

تغییر پذیری ترکیب‌های فلاونوئیدی در بافت برگ و میوه در برخی از ژنوتیپ‌های درخت به (*Cydonia oblonga* Mill.) متعلق به مناطق شمال ایران

زیبا امیراحمدی^۱، حمید عبداللہی^{۲*} و مهدی عیاری^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، صندوق پستی ۳۱۴۹۹-۶۸۱۱۱، ایران
 ۲. دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
 ۳. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، صندوق پستی ۳۳۶-۱۴۱۱۵، ایران
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۳۱)

چکیده

درخت به از درختان میوه‌ای است که خواص دارویی چندی، از جمله محتوای بالای مواد پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانی) مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها برای آن بیان شده است. بنابراین، با توجه به طیف گسترده اهمیت فلاونوئیدها از نظر فیزیولوژیکی و دارویی، این پژوهش با هدف بررسی محتوای و روند تغییر فلاونوئید کل در بافت برگ و میوه ژنوتیپ‌های به نیمه شمالی کشور و مقایسه آن با رقم تجاری به اصفهان انجام شد. به این منظور، ۲۴ ژنوتیپ گردآوری شده از این مناطق، شامل ژنوتیپ‌های اردبیل ۱ تا اردبیل ۷، به آمرودی، به سببی و به گیوی کوثر از استان اردبیل، ژنوتیپ‌های AS1، ASM1، ASM2، ASM3، ASP1 و ASP2 از استان گیلان، ژنوتیپ‌های LA1 و LA3 از استان تهران و ژنوتیپ‌های M1، M2، M3، M8 و M9 از استان خراسان ارزیابی شدند. نتایج بیانگر وجود اختلاف معنادار در میزان فلاونوئید کل در برگ و میوه ژنوتیپ‌های مختلف بود، به صورتی که ژنوتیپ M3 و LA1 به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید کل را در برگ‌های خود با ۲۱/۹ و ۳/۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم در مقایسه با رقم شاهد اصفهان با میزان ۱۳/۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم داشتند. همچنین نتایج ارزیابی میوه‌ها نشانگر بالاترین میزان فلاونوئید کل به میزان ۶/۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم در رقم شاهد بوده و دیگر رقم‌ها در رده پایین‌تری قرار گرفتند. بررسی تأثیر زمان برداشت برگ بر میزان تغییر فلاونوئید کل نشان داد، بالاترین میزان این متابولیت مربوط به آغاز تابستان بوده و در دیگر برداشت‌ها میزان فلاونوئید کمتری در برگ‌ها وجود داشت.

واژه‌های کلیدی: به اصفهان، پاداکسنده، ترکیب‌های فنلی، کوئرستین، *Cydonia oblonga* Mill.

Variations in flavonoid compounds of the leaves and fruits of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from northern regions of Iran

Ziba Amirahmadi¹, Hamid Abdollahi^{2*} and Mahdi Ayyari³

1. M.Sc. Student, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Azad University of Karaj, Karaj, P.O.Box. 31499-68111, Iran
2. Associate Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3. Assistant Professor, Medicinal Plants Department of Horticultural Science, Tarbiat Modares University, P.O.Box: 14115-336, Tehran, Iran

(Received: Nov. 7, 2015 - Accepted: Apr. 19, 2016)

ABSTRACT

Quinces use as bearing fruit tree and also have numerous medicinal effects, such as high contents of antioxidants including phenols and flavonoids. Due to importance of flavonoids in the physiological and medicinal aspects of this tree, the current research was conducted to investigate the variations of flavonoids in the leaves and fruits of quince genotypes from northern regions of Iran, comparing them with cultivar Esfahan as control. So, it was followed by using 24 genotypes including ARD1-7, Beh Amroudi, Beh Sibi, Beh Givi Kowsar from Ardebil province, LA1 and LA3 from Tehran provinces, M1, M2, M3, M4, M8 and M9 from Khorasan and AS1, ASM1, ASM2, ASM3, ASP1 and ASP2 from Gilan province. The results showed significant differences in the total flavonoids in the leaves and fruits of the quinces. According to the results, M3 and LA1 genotypes respectively had the highest and lowest total levels of the flavonoids in their leaves with 21.9 and 3.1 mg QE/g values, compared with the control cultivar containing 13.4 mg QE/g. Also the results of the flavonoid contents of the fruits indicated the highest level in control cultivar, Esfahan with 6.2 mg QE/g, while all other genotypes had significantly lower levels of flavonoids. Also evaluation the effects of sampling period on the variation of total contents of the leaf flavonoids showed that the highest concentration of these compounds belonged to the beginning of the summer, while the leaves had lower levels of flavonoids at other sampling periods.

Keywords: Antioxidants, *Cydonia oblonga* Mill., phenolic compounds, quercetin, quince Esfahan.

* Corresponding author E-mail: h.abdollahi@areeo.ac.ir

مقدمه

درخت به از خانوادهٔ وردسانان یا گل‌سرخیان (Rosacea)، به‌عنوان یک درخت میوه و همچنین یک گیاه دارویی در خاورمیانه، اروپای مرکزی و آسیای صغیر برای سده‌ها کشت و کار شده است (Westwood, 1982). این درخت بومی ایران و ترکمنستان بوده و ژنوتیپ‌های وحشی و انواع بذری آن در جنگل‌های شمال ایران از آستارا تا کتول در استان گرگان انتشار دارد (Sabeti, 1982). درخت به در میان گونه‌های درختان میوهٔ دانه‌دار، از نظر اهمیت تولید، رتبهٔ سوم و از نظر فراوانی پس از سیب، گلابی و گلابی آسیایی رتبهٔ چهارم را به خود اختصاص داده است (FAO, 2013). به‌طورکلی درخت به و گونه‌های نزدیک به آن افزون بر کاربرد غذایی، خواص دارویی چندی نیز دارند، که از آن جمله می‌توان به ترکیب‌های فنلی، پلی‌فنل‌ها مانند فلاونوئیدها (Wojdylo *et al.*, 2013) و ظرفیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) بالای برگ و میوه (Khoubnasabjafari & Jouyban, 2011) در این‌گونه اشاره کرد. تحقیقات اخیر نشان داده است، تنوع شایان‌توجهی از نظر نوع و میزان ترکیب‌های فنلی در بافت‌های برگ و میوهٔ درخت به وجود دارد (Dawidowicz *et al.*, 2006). ترکیب‌های فنلی یک گروه از متابولیت‌های ثانویهٔ عطری و خوشبویی (آروماتیک) گیاهی هستند، که به‌طور گسترده تا حدودی در همهٔ بافت‌های گیاه قابل‌مشاهده بوده و تأثیر زیستی (بیولوژیکی) چندی چون فعالیت پاداکسندگی و فعالیت ضد باکتریایی دارند (Dawidowicz *et al.*, 2006). ترکیب‌های فنلی یا پلی‌فنل‌ها گروه بزرگ و از نظر شیمیایی ترکیب‌های متنوعی هستند که از اسیدهای فنلی ساده تا پلیمرهای بسیار بزرگ و پیچیده را شامل می‌شوند. فلاونوئیدها نیز از این جمله ترکیب‌های فنلی گیاهی به شمار می‌آیند و شامل فلاون‌ها، فلاونول‌ها، ایزوفلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها هستند. این دسته از ترکیب‌ها، خواص پادویروسی و پادمیکروبی بالایی دارند (Reyes-Carmona *et al.*, 2005). به‌طورکلی، بخش مهمی از توان پادمیکروبی و پادویروسی گیاه و همچنین تحمل آن به تنش‌های محیطی به توانایی پاداکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی آن مرتبط است که در بین ترکیب‌های غیرآنزیمی، متابولیت‌های ثانویه ازجمله

فنل‌ها و مشتقات آن‌ها نقش بسیار مهمی را در به دام اندازی رادیکال‌های فعال اکسیژن و سمیت‌زدایی این رادیکال‌ها بر عهده دارند (Yen & Duh, 1995).

در تحقیقی که روی تأثیر پاداکسندگی بخش‌های مختلف میوهٔ به بر پایهٔ دو شاخص مبنا در ترکیب‌های فنلی شامل اسید آسکوربیک و اسید ۵-آکافئویل کوئینیک انجام شده، ارزش IC50 به‌عنوان شاخص پاداکسندگی در دانه، پوست و گوشت میوه به ترتیب ۱۲/۲، ۰/۸، ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در عصارهٔ استخراجی گزارش شده است (Magalhaes *et al.*, 2009). در این بین، فعالیت پاداکسندگی دانهٔ به از دیگر بخش‌های میوه بالاتر بوده که توجه‌کنندهٔ اهمیت کاربرد به‌دانه به‌عنوان اصلی‌ترین بخش دارویی درخت به است. همچنین مشخص شده است که فعالیت پاداکسندگی مجموع عصارهٔ استخراجی در بافت‌های به، از میزان فعالیت پاداکسندگی موجودی اسید آسکوربیک و اسید ۵-آکافئویل کوئینیک آن به‌طور شایان‌توجهی بالاتر است که این موضوع به دلیل تأثیر تکمیلی و یا افزایش‌دهندهٔ دیگر ترکیب‌های فیتوشیمیایی موجود در به است. همچنین مقایسهٔ محتوای ترکیب‌های فنلی میوهٔ به در مقایسه با میوهٔ سیب بیانگر بالا بودن میزان این ترکیب‌ها در میوهٔ به در مقایسه با میوهٔ سیب است (Hamauzu *et al.*, 2005).

فلاونوئیدها که خانوادهٔ بزرگی از مجموعهٔ ترکیب‌های فنلی گیاهی را در بر می‌گیرند، در همهٔ بافت‌ها و اندام‌های گیاهی وجود دارند. اهمیت فلاونوئیدها و نقش آن‌ها در برقراری همزیستی قارچ‌ریشه‌ای (میکوریزی) و پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است و افزایش ساخت (سنتز) این گروه از فنل‌ها، تحت انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند زخم، حملهٔ عامل‌های بیماری‌زا، سمیت ناشی از تجمع فلزهای سنگین و کمبود مواد غذایی در گیاهان گزارش شده است (Hernandez *et al.*, 2009). امروزه با توجه به مقاومت روزافزونی که باکتری‌ها نسبت به پادزیست (آنتی‌بیوتیک‌ها) از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیب‌های پادمیکروبی موجود در گیاهان به‌عنوان ترکیب‌هایی طبیعی که تأثیر بازدارندگی بر عامل‌های بیماری‌زا دارند، بیشتر توجه

جلوگیری از تغییر میزان فلاونوئید بی‌درنگ برای اندازه‌گیری این ترکیب عصاره‌گیری شدند. استخراج عصاره مورد نیاز از رقم‌ها و ژنوتیپ‌های درخت به بر پایه روش ارائه‌شده توسط بخشی و آراکوا (Bakhshi & Arakawa, 2006) با اندکی تغییر صورت گرفت. به این منظور میزان ۰/۵ گرم از برگ تازه با استفاده از نیتروژن مایع پودر و آنگاه ۵ میلی‌لیتر حلال استخراج دربردارنده اتانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. به‌منظور انجام عمل استخراج، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری و سپس با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت بیست دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از این مرحله، بخش روشناور از کاغذ صافی واتمن عبور داده شده و عصاره‌های تهیه‌شده تا زمان استفاده در فریزر -۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تعیین میزان فلاونوئید کل

اندازه‌گیری فلاونوئید کل بنابر روش (Du *et al.*, 2009) صورت گرفت. در آغاز به ۱۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج‌شده به ترتیب ۱۷۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰ درصد، ۷۵ میکرولیتر نیتريت سدیم ۰/۵ مولار و ۷۵ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۰/۳ مولار اضافه کرده و به‌طور کامل مخلوط شدند. پس از پنج دقیقه ۵۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار در لیتر اضافه شد و به‌شدت تکان (ورتکس) داده شد. پس از ۱۰ تا ۱۵ دقیقه، میزان جذب توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر، Shimadzu uv/vis-1700) در طول موج ۵۰۶ نانومتر خوانده شد. جذب به‌دست‌آمده را در منحنی واسنجی (کالیبراسیون) کوئرتستین بهینه‌شده بر پایه غلظت‌های مختلف این ماده شامل ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده تا میزان فلاونوئید بر پایه شاخص استاندارد غلظت معادل میلی‌گرم بر لیتر کوئرتستین به گرم بافت تازه برگ به دست آید.

این بررسی در قالب طرح کامل تصادفی به‌صورت کرت‌های خردشده در زمان، با چهار برداشت در سه تکرار برای برگ و طرح کامل تصادفی در یک برداشت و سه تکرار برای میوه انجام شد. تجزیه واریانس نتایج به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین‌ها با

شده است (Izadi *et al.*, 2011). با توجه به خواص دارویی و تنوع ژنتیکی گسترده رقم‌های بومی و ژنوتیپ‌های وحشی درخت به در کشور، نیاز به بررسی دقیق و مقایسه آن‌ها از نظر میزان ترکیب‌های فنلی و مشتقات آن احساس می‌شود. به همین دلیل، در این پژوهش روند تغییر فلاونوئید کل به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین زیرگروه‌های ترکیب‌های فنلی در بافت برگ و میوه ژنوتیپ‌های به مناطق شمالی ایران در مقایسه با مهم‌ترین رقم بومی به ایران که شامل میوه به رقم اصفهان است بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج عصاره

این پژوهش روی ۲۴ ژنوتیپ و رقم به متعلق به مناطق مختلف نیمه شمالی ایران، شامل ژنوتیپ‌های اردبیل ۱ تا اردبیل ۷، به آمرودی، به سیبی و به گیوی کوثر از استان اردبیل، ژنوتیپ‌های AS1، ASM1، ASM2، ASM3، ASP1 و ASP2 از استان گیلان، ژنوتیپ‌های LA1 و LA3 از استان تهران و ژنوتیپ‌های M1 (به ترش)، M2 (مقاوم شماره ۲)، M3 (اصفهان اوقاف)، M8 (به دیزباد) و M9 از استان خراسان رضوی و رقم تجاری به اصفهان به‌عنوان شاهد واقع در کلکسیون به کمال‌آباد کرج متعلق به بخش تحقیقات باغبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد (Abdollahi *et al.*, 2013). نمونه‌برداری از برگ و میوه رقم‌ها و ژنوتیپ‌های به موردنظر، به صورتی انجام شد که نمونه‌های برگی در چهار برداشت از پنج درخت مختلف متعلق به هر رقم یا ژنوتیپ در سه تکرار و هر تکرار شامل ۲۵ نمونه برگی از برگ‌های وسط شاخه‌های در حال رشد که دارای سطح برگ تکامل‌یافته بودند، از انتهای بهار ۱۳۹۳ تا انتهای تابستان همان سال به ترتیب در تاریخ‌های دهه اول خردادماه، دهه اول تیرماه، دهه دوم مردادماه و دهه سوم شهریورماه برداشت شدند. همچنین نمونه‌های میوه از میوه‌های رسیده رقم‌ها و ژنوتیپ‌های موردنظر در دهه دوم مهرماه همان سال برداشت شدند. همه نمونه‌های برگی موردنظر، پس از شستشو با آب مقطر، در فریزر -۸۰ درجه سلسیوس و نمونه‌های میوه در سردخانه ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. نمونه‌های میوه به‌منظور

(شکل ۱). همچنین شکل ۱ نشان‌دهنده این است که میانگین فلاونوئید کل در بافت برگ ژنوتیپ‌های به استان گیلان به‌طور یکنواختی در سطح بسیار کم و در ژنوتیپ‌های استان اردبیل در سطح متوسطی قرار داشتند. میانگین میزان فلاونوئید در ژنوتیپ‌های استان خراسان رضوی از یک ژنوتیپ به ژنوتیپ دیگر متغیر و در سطوح بسیار کم در ژنوتیپ M4، تا بسیار زیاد در ژنوتیپ M3 مشاهده شد (شکل ۱). نتایج ارزیابی میزان فلاونوئید میوه بیانگر این بود که رقم تجاری اصفهان با ۶/۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم، بالاترین میزان فلاونوئید و به سببی اردبیل با ۰/۱۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم کمترین میزان فلاونوئید را دارند (شکل ۲). قابل بیان است که ژنوتیپ M1 از خراسان رضوی با ۰/۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم در نمونه‌های میوه پس از رقم تجاری اصفهان با تفاوت شایان توجهی در بالاترین سطح قرار داشت.

آزمون دانکن و رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل (Microsoft Excel, 2007) صورت گرفت.

نتایج و بحث

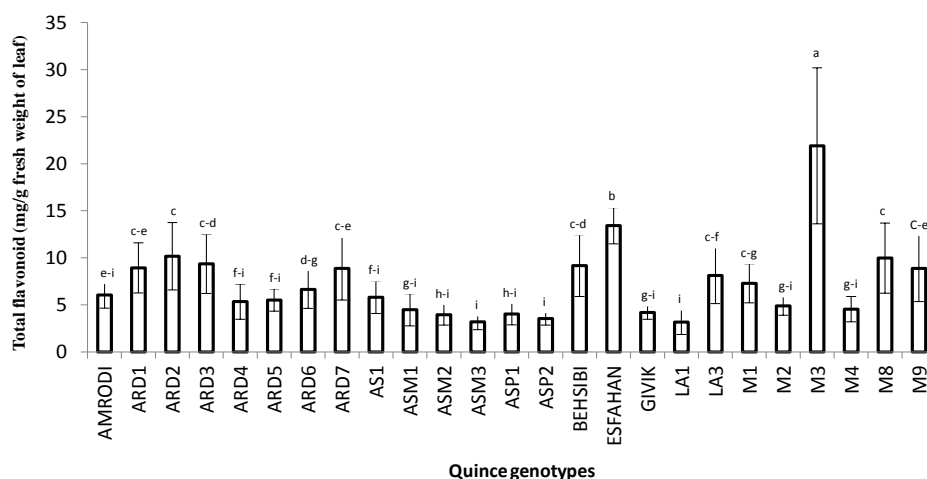
نتایج این بررسی گویای وجود اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ درصد در میزان فلاونوئید کل در برگ و میوه در بین رقم‌ها و ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود (جدول ۱). همچنین تجزیه واریانس انجام‌گرفته گویای تأثیر مثبت و معنادار تأثیر زمان برداشت برگ در میزان فلاونوئید کل در برگ ژنوتیپ‌های به بود. نتایج نشان داد، در بافت برگ، ژنوتیپ M3 با منشأ خراسان رضوی با میانگین ۲۱/۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم بیشترین میزان فلاونوئید و ژنوتیپ LA1 با منشأ استان تهران در کل برداشت‌ها با میانگین ۳/۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم، کمترین میزان فلاونوئید در مقایسه با رقم تجاری اصفهان با میانگین ۱۳/۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم داشتند.

جدول ۱. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میزان فلاونوئید کل در نمونه‌های برگ و میوه ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف به Table 1. Analysis of variance on total flavonoid contents in leaf and fruit samples of different quince cultivars and genotypes

Sources of variation	df (Leaf)	Flavonoids (Leaf)	df (Fruit)	Flavonoids (Fruit)
Genotype	24	197.038**	22	47.341**
Error A	50	10.3340	46	2.36700
Harvest	3	447.166**		
Harvest×Genotype	72	132.870**		
Error B	150	10.1730		4
Coefficient of Variation		43.93		68.71

**Significant at 1% probability level

** معنادار در سطح احتمال ۱٪

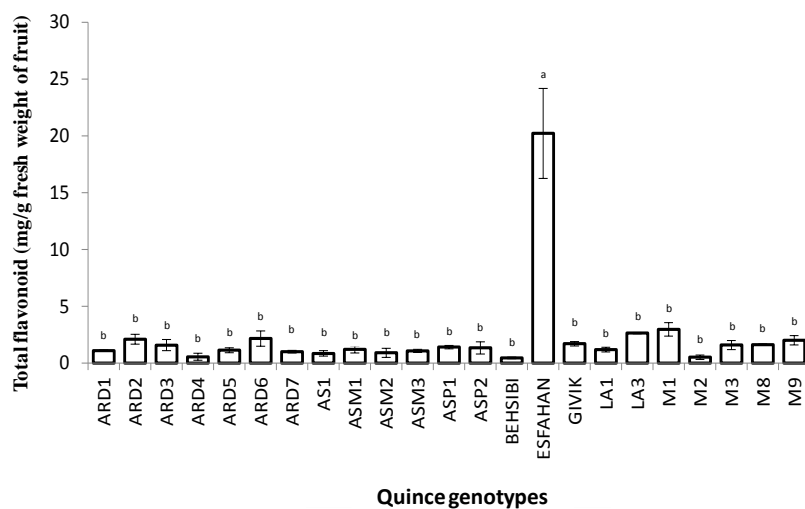


شکل ۱. مقایسه میانگین فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم بر گرم کوئرستین در وزن تر برگ و ژنوتیپ‌های به مناطق مختلف نیمه شمالی ایران. حروف مشابه روی ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در سطح $P < 0.01$ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. خطوط بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها \pm خطای استاندارد است.

Figure 1. Mean comparison of total flavonoid content based on mg/g quercetin in fresh weight of leaf in quince cultivars and genotypes from various regions of North Iran. Similar letters on the bars show non-significant differences in $P < 0.01$ based on the Duncan multiple range tests. The vertical line on the columns show means \pm standard errors.

ژنگان (ژنوم) این درخت است. از سویی، بررسی Khoramdel Azad *et al.* (2013) نشان‌دهنده این بوده که به‌رغم وجود ژنوتیپ‌های به متمایز چندی در مناطق مختلف کشور، این ژنوتیپ‌ها در جمعیت‌های متمایزی از یکدیگر بوده که به‌خوبی با استفاده از نشانگر (مارکر) توالی‌های ساده تکراری قابل جداسازی هستند. همچنین Alipour *et al.* (2014) در بین این جمعیت‌ها، ویژگی‌های متمایز ریخت‌شناختی (مورفولوژیک) و کیفی میوه را تشخیص دادند. بنابراین به نظر می‌رسد در هر منطقه از کشور، ژنوتیپ‌های درخت به موجود از تلاقی‌های درون جمعیتی تولیدشده که ویژگی‌های شاخص آن جمعیت را، مانند ویژگی‌های ریخت‌شناختی و محتوای ترکیب‌های بیوشیمیایی را حفظ کرده‌اند که در این بررسی وجود روند کم‌وبیش یکنواخت میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی در ژنوتیپ‌های مناطق مختلف تا حدی مؤید این مطلب است.

تحقیقات در رابطه با زیست‌ساخت (بیوسنتز) ترکیب‌های فلاونوئیدی در گیاهان به‌طورعمده از دو گیاه الگوی ذرت (*Zea mays*) و علف تال (آرابیدوپسیس، *Arabidopsis thaliana*) پیروی کرده که نشان‌دهنده استفاده از پیش‌ساز کوماریل‌ها توسط آنزیم چالکون‌سینتاز (Chalcone synthase-CHS) در این فرآیند است (Vermerris & Nicholson, 2006). همچنین Byrne *et al.* (1996) نشان دادند که میزان تولید فلاونوئیدها در گیاه ذرت به‌صورت یک صفت کمی بوده و ضمن دخیل بودن عنصرهای تنظیم‌کننده در میزان زیست‌ساخت این مواد، دو مکان ژنی *rem1* و *Bp1* را مسئول بیشترین سهم تأثیر ژنوتیپ در میزان زیست‌ساخت فلاونوئیدها در گیاه هستند. به‌نظر می‌رسد، به‌طور همسانی در درخت به نیز میزان زیست‌ساخت فلاونوئیدها تا حد زیادی تابع ژنوتیپ و عنصرهای کنترل‌کننده فعالیت آنزیم‌های دخیل در



شکل ۲. مقایسه میانگین فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم کوئرسستین در وزن تر میوه ژنوتیپ‌های به مناطق مختلف ایران. حروف مشابه روی ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در سطح $P < 0.01$ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. خطوط بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها \pm خطای استاندارد است.

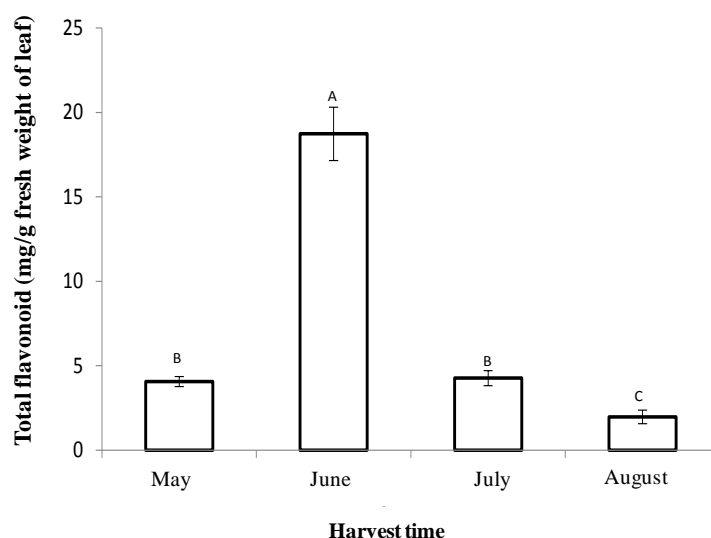
Figure 2. Mean comparison of total flavonoid content based on mg/g quercetin in fresh weight of fruit in quince cultivars and genotypes from various regions of North Iran. Similar letters on the bars show non-significant differences in $P < 0.01$ based on the Duncan multiple range tests. The vertical line on the columns show means \pm standard errors.

حدود ۴ میلی‌گرم کوئرسستین بر گرم وزن تر برگ بود که در برداشت دوم به بالاترین میزان خود افزایش یافته و به حدود ۱۸ میلی‌گرم کوئرسستین بر گرم وزن تر برگ رسیده و در پایان تابستان به کمترین میزان خود در مجموع ژنوتیپ‌ها کاهش یافت (شکل ۳). نکته دارای اهمیت در

تجزیه و آریانس داده‌های این بررسی همچنین بیانگر وجود ارتباط معناداری بین زمان برداشت و میزان فلاونوئید کل در برگ‌های رقم‌ها و ژنوتیپ‌های مورد نظر بود (جدول ۱). میانگین فلاونوئید کل در برگ همه ژنوتیپ‌های به مورد ارزیابی در برداشت اول و سوم در

بیشینه در آغاز تابستان، روند کاهشی را در پیش گرفتند. این روند کاهشی میزان فلاونوئیدها با نتایج Wu (1989) که گزارش کرد، ضمن تقسیم یاخته‌ای و بلوغ میوه و برگ، میزان زیست‌ساخت فلاونوئیدها کاهش تدریجی نشان می‌دهد همخوانی دارد. این احتمال وجود دارد که این کاهش تدریجی با تغییر فلاونوئیدها به دیگر انواع رنگیزه‌های گیاهی، که از ویژگی‌های شاخص پایان فصل تابستان به شمار می‌رود، در ارتباط باشد (Vermeris & Nicholson, 2006).

این روند تغییرپذیری‌ها، این است که اگرچه فلاونوئیدها از زیرمجموعه ترکیب‌های فنلی بافت‌ها به شمار می‌آیند، لیکن هر گروه از ترکیب‌های فنلی ممکن است روند مستقلی از یکدیگر داشته باشند، به صورتی که نتایج ارزیابی تغییرپذیری روند ترکیب‌های فنلی کل، در برگ‌های به رقم‌ها و ژنوتیپ‌های به گزینش‌شده منطقه مرکزی ایران توسط Ghozati (2015) گویای افزایش پیوسته ترکیب‌های فنلی تا پایان تابستان در برگ‌های درخت به بود، درحالی‌که فلاونوئیدها پس از افزایش



شکل ۳. مقایسه تغییرات فلاونوئید کل نمونه‌های برگ ارقام و ژنوتیپ‌های به مناطق مختلف ایران از خرداد تا شهریور ماه. حروف مشابه روی ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در سطح $P < 0.01$ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. خطوط بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها \pm خطای استاندارد است.

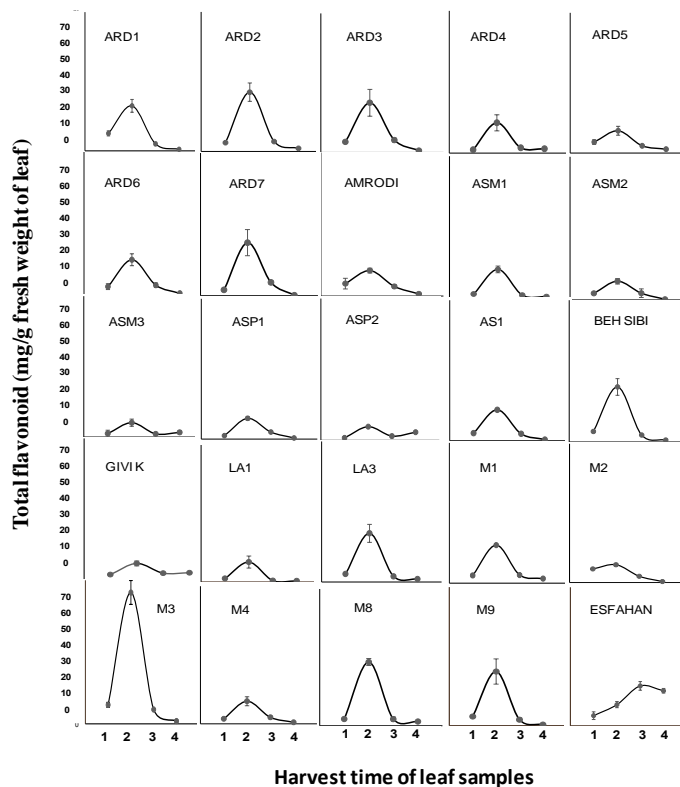
Figure 3. Comparison of the variations in total flavonoid content from May to July in the leaves of quince cultivars and genotypes of North Iran. Similar letters on the bars show non-significant differences in $P < 0.01$ based on the Duncan multiple range tests. The vertical line on the columns show means \pm standard errors

به‌طور پیوسته ادامه پیدا کرده و در مردادماه به بیشترین میزان خود رسید. میزان فلاونوئیدها در برگ این رقم تنها در شهریورماه کاهش نسبی در مقایسه با دیگر رقم‌ها و ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد (شکل ۴). نکته دارای اهمیت در این تغییرپذیری‌ها، مستثنا بودن به رقم اصفهان است که این رقم در ارزیابی میوه نیز به‌طورکلی در گروه مستقلی از دیگر رقم‌های به گروه‌بندی شد (شکل ۲). چنانچه پیشتر نیز اشاره شد، ارزیابی مولکولی رقم‌ها و ژنوتیپ‌های به مناطق مختلف کشور گویای استقلال این جمعیت‌ها بر پایه نشانگر توالی‌های ساده تکراری بوده است

بررسی روند تغییر میزان فلاونوئید کل در برگ‌های رقم‌ها و ژنوتیپ‌های مورد بررسی به‌صورت منفرد نشانگر این مطلب است که اغلب مواد گیاهی مورد بررسی روند یکنواخت و همسانی را به‌صورت وجود بیشینه میزان فلاونوئید در آغاز تابستان نشان دادند (شکل ۴). در این بین، تنها استثناهای مشاهده‌شده افزایش ناچیز ترکیب‌های فلاونوئیدی در شهریورماه در برخی ژنوتیپ‌های استان گیلان مانند ASM3 و ASP2 قابل بیان است. همچنین در به رقم اصفهان، برخلاف دیگر ژنوتیپ‌های مورد بررسی، روند افزایشی فلاونوئیدها در برگ پس از آغاز تابستان

همچنین این روند تغییرپذیری، افزایش چند برابری میزان فلاونوئیدها را در برگ ژنوتیپ M3 که از استان خراسان رضوی منشأ گرفته است نشان می‌دهد. با توجه به اینکه این ژنوتیپ با نام محلی اصفهان اوقاف گردآوری و کدگذاری شده بود، بیانگر احتمال ارتباط ژنتیکی این ژنوتیپ با رقم‌های و ژنوتیپ‌های اصفهان است.

(Khoramdel Azad *et al.*, 2013). لذا به نظر می‌رسد این روند تا حد زیادی تابع ژنتیک رقم و یا ژنوتیپ است، چنانچه در ارزیابی روند تغییرپذیری میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی در رقم‌ها و ژنوتیپ‌های به منطقه مرکزی اصفهان توسط Ghozati (2015) چنین روندی در اغلب مواد گیاهی مورد بررسی به صورت همسانی با به رقم اصفهان مشاهده و گزارش شد.



شکل ۴. مقایسه تغییرات فلاونوئید کل نمونه‌های برگ ارقام و ژنوتیپ‌های مناطق مختلف شمال ایران با توجه به زمان برداشت. خطوط بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها \pm خطای استاندارد است. در مواردی که خطای استاندارد رسم نشده است به دلیل نزدیکی زیاد نتایج، این خطا تقریباً برابر صفر بوده است. زمان‌های برداشت به ترتیب متعلق به دهه اول خرداد ماه، دهه اول تیر ماه، دهه دوم مرداد ماه و دهه سوم شهریور ماه می‌باشد.

Figure 4. Comparison of total flavonoid variations in leaf samples of quince cultivars and genotypes from various regions of North Iran according to the harvest time. The vertical bars show mean \pm standard errors. In cases where the standard errors are zero, the standard error bars have not been demonstrated. Harvest time periods are first decade of June, first decade of July, second decade of August and third decade of September, respectively.

آبدار، نرم و کیفیت متوسط تا پایین میوه، ژنوتیپ‌های استان خراسان با آبداری متوسط و کیفیت پایین، ژنوتیپ‌های استان اردبیل با کیفیت بالا، قابض بودن کم و بافت بسیار آبدار میوه و در نهایت ژنوتیپ‌های استان اصفهان با میزان بسیار بالای قابض بودن بافت و عطر و طعم زیاد و متمایز از دیگر رقم‌ها و ژنوتیپ‌های ایران

ارزیابی ویژگی‌های حسی (ارگانولپتیک) میوه رقم‌ها و ژنوتیپ‌های به مناطق مختلف کشور نشان داده است، ویژگی‌های میوه مانند میزان قابض بودن (Astringency)، سرعت قهوه‌ای شدن درونی بافت‌ها، آبداری و غیره در این ژنوتیپ‌ها تابعی از منشأ آن‌ها بوده به صورتی که ژنوتیپ‌های استان گیلان با بافت به نسبت

مردادماه و دهه سوم شهریورماه است (جدول ۲) احتمال این می‌رود که در برنامه‌های اصلاحی، میزان فلاونوئید برگ‌های بالغ متعلق به پایان فصل تابستان بتواند به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی وابسته با میزان قابض بودن میوه در نتاج استفاده شود که این امر نیاز به بررسی بیشتر دارد. از سویی این همبستگی نشان‌دهنده روند یکسان این تغییر در بافت‌های برگ و میوه به‌صورت همسان در پایان تابستان است.

قابل طبقه‌بندی هستند (Alipour et al., 2014). با توجه به اینکه تانن‌ها به‌عنوان یکی از عامل‌های ایجاد طعم قابض در میوه از فلاونوئیدهای پلیمریک‌شده و تراکم یافته تشکیل یافته‌اند، به نظر می‌رسد طعم قابض میوه در به رقم اصفهان از میزان بسیار بالاتر این ترکیب‌ها در بافت میوه این رقم ایجاد شده است. همچنین با توجه به همبستگی بالای میزان فلاونوئیدهای برگ و میوه، به‌ویژه در برداشت‌های سوم و چهارم که متعلق به دهه دوم

جدول ۲. آنالیز همبستگی میزان فلاونوئید کل در بافت میوه و برداشت‌های مختلف برگ ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف درخت به مناطق شمالی ایران

Table 2. Correlation analysis of total flavonoid content in fruit tissues and different leaf harvest times of quince cultivars and genotypes of North Iran

	Fruit tissue	Leaf harvests			
		4 th leaf harvest	3 rd leaf harvest	2 nd leaf harvest	1 st leaf harvest
Total leaf	0.344 ^{ns}	0.282 ^{ns}	0.583**	0.889**	0.705**
1 st leaf harvest	0.106 ^{ns}	0.026 ^{ns}	0.337**	0.607**	
2 nd leaf harvest	-0.101 ^{ns}	-0.152 ^{ns}	0.165 ^{ns}		
3 rd leaf harvest	0.909**	0.848**			
4 th leaf harvest	0.958**				

ns, **: non-significant and significant at 1% probability level

ns **: عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

که در تأمین ذخائر توارثی اولیه درخت به این استان، برای تکمیل کلکسیون این درخت همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس بیژن محمدزاده، کارشناس مرکز خدمات کشاورزی شهرستان گیوی استان اردبیل

REFERENCES

1. Abdollahi, H., Alipour, M., Khoramdel Azad, M., Mehrabipour, S., Ghasemi, A., Adli, M., Atashkar, D. & Akbari, M. (2013). Establishment of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) germplasm collection from various regions of Iran. *Acta Horticulturae*, 976, 199-203.
2. Alipour, M., Abdollahi, H., Abdousi, V., Ghasemi, A. A., Adli, M. & Mohamadi, M. (2014). Evaluation of vegetative and reproductive characteristics and distinctness of some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from different regions of Iran. *Seed and Plant*, 30-1, 507-529. (in Farsi)
3. Bakhshi, D. & Arakawa, O. (2006). Effects of UV-B irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 4, 75-79.
4. Byrne, P. F., McMullen, M. D., Snook, M. E., Musket, T. A., J. Theuri, M., Widstrom, N. W., Wiseman, B. R. & Coe, E. H. (1996). Quantitative trait loci and metabolic pathways: Genetic control of the concentration of maysin, a corn earworm resistance factor, in maize silks. *Proceedings of National Academy of Science of the USA*, 17, 8820-8825.
5. Dawidowicz, A. L., Wianowska, D. & Baraniak, B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Samba cusnigra* L. (antioxidant properties of extracts). *Journal of LWT-Food Science and Technology*, 39, 308-315.
6. Du, A., Li, M., Ma, F. & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Journal of Food Chemistry*, 113, 557-562.
7. FAO. (2013). *Food and Agricultural Organization Production Statistics*. FAO Publications, Rome, Italy.
8. Ghazati, E. (2015). *Evaluation of biochemical and antioxidative characteristics of leaves and fruits of selected quince cultivars and genotypes from central region of Iran*. M.Sc. Thesis, Azad University of Abhar, Abhar, Iran. 115pp. (in Farsi)
9. Hamazu, Y., Yasui, H., Inno, T., Kume, C. & Omanyuda, M. (2005). Phenolic profile antioxidant property and anti-influenza viral activity of Chinese quince (*Pseudocydonia sinensis* Schneid.), quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 928-934.

10. Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F. & Munné-Bosch, S. (2009) How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?. *Trends in Plant Science*, 14, 125-132.
11. Izadi, Z., Asnaashari, M., Ahmadvand, G. B. & Piri, Kh. (2011). Identify the chemical composition of peppermint essential oil antibacterial investigation against several bacterial strains. *Armaghan Danesh*, 55, 45-52. (in Farsi)
12. Khoubnasabjafari, M. & Jouyban, A. (2011). A review of phytochemistry and bioactivity of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Journal of Medicinal Plant Research*, 16, 3577-3594.
13. Khoramdel Azad, M., Nassiri, J. & Abdollahi, H. (2013). Genetic diversity of selected Iranian quinces using SSRs from apples and pears. *Biochemical Genetics*, 51, 426-442.
14. Magalhaes, A. S., Silva, B. M., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentao, P. & Carvalho, M. (2009). Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Food chemistry and Toxicology*, 47, 1372-1377
15. Reyes-Carmona, J., Yousef, G. G., Marteniz-Peniche, R. A. & Lila, M. A. (2005). Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. *Journal of Food Science*, 70, 497-503.
16. Sabeti, H. (1994). *Trees and Shrubs of Iran*. Yazd University Publication, Yazd, Iran. 810 pp. (in Farsi)
17. Vermerris, W. & Nicholson, R. (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Press, Dordrecht, the Netherlands. 276 pp.
18. Westwood, M. N. (1993). *Temperate Zone Pomology*. Timber Press, Inc. Portland, Oregon, USA. 536pp.
19. Wojdylo, A., Oszmianski, J. & Bielicki, P. (2013). Polyphenolic Composition, Antioxidant Activity, and Polyphenol Oxidase (PPO) Activity of Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 2762-2772.
20. Wu, T. S. (1989). Flavonoid from root bark of *Citrus sinensis* and *Citrus nobilis*. *Phytochemistry*, 27, 585-587.
21. Yen, G. C. & Duh, P. D. (1995). Antioxidant activity of methanolic extracts of *Peanut huls* from various cultivars. *Journal of the American Oil Chemist Society*, 72, 1065-1067.