیبات فنلی می‌باشند که همگی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانت بوده و در ضمن به عنوان پایه نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (Jalili marandi, 2001). نارنجین

*نویسنده مسئول: S.danesh3@gmail.com

با مزه‌ی تلخ و تند به میزان بیشتر و به عنوان فلاونوئید اصلی در گریپ فروت و نارنج و هسپریدین بدون طعم و مزه به عنوان فلاونوئید اصلی در پرتقال و لیموها به‌مقدار بیشتر یافت می‌شود (Dermonty et al., 2010). هسپریدین در صنعت غذا و دارو استفاده می‌شود (Dimitri et al., 2010) و نارنجین در تهیه مواد شیرین کننده کاربرد دارد (Hemmati et al., 2014). مواد موثره گیاهان اگر چه بیشتر تحت تاثیر خصوصیات گیاه قرار دارند، ولی ساخت آنها بطور آشکاری تحت تاثیر فاکتورهای محیطی قرار می‌گیرند (Jin et al., 2010). فاکتورهای محیطی سبب تغییراتی در رشد، نمو و همچنین کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان می‌شوند. از طرفی محصول یک گیاه از نظر اقتصادی وقتی مقرون به صرفه است که مقدار مواد اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد (Ladania, 2008). با انتخاب عوامل محیطی مناسب می‌توان به حداکثر مقدار محصول و متابولیتهای ثانویه دست یافت. محیط گیاه ترکیبی از عواملی از قبیل نور، دما، آب، جهت جغرافیایی و ... است که گیاه در آن رشد می‌کند (Hemmati et al., 2003)، اما برای استفاده بلند مدت، از مواد اولیه خام با کیفیت بالا برای شرکت‌های داروسازی و استفاده موثر گیاهان برای درمان، تحقیق بر روی تأثیر آب و هوا و تأثیرات آن بر روی تولید مواد ثانویه ضروری است. تغییرات آب و هوا علاوه بر تغییر فنولوژی گیاه سبب تغییر توزیع گونه‌ها نیز می‌شود و از طرف دیگر تغییر زیستگاه و استرس‌های دمایی و نوری می‌تواند سبب تغییر در مواد ثانویه یا مواد دیگر شود که خود در ساخت این مواد ضروری هستند (Zandalinas et al., 2010). نتایج بررسی‌های Hemmati و همکاران (۲۰۱٤) بر روی میزان مواد فنولی و آنتی‌اکسیدانتی در جهات گوناگون درخت پرتقال خونی نشان از متفاوت بودن میزان این مواد تحت تاثیر عوامل محیطی بخصوص نور بود. تحقیقات و بررسی‌های فراوانی نشان از تاثیر بالای نور بر کمیت و کیفیت مواد ثانویه در گیاهان دارد. نور(به لحاظ کمی و کیفی) از جمله موارد بسیار مهم و تاثیر گذار در سنتز متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان است، به طوریکه بخش‌هایی از تاج گیاهان که نور بیشتری دریافت نمودند، سنتز بیشتری از متابولیت‌های ثانویه از جمله نارنجین و سایر ترکیبات فنلی داشتند(Emamiyan tabarestani et al., 2019 and Saffari et al., 2018). بیشتر بودن میزان متابولیت‌های اولیه و ثانویه در بخش‌های مختلف یک گیاه می‌تواند بدلیل نوع گیاه و ژنتیک آن، اقلیم و شرایط منطقه رشد گیاه، نوع و میزان تغذیه و عواملی از این دست باشند که همگی می‌توانند تعیین کننده مکان سنتز و ذخیره متابولیت‌های اولیه و ثانویه باشند. در شرایط مناسب و ایده‌آل بخش‌هایی از تاج پوششی گیاه که تحت تاثیر نور مناسب و با کیفیت قرار گرفته بودند، میزان متابولیت‌های ثانویه در آن قسمت از تاج درخت افزایش یافت (Hemmati et al., 2015 and Fengjuan et al., 2014). تاثیر اقلیم و منطقه رشد نیز بر کمیت متابولیت ثانویه هسپریدین، ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی به اثبات رسیده است (Hemmati et al., 2003 and Hemmati et al., 2004). بنابراین اقلیم، ارتفاع، میزان دریافت نور، دما، رطوبت و ... از فاکتورهای بسیار مهم محیطی هستند که در اکثر مواقع بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان (از جمله، کاتچین، اپی کاتچین، نارنجین، ترکیبات فنلی و...) تاثیر گذار هستند. (Mphahlele et al., 2014). ازاینرو تحقیق حاضر با هدف بررسی جهت‌های جغرافیایی مختلف تاج درخت پرتقال تامسون بر روی پایه نارنج و تاثیر آنها بر فاکتورهای کمی و کیفی بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق براساس آزمایش فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار در شهرستان بندرگز انجام شد.

جدول ۱: موقعیت جغرافیایی شهرستان بندرگز

استان	شهرستان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
گلستان	بندرگز	٥٤ درجه و ٠٢ دقیقه شرقی	٣٦درجه و ٤٦ دقیقه شمالی

عوامل مورد بررسی: جهات جغرافیایی(شمال، جنوب، مشرق، مغرب) و اندام(برگ و میوه) پرتقال رقم تامسون بر روی پایه نارنج بود. نمونه‌گیری برگ در زمان گلدهی و برداشت میوه نابالغ در اواخر اردیبهشت ۳۱ روز بعد از تمام گل درمنطقه‌ی بندرگز(استان گلستان) انجام شد. نحوه نمونه‌گیری بدین صورت بود که در هر جهت جغرافیایی تاج درخت، از برگ‌ها و میوه‌ها بصورت تصادفی نمونه برداری انجام گرفت و نمونه‌ها در بسته‌های مشخص قرار داده شدند و جهت خشک کردن به آزمایشگاه منتقل گشتند. جهت خشک کردن نمونه‌ها از آون با دمای ٤٠ الی ٤٥ درجه سانتیگراد به مدت ٢٤ ساعت استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان قند کل: میزان قند محلول کل با استفاده از روش آنترون مورد بررسی قرار گرفت (Mccready et al., 1950). بر طبق این روش ۰/۱ گرم نمونه را وزن کرده و در لوله آزمایش ریخته و ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدیک ۲/۵ نرمال به لوله‌ها اضافه می‌کنیم.نمونه‌ها را ۳ ساعت در آب جوش جهت هیدرولیز شدن نگهداری کرده و سپس برای خنثی کردن نمونه‌ها از کربنات سدیم استفاده می‌نماییم و سپس حجم نمونه‌ها را به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و سانتریفیوژ می‌نماییم. پس از افزودن معرف آنترون به نمونه‌ها، آنها در طول موج ٦٣٠ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند.

ارزیابی میزان فنل کل: مقادیر ترکیبات فنلی در نمونه‌های عصاره گیاهی توسط روش فولین سیوکالتیو اندازه گیری گردید و نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره بیان شد(Mcdonald et al., 2001). روش کار بدین صورت بود که ابتدا ۲ میلی‌لیتر عصاره متانولی با ١/١٦میلی‌لیتر آب دیونیزه رقیق گردید. سپس ١٠٠میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو به محلول فوق اضافه شد. پس از افزودن کربنات سدیم و قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب گرم نمونه‌ها در طول موج ٧٦٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردیدند.

سنجش میزان فلاونویید کل: محتوای فلاونویید کل بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد (Chang et al., 2002). طبق این روش میزان ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر درون لوله آزمایش مخلوط گشت و پس از طی زمان لازم بلافاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ٤١٥ نانومتر میزان جذب اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) محاسبه گردید (Singh et al., 2008). میزان ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده به همراه یک میلی‌لیتر معرف دی‌پی‌پی‌اچ به درون لوله آزمایش اضافه شد. پس طی مدت زمان لازم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب اندازه‌گیری شد.

مواد و دستگاه‌های مورد استفاده: جهت خشک کردن نمونه‌ها از دستگاه آون(دمای٤٠ الی ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ساعت)، استخراج مواد از متانول(۸۰ درصد)، اندازه‌گیری فنل کل، فلاونویید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قند محلول کل از

اسپکتروفتومتر و میزان نارنجین و هسپریدین از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با مشخصات زیر استفاده شد:

پمپ: لاکروم مدل: ل- ۷۱۰ ، آشکارساز (دتکتور): UV، ستون: C-۱۸ با ابعاد ٤/٦×۲۵۰ میلی‌لیتر، اندازه ذرات: ۵ میکرولیتر، طول موج: ۲۸۵ نانومتر، فاز متحرک: اسیداستیک (۵) استونیتریل (۱۰) متانول (۱۰) آب (۷۵)، سرعت جریان: ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه، حجم تزریق: ۱۰ میکرولیتر.

ابتدا نمونه استاندارد و سپس نمونه‌های مورد بررسی توسط فیلترهای ۰/٤۵ میکرون یک بار مصرف صاف و به مقدار ۱۰ میکرولیتر به دستگاه تزریق و منحنی‌های مربوط در حافظه کامپیوتر ذخیره شدند. سپس از غلظت‌های مختلف هسپریدین و نارنجین برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد (Marten, 2007). تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

اثر جهت جغرافیایی و اندام بر روی برخی از مواد ثانویه و قند محلول کل پرتقال: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داده که اثر جهت جغرافیایی و اندام اثر معنی داری بر صفات قندهای محلول، نارنجین، هسپریدین، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل در پرتقال داشت (جدول ۲). همچنین اثرات متقابل عوامل مورد تحقیق از نظر صفات قندهای محلول، نارنجین، هسپریدین، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات برخی از مواد ثانویه و قند محلول کل تحت تأثیر سطوح مختلف جهت جغرافیایی و اندام

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فنل کل	فلاونویید کل	فعالیت آنتی اکسیدانت کل	قند محلول کل	نارنجین	هسپریدین
جهت جغرافیایی	۳	۱/٦۵*	۰/۲۱۱*	٦۲۵/۸۵*	۱/۳٦۵*	۱۸۷٤۱۰۲۹/۳۰*	۱٤۱۲۲۷۳۸٦/۰*
اندام	۱	۰/۹۸۱*	۰/۳۲۵*	۱٤۷/٦۵*	۲/٦۳*	۷٤۳٦۵۷۸۸/۲۲*	۳۲۷۵۹۳۱۵۳۵/۰*
جهت جغرافیایی×اندام	۳	۰/۳۲۵*	۰/۵٤۱*	۳۲۱/٦۸*	٤/۹۸*	۵۸۲۰٤۸۸/٤۲*	۱۷۹۹۰۱۲۰۵٤/۰*
خطا	۱٦	٦/۹۸	۱/٤۵	۰/۳٦۲	۲۳/۹٦	٦٤/۸۲	۳۱۱/۵۷
ضریب تغییرات(٪)		۲/٦۵	۰/۹۸	٤/٦۵	۳/۸۷	۱۷/۸۲	۲۱/٤۰

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪، * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪، n.s عدم وجود اختلاف معنی‌دار

مطالعه اثر جهت جغرافیایی بر روی برخی از مواد ثانویه و قند محلول کل پرتقال: بر اساس ماحصل مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) بالاترین میزان قند محلول کل (۱۵/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط به کرانه جغرافیایی شرق و کمترین میزان آن (۱۳/۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) هم مربوط به جهت جغرافیایی غرب بود. از طرفی حداکثر میزان نارنجین (۱۷۰۲/۸٦ میلی‌گرم در لیتر) و هسپریدین(۲۸۹/٦٤ میلی‌گرم در لیتر) مربوط به جهت جغرافیایی جنوب بوده است. کرانه جغرافیایی غرب با ۱٤/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیشترین میزان فنل را دارا بود و جهت جغرافیایی جنوب با ٦/٤۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بالاترین میزان فلاونوئید برگ را دارا بود (جدول۳). در ادامه نتایج این پژوهش مشخص شد که غالب میزان آنتی‌اکسیدانت کل (٤۹/۸۷ درصد رادیکال آزاد)

مربوط به کرانه جغرافیایی شمال (با اختلاف کم نسبت به جنوب و مشرق) و کمینه میزان آن (۲۰/۷۷ درصد) هم مربوط به جهت جغرافیایی غرب بود.

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر جهت جغرافیایی روی فنل کل، فلاونویید کل، فعالیت آنتی اکسیدانت کل، میزان قندهای محلول کل، نارنجین و هسپیریدین

تیمار	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک)	فلاونویید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)	فعالیت آنتی اکسیدانت کل (درصد رادیکال آزاد)	قند محلول کل (میلیگرم بر گرم وزن خشک)	نارنجین (میلیگرم در لیتر)	هسپریدین (میلیگرم در لیتر)
شمال	۹/۱۱c	۲/۵۹d	٤۹/۸۷a	۱٤/۲۲c	۱۲٤۸/۱۳b	۲۵/۸۷d
جنوب	۷/٤۸d	٦/٤۲a	٤۵/۰۳b	۱٤/۵۳b	۱۷۰۲/۸٦a	۲۸۹/٦٤a
مشرق	۱۰/۳۳b	۵/۱۸b	٤۲/۲۳c	۱۵/۸۹a	۹٤۱/۵٤d	٤۹/۸۰c
مغرب	۱٤/۳۰c	٤/۲۱c	۲۰/۷۷d	۱۵/۸۹a	۱۰٤۰/۰۳c	۱٤۸/۲۳b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف یکسان هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند

سایر یافته‌های تحقیق نشان داد (جدول ٤) بالاترین میزان قندهای محلول کل مربوط به میوه بود که به اندازه ۳۷/۲۷ درصد بیشتر از مقدار موجود در برگ بود. همچنین بالاترین میزان نارنجین نیز مربوط به تیمار میوه به اندازه ۹۵/۲٦ درصد بیشتر از تیمار برگ می‌باشد. همچنین بر اساس ماحصل مقایسه میانگین‌ها (جدول ٤) بیشترین میزان فلاونویید هسپریدین در میوه به مقدار ٦۳/۰۱ درصد بیشتر از برگ رویت شد. ادامه نتایج حاکی از آن بود که میزان فنل کل در تیمار میوه به میزان ٤٤/۷۷ درصد بیشتر از تیمار برگ بود. همچنین مقدار فلاونویید کل نیز در میوه به اندازه ۵٦/۳۲ درصد بیشتر از برگ می‌باشد. بر اساس نتایج مشاهده شده میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل نیز به مقدار ۱۸/۱۷ درصد در تیمار میوه بیشتر از برگ بود (جدول ٤)

جدول ٤: مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر اندام روی فنل کل، فلاونویید کل، فعالیت آنتی اکسیدانت کل، میزان قندهای محلول کل، نارنجین و هسپیریدین

تیمار	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک)	فلاونویید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)	فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل (درصد رادیکال آزاد)	قند محلول کل (میلیگرم بر گرم وزن خشک)	نارنجین (میلی‌گرم در لیتر)	هسپریدین (میلی‌گرم در لیتر)
برگ	۵/۵۸b	۲/۰۱b	۳۱/٦۵b	۹/۱٤۰a	۵۵/۸۸b	٤۷/٦۵b
میوه	۱٤/٦۳a	۷/۱۹a	٤۵/۷۰a	۱۹/۹۹۸a	۲۳۰۳/۱۳a	۲۱۰/۰۰۸a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف یکسان هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند

مطالعه اثر متقابل جهت جغرافیایی و اندام بر روی برخی از مواد ثانویه و قند محلول کل پرتقال: نتایج اثرات متقابل مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵)، نشان داد که بیشترین میزان قند محلول کل (۲۳/۵۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) مربوط به اثرات متقابل کرانه جغرافیایی شرق و میوه بود. نتایج اثرات متقابل مقایسه میانگین‌ها (جدول ٦) مشخص ساخت بالاترین میزان فلاونویید نارنجین (۳۳٦۹/۰۷ میلی‌گرم

در لیتـر) و هسـپریدین(۵۳۵/۲۳ میلـی‌گـرم در لیتـر) مربوط به اثرات متقابـل سـمت جنـوب و میـوه بـود. ازطرفی کمترین میزان نارنجین مربوط به اثرات متقابل جهت جغرافیایی غرب، جنوب، شمال و شرق با برگ بود. حداقل مقدار هسـپریدین هـم مربـوط بـه اثـرات متقابل جهت جغرافیایی شرق با برگ بود.

جدول ۵: مقایسه میانگین‌های میزان قندهای محلول کل، نارنجین و هسپیریدین تحت تأثیر تیمارهای متقابل جهت جغرافیـایی و اندام

تیمار	قندهای محلول کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	نارنجین (میلی‌گرم در لیتر)	هسپریدین (میلی‌گرم در لیتر)
شمال-میوه	۱۹/۱۳b	۲۰۷۳/٤۷b	۳٦/۰۹e
جنوب-میوه	۱۸/٦۳b	۳۳٦۹/۷a	٥۳٥/۲۳a
شرق-میوه	۲۳/٥۲a	۱۸۸/۸٥b	۹۷/۳۹d
غرب-میوه	۱۸/۹٦b	۱۹۳۳/٦٦b	۱۷۸/۲۳b
شمال-برگ	۹/۱٤d	۸۷/۲۳c	۲٥/۱۱e
جنوب-برگ	۱۱/۰۳c	۹۰/٤٥c	٤٦/۳۲e
شرق-برگ	۸/۷۹e	۱۰۹/٥۳c	۱۸/٥۲f
غرب-برگ	۸/۸۳e	۱٤۳/۹٦c	۱۲۱/۰۹c

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف یکسان هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند

نتایج اثرات متقابل مقایسه میانگین‌هـا (جـدول ٦) نشان داد کـه بیشـترین میـزان فلاونوئیـد کـل (۹/۵۸۹ میلی‌گرم بر گـرم وزن خشـک) و همچنـین بـالاترین میزان فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانت کـل (٥٦/٤۸۷ درصـد رادیکـــال آزاد) مربـــوط بـــه اثـــرات متقابـــل جهـــت جغرافیایی شـرق بـا میـوه بـود. نتـایج اثـرات متقابـل مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن بود که حداکثر میزان فنـل کل(۱۸/٦۱۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) مربوط بـه اثرات متقابل جهت جغرافیایی غرب و میوه بود.

جدول ٦: مقایسه میانگین‌های میزان فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدان کل تحت تاثیر تیمارهای متقابـل سـطوح جهـت جغرافیایی و اندام

تیمار	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک	فلاونوییدکل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)	فعالیت آنتی اکسیدانت کل (درصد رادیکال آزاد)
شمال-میوه	۱۲/۰۲۳c	۳/۱۱٤e	٥۲/۹۸۱b
جنوب-میوه	۱۱/٦۱٥c	۸/٦۷٦b	٥٤/۲٥۹a
شرق-میوه	۱٦/۰۲٤b	۹/٥۸۹a	٥٦/٤۸۷a
غرب-میوه	۱۸/٦۱۱a	۷/۷۹۳c	۱۸/۷۲۱g
شمال-برگ	٤/۰٤۳e	۲/۰۱۲f	٤۲/۰۳۳c
جنوب-برگ	۳/۷۰۲f	٤/۲۹۷d	۳٥/۰۱۱d
شرق-برگ	٤/۳۱۸c	۰/۸۲۹g	۲۷/۰۲۳e
غرب-برگ	۱۰/۱۱۰c	۰/۹۱۲g	۲۲/۰۸۳f

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف یکسان هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمارهای اعمال شده بر اکثر صفات اندازه‌گیری شده اثر معنی‌دار داشتند. در واقع جهت‌های جغرافیایی و میزان دریافت نور و عواملی همچون اقلیم، رقم و ... تاثیر بسزایی در کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان دارند. مشابه نتایج این پژوهش گزارش‌ها نشان داد که جهت جغرافیایی باعث تاثیر بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Jin et al., 2010).

در تایید نتایج این مطالعه، بررسی‌های Emamiyan tabarestani و همکاران (2019) بر روی گیاه استویا حاکی از آن بود که با کاهش میزان نور دریافتی توسط گیاه از میزان سنتز قندهای محلول کاسته می‌شود. از آنجا که اقلیم و بخصوص نور خورشید تاثیر مستقیم بر افزایش سطح برگ و فتوسنتز دارد و از طرفی فتوسنتز تاثیر مستقیم بر تولید ترکیبات مختلف از جمله قندهای محلول دارد، می‌توان نتیجه گرفت که هرچه دریافت نور بیشتر باشد، سنتز قندهای محلول افزایش می‌یابد. در بررسی تاثیر مکان کشت بر میزان فلاونوئیدهای مرکبات Hemmati و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که فلاونوییدهای هسپریدین و نارنجین پوست مرکبات بصورت معنی‌داری تحت تاثیر مکان کشت قرار داشت، به طوری‌که میزان هسپریدین مرکبات شمال کشور بصورت معنی‌داری از مرکبات جنوب بیشتر بود. نتایج مشابه ای نیز توسط Srivastava و Shym (۲۰۰۲) در مرکبات گزارش گردید. این موضوع بیانگر تاثیر اقلیم و عوامل محیطی از جمله نور، دما، رطوبت، نوع خاک، ارتفاع و... در سنتز ترکیبات فنلی و فلاونوییدی است.

مطابق نتایج این پژوهش، Rainey Sarajaz و همکاران (۲۰۱٤) اعلام کردند که میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی پرتقال سانگین در سه مرحله پیش از رسیدن، رسیدن و پس از در جهت جنوب تاج درخت بیشتر از سایر جهات جغرافیایی بود. بخش جنوبی تاج درختان در شرایط مساعد بیشترین میزان نور را دریافت می‌نماید و این امر می‌تواند یکی از دلایل افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این بخش از تاج درختان باشد.

از آنجا که ترکیبات آنتی‌اکسیدانت به عنوان عوامل دفاعی گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش نوری، سرما و ... عمل می‌کنند، طبیعی است که در بخش‌هایی از تاج درخت که میزان شدت نور بالاتر است میزان فعالیت آنتی اکسیدانت بیشتر باشد تا از ایجاد ترکیبات مضر مانند ROSها جلوگیری گردد (Xiao and yang, 2008).

اقلیمی که یک گیاه در آن رشد می‌کند، تاثیر مستقیم و بارزی بر میزان متابولیتهای ثانویه در بخش-های مختلف آن گیاه خواهد داشت. تحقیقات Sepehrifaو همکاران (۲۰۰۹) بر روی گیاه قره‌قاط که در چهار منطقه جغرافیایی (حور، اسالم، ماسوله و کلاردشت) انجام پذیرفت بیانگر آن بود که میزان ترکیبات فنل کل، فلاونویید و آنتی‌اکسیدانت در برگ بیشتر از میوه بود.

شناخت و کسب آگاهی از این نکته که در چه مرحله‌ای از برداشت، میزان مواد ثانویه در بالاترین مقدار خود قرار دارد و همچنین اطلاع از سایر خصوصیات و ویژگی‌های فیزیولوژیک و اکولوژیک گیاه موجب کسب بیشترین بازده در استخراج متابولیت‌های ثانویه از گیاهان خواهد می‌گردد. در تحقیقاتی که Fattahi moghaddam و همکاران (۲۰۱۰) بر روی میوه شش رقم از مرکبات (تامسون، سیاورز، مورو، سانگینلا، تاراکو و پیج) انجام دادند مشخص شد که میزان هسپریدین و نارنجین در پرتقال

تامسون در مرحله ی بلوغ بیشتر از مرحله‌ی رسیدن بود.

از جانبی رویشگاه می‌تواند به عنوان عامل تاثیرگذار در تجمع مواد ثانویه مختلف مانند قندهای محلول در گیاهان نقش داشته باشد. بر همین اساس جغرافیای رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرایند تشکیل مواد موثره اثر بگذارد (Goli et al., 2010).

Mphahlele و همکاران (۲۰۱٤) در نتایج تحقیقاتشان با موضوع تاثیر اقلیم و ارتفاع بر میزان برخی متابولیت‌های ثانویه از جمله، کاتچین ، اپی کاتچین، نارنجین، ترکیبات فنلی کل و ... نشان دادند که اقلیم و ارتفاع بر فاکتورهای مذکور اثر معنی داری داشت که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. مسلماً در تحقیق حاضر تاثیر جهات جغرافیایی مختلف بر میزان مواد مؤثره، به علت اثرات مقادیر مختلف دما، نور، رطوبت و سایر شرایط غیرزیستی در این جهات می‌باشد.

نوع رقم کشت شده، ارتفاع از سطح آب‌های آزاد، اقلیم و عواملی از این دست تاثیر چشمگیری در تجمع متابولیت‌های ثانویه دارد به‌طوریکه در عدم تایید نتایج این پژوهش، بررسی‌های Hemmati و همکاران (۲۰۱٤) در لیمو ترش نشان داد که بیشترین میزان نارنجین در جهت شمالی تولید گردید که می‌توان این تفاوت را به نوع رقم گیاه یا سایر عوامل اقلیمی تعمیم داد. یافته‌های بدست آمده از تحقیقات Unuk و همکاران (۲۰۱۲) بروی چند رقم سیب(Gala, Fuji, Braeburn) بیانگر آن بود که سیب‌هایی که قرمزتر(Gala) هستند برای سنتز بیشتر رنگیزه‌های مربوط به رنگ قرمز باید در معرض نور بیشتری قرار بگیرند، لذا سیب‌هایی که در بخش بیرونی تاج درخت و در جهت‌هایی که نور بیشتری وجود داشت، قرار داشتند رنگ پذیری بهتر و بیشتری پیدا نمودند.

موید نتایج این تحقیق، نتایج مطالعاتی است که اخیرا توسط صفاری و اخوان (۲۰۱۸) با هدف تاثیر جهت جغرافیایی بر روی برخی صفات فیزیکوشیمیایی پسته رقم کله قوچی انجام پذیرفت و مشخص گردید که در پسته‌هایی که در بخش بیرونی تاج قرار دارند میزان آنتوسیانین و ترکیبات فنلی بدلیل دریافت نور بیشتر به میزان ۹۱ درصد بیشتر از بخش داخلی تاج درخت می‌باشد.

مطالعات Fengjuan و همکاران (۲۰۱٤) در بخش‌های مختلف تاج درخت سیب بر روی میزان ترکیبات فنلی بیانگر آن بود که بخش‌هایی از تاج که نور بیشتری دریافت می‌کنند (بخش بیرونی تاج) میزان ترکیبات فنلی (اسید کلروژنیک به‌عنوان یک اسید فنلیک، کوئرستین و ایزوکوئرستین) بیشتری دارند که این نتایج تاییدی بر یافته‌های این پژوهش می‌باشد. تجمع و پراکنش مواد ثانویه در یک گیاه به صورت یکسان انجام نمی‌گیرد (Goli et al., 2010). بر اساس نتایج بررسی‌های Hemmati و همکاران (۲۰۱۵) با هدف تاثیر جهت تاج درخت بر روی برخی مواد ثانویه پرتقال تامسون در شهرستان کلاله (استان گلستان) نشان داده شد که بالاترین میزان فنل کل در جهت شرق درخت و بیشترین مقدار فلاونویید کل در جهت جنوبی درخت مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانت هم در جهت شمالی تاج درخت رویت شد. تمامی این نتایج تایید کننده این موضوع است که اقلیم و شرایط محیطی منطقه (نور، دما، رطوبت و...) تاثیر بسزایی بر مواد موثره موجود در گیاهان دارد.

مقدار سنتز و ذخیره متابولیت‌های ثانویه در بخش‌های مختلف گیاه نیز میتواند بسیار متفاوت باشد

(Jin et al., 2010). بیشتر بودن میزان متابولیت‌های ثانویه و قند محلول کل در میوه پرتقال تامسون نسبت به برگ‌های آن می‌تواند بدلیل نوع گیاه و ژنتیک آن، اقلیم و شرایط منطقه رشد گیاه، نوع و میزان تغذیه و عواملی از این دست باشند که همگی می‌توانند تعیین کننده مکان سنتز و ذخیره متابولیت‌های ثانویه باشند.

در گیاه (*Varthemia persica* var. persica) بیشترین میزان کوئرستین و لوتئولین در گل به مراتب از میوه و دیگر اندام‌های هوایی بوده است (Omidbaigi, 2005). در گیاه سرخ ولیک (*Crataegus monogyna* L.) و نمدار (Tilia begonifolialinden) نیز میزان فلاونوئید در گل‌ها نسبت به برگ‌ها و میوه بیشتر بوده است (Hemmati et al., 2007 and Hemmati et al., 2005).

با توجه به نتایجی که در این پژوهش و سایر پژوهش‌ها مشاهده شد می‌توان به این نتیجه رسید که فاکتورهای متفاوتی در بیوسنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان نقش دارند. از عمده این فاکتورها می‌توان به نور، دما، تغذیه، رطوبت، گونه، رقم، ارتفاع از سطح دریا و... اشاره کرد. بنابراین شناسایی و فراهم آوردن شرایطی که بتواند به لحاظ کمی و کیفی سبب ایجاد بالاترین و بهترین میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان گردد باید مورد توجه کارشناسان امر تولید قرار گیرد تا بالاترین سود حاصل گردد.

نتیجه گیری نهایی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمارهای مورد بررسی بر اکثر صفات اندازه‌گیری شده اثر معنی‌دار داشتند و جهت جغرافیایی تاج درخت تاثیر بسزایی در میزان متابولیت‌های ثانویه و میزان قند محلول کل داشت، به‌طوری‌که بخش‌هایی از تاج درخت که بیشتر در معرض نور خورشید قرار داشتند متابولیت‌های بیشتری سنتز کردند. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش مشخص شد عوامل محیطی از جمله نور، دما، رطوبت، عناصر غذایی و ... و البته ژنتیک گیاه (نوع رقم) تاثیر چشمگیری بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارد. در این پژوهش مشخص گردید که جهت جغرافیایی جنوب و مشرق بیشترین تاثیر را بر صفات بیوشیمیایی و اندام میوه داشتند.

References

Chang, C.C., Yang M.H. and Wen H.M. and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of Food Aand Frug Analysis. 10(3): 178-182.

Martin, Ja¨ Kel. and Elke, A. (2010). The citrus flavonoids hesperidin and naringin do not affect serum cholesterol in moderately hypercholesterolemic men and women1–3. The Journal of Nutrition. 140: 1615-1620.

Dimitri, R., Xia, R. and Hu, L. (2010). Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. Scientia Horticulturae, 113: 166-172.

Emamiyan tabarestani, M., Farahmand, E., Pirdashti, H. and yaghoobian, Y. (2019). The effect of light intensity in response to cold stress on vegetative and physiological traits (*Stevia rebaudiana Bertoni*) Stevia medicinal plant. Journal of Plant Production Research. 26(3): 1-20.

Esna-ashari, M. and Zokaee khosroshahi, M. (2008). Polyamines and Horticultural Sciences, pp. 188, FL: Bu Ali Sina University Press.

Fatahi Moghaddam, G. and Fotouhi Ghazvini, R. (2010). Citrus cultivation in Iran. FL:Guilan University Press. pp.152-163. Third edition.

Fengjuan, F., Mingjun, L., Fengwang, M. and Lailiang, Ch. (2014). Effects of

location within the tree canopy on carbohydrates, organic acids, amino acids and phenolic compounds in the fruit peel and flesh from three apple (*Malus domestica*) cultivars. Npg. Nanjing Agricultural University. 165:123-131

Goli, Z., Lakzai, M. and Puramir, M. (2010). Antioxidant Activity of Orange Peel Extract and Its Effect on the Oxidation of Raw and Cooked Fish Hypophthalmichthys molitrix. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 5(2):19-26.

Hemmati, Kh., Ghasman Nejad, A., Mashayekhi, K. and Bashiri Sadr, Z. (2012). Study of the effect of habitat on the amount of some flavonoid compounds (*Tilia platifolia* L.). Journal of Crop Production Research. 19(2): 141-148.

Hemmati, Kh., Shabani, A., Bashiri Sadr, Z. and Akbarpour, V. (2014). Influence of geographical direction of tree crown on orange and hesperidin flavonoids on immature fruits of four citrus species. Journal of Ecophytochemistry of Medicinal Plants. 2(2): 10-19.

Hemmati, Kh., Omidbiagi, R., Bashirisadre, Z. and Ebrahemi, Y. (2003). Effect of climate and harvesting time in quantities and qualities flavonoids certain in Citrus cultivars. Ph.D. Thesis. Modarres University Publisher.

Hemmati, Kh. and Omidbaigi, R. (2005). Determination of Naringin in different developmental stages Marsh grapefruit (*Citrus paradisii* Macf). Journal Of Agricultural Sciences and Natural Resources. 10(2): 65-72.

Hemmati, Kh. and Paghous, M. (2015). Geographical Direction effect of tree crown on some secondary metabolites of sour orange leaf in golestan province (Kalaleh city). 4th Nnational Congress of Medicinal Plants. Tehran. 1476-1490

Jalili Marandi, R. (2001). Planting Fruit. pp. 191-196. FL: Urmia University Jihad Publications. ISBN: 9789646032231

Jin, P., Zheng, H.Y., Cheng, M.C., Gao, Y.H., Chen, X.W. and Chen, J.H. (2010). Effect of Methyl jasmonate treatment on fruit decay and quality in peaches during storage at ambient temperature. International Society for Horticultural Science Acta Horticultur. 712: 711-716.

Ladania, M.S. (2008). Citrus Fruit: biology. Technology and Evaluation. Elsevier Inc., Atlanta, USA. 1-10.

Marten, S. (2007). Determination of naringin and hesperidin in fruit juices, HPLC. SMB. Osmometory. 1-4.

Martinez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valverde, J. M., Guillen, F. and Valero, D. (2005). The use of natural aromatic essential oils helps to maintain postharvest quality of Crimson table grapes. Acta Horticultuare. 682: 1723-1727.

McCready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H.S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. Analytical Chemistry. 22: 1156–1158.

McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M. and Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry. 73(1): 73-84.

Mphahlele, R., Stander, A., Fawole, A. and Opara, U. (2014). Effect of fruit maturity and growing location on the postharvest contents of flavonoids, phenolic acids, vitamin C and antioxidant activity of pomegranate juice (cv. Wonderful). Scientia Horticulturae. 179: 36-45.

Omidbaigi, R. (2005). Production and Processing of Medicinal Plants. FL: Astan Quds Razavi Publications. ISBN: 978-964-02-0359-9.

Omidbaigi, R. and Hemmati, Kh. (2005). Determination of Naringin in different developmental stages Marsh grapefruit (*Citrus paradisii* Macf). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 10(2): 65-72.

Rainey Sarajaz, M. and Sheikh Soghanloo, S. (2014). Investigation of the effect of geographical location and position of fruit on canopy on qualitative characteristics of sangy orange fruit.. Journal of Agricultural Meteorology. 2(1):57-63.

Saffari, B. and Akhavan, H.R. (2018). Effects of Location in the Tree Canopy on Some Quality Characteristics of Fresh

Pistachio Fruit. Journal of Nuts. 9(2): 135-145.

Sepehrifar, R. and Hassanloo, T. (2009). Evaluation of polyphenolic compounds, total anthocyanins and flavonoids and antioxidant properties of Cranberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) collected from four different regions of Iran. Journal of Medicinal Plants. 3(2): 199-205.

Singh, S. and Singh, R.P. (2008). In vitro methods of Aassay of antioxidants: an overview. Food Reviews International. 24(4): 392-415.

Srivastava, A.W. and Shym, S. (2002). Citrus: Climate and soil. FL: International Book Distributing Company. 559 pages. ISBN: 818586080797881858608000.

Unuk, T., Tijskens, L., Germsek, B., Zadravek, P., Vogrin, A., Heribar, J., Simcic, M., Tojnko, S. (2012). Effect of location in the canopy on the colour development of three apple cultivars during growth. Journal of the Science of Food and Agriculture. 92(12): 2450-2458.

Xiao, X., Xu, X. and Yang, F. (2008). Adaptive responses to progressive drought stress in two Populus cothayana populations. Silva Fennica, 42: 705-719.

Zandalinas, S., Sales, C., Beltran, J., Cadenas, A. and Arbona, V. (2010). Activation of Secondary Metabolism in Citrus Plants Is Associated to Sensitivity to Combined Drought and High Temperatures. Journal of Frontiers in Plant Sci. 6(1): 73-78.