

## Evaluation of Some Phytochemical Characteristics of *Berberis integerrima* in Response to Nano-Zinc Foliar Application and Post-Harvest Drying Temperature

Lamia Vojodi Mehrabani<sup>1\*</sup>, Rana Valizadeh Kamran<sup>2</sup> and Mohammad Bagher Hassanpouraghdam<sup>3</sup>

- 1- **\*Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran (vojodilamia@gmail.com)
- 2- Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
- 3- Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Received: 3 August, 2017

Accepted: 22 November, 2017

### Abstract

#### Background and Objectives

Mineral nutrition and post-harvest handling are the major factors affecting secondary metabolites content and composition of plants. *Berberis integerrima* is one of the most important medicinal plants listed in all pharmacopeias. The bark, fruits and roots of this plant are commonly being used by traditional and modern medicine disciplines. They are well documented for their anti-diabetic, anti-cancer, and antimicrobial activities with berberine as the main active constituent. Also, the shrub has ornamental uses in the landscape and the fruit is used as a food additive. In addition, anthocyanin of the fruit is useful as a natural coloring agent in food industries. There are few studies on the agronomic demands and post-harvest handling of this plant. The experiment was conducted to assay the effects of nano-zinc foliar application and postharvest plant drying temperature on some phytochemical traits of this highly valuable plant.

#### Materials and Methods

The treatments were applied to assay the phytochemicals content variations in roots, fruits and aerial parts of the plant (2 years old) by two separate experiments as factorial based on RBCD. In the first experiment, the effects of nano-zinc foliar spray on the yield, anthocyanin content, Zinc content and TSS at the different mentioned organs were studied. In the second experiment, the effects of diverse post drying temperatures (25, 50 and 75°C) on total phenolics content, flavonoids content, hydrolysable tannin and berberin content in *Berberis integerrima* were assayed.

#### Results

Zn content, TSS content and anthocyanins were affected by the independent effects of foliar spray and plant part. Plant dry weight was impacted by the organ type. Phenolics, flavonoids and alkaloids contents were affected by the interactional effects of the foliar spray, the organ type, and the drying temperature. The highest figure for the contents of alkaloids (30 mg g<sup>-1</sup>DW<sub>t</sub>) and flavonoids (26.9 mg g<sup>-1</sup>DW<sub>t</sub>) were from the root × foliar spray by 6 mgL<sup>-1</sup> Nano-Zinc at 25°C drying regime. The maximum amount of total phenolics was attained by the aerial parts × foliar spray by 6 mgL<sup>-1</sup> Nano-Zinc at 25°C and fruits × 3 and 6 mgL<sup>-1</sup> foliar spray at 25°C. For hydrolysable tannins (1.9%), the root and the aerial parts × 25°C showed the largest figure.

**Discussion**

The overall results revealed the positive effects of nano-zinc foliar application on the studied gross secondary metabolites content in *Berberis integerrima*. The post-harvest drying temperature influenced the metabolites content as well, and the optimized temperature in the experiments was 25<sup>0</sup>C.

**Keywords:** Alkaloids, *Berberis integerrima*, Hydrolysable tannin, Total phenolics content

## ارزیابی برخی ویژگی‌های فیتوشیمیایی زرشک سیاه (*Berberis integerrima*) در پاسخ به محلول پاشی با نانو ذره اکسید روی و دماهای خشک کردن گیاه

لمیا وجودی مهربانی<sup>۱\*</sup>، رعنا ولیزاده کامران<sup>۲</sup> و محمدباقر حسن‌پور اقدم<sup>۳</sup>

۱- \*نویسنده مسئول: استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران (vojodilamia@gmail.com)

۲- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۱۲

### چکیده

تغذیه گیاه و فرایندهای پس از برداشت از عوامل مؤثر در افزایش ویژگی‌های کیفی و محتوای متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌باشند. به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی با نانوذره روی (صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم در لیتر) و دماهای خشک کردن (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درجه سانتی‌گراد) بر صفات فیزیولوژیک زرشک سیاه، دو آزمایش جداگانه بر مبنای آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در طی سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۶ در دانشگاه شهید مدنی آذربایجان طراحی شد. محتوای مواد جامد محلول کل، غلظت روی و آنتوسیانین تحت تأثیر اثرات مستقل محلول پاشی و اندام گیاهی قرار گرفت. بیشترین میزان وزن خشک در ریشه مشاهده شد. نتایج حاکی از وجود اثرات متقابل میان محلول پاشی و دمای مورد استفاده در خشک کردن بر محتوای فنل، فلاونوئید و آلکالوئید بود. بیشترین میزان آلکالوئید (۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید (۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در ترکیب تیماری ریشه محلول پاشی شده با ۶ میلی‌گرم در لیتر نانوذره روی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و بیشترین میزان فنل کل در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در ترکیب تیماری بخش هوایی محلول پاشی شده با ۶ میلی‌گرم در لیتر نانوذره روی و ترکیب تیماری میوه در هر دو سطح محلول پاشی مشاهده گردید. بیشترین میزان تانن قابل هیدرولیز (۱/۹ درصد) گیاه در غلظت‌های ۶ میلی‌گرم در لیتر نانوذره روی و در ریشه و اندام هوایی زرشک مشاهده شد. نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت محلول پاشی با نانوذره روی بر محتوای گروه‌های عمده متابولیت‌های ثانویه گیاه بود. دمای مورد استفاده در خشک کردن نیز محتوای ترکیبات فوق را متأثر ساخت داد و بیشترین میزان این ترکیبات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد حاصل شد.

کلیدواژه‌ها: آلکالوئید، تانن قابل هیدرولیز، زرشک سیاه، فنل

### مقدمه

پوست، میوه، ریشه و ساقه این گیاه کاربرد گسترده‌ای در طب سنتی و مدرن دارد (Ardestani et al., 2013; Ashraf et al., 2012). زرشک دارای آلکالوئیدهای اکسیاکانتین، بریامین می‌باشد اما یکی از مهم‌ترین آلکالوئیدهای این گروه بربرین می‌باشد که دارای خواص ضد آرتیتمی، ضد التهاب و ضد میکروبی می‌باشد (Fatehi et al., 2005). آلکالوئیدهای تیره بربریداسه

زرشک سیاه با نام علمی *Berberis integerrima* L. از خانواده Berberidaceae می‌باشد. برخی از اثرات دارویی این گیاه در منابع مختلف علمی بیان شده است (Ashraf et al., 2012). خانواده بربریداسه شامل ۱۵ جنس و ۶۵۰ گونه جنس می‌باشد (Fatehi et al., 2005). گونه‌های زرشک به صورت بوته‌های خاردار می‌باشند.

اکسین و پروتئین نقش دارد (Hemantaranjan, 1996; Nahed et al., 2007). اسپری مواد شیمیایی روی گیاهان موجب کاهش کارآیی مصرف آن‌ها به دلیل آبشویی، تجزیه نوری و هیدولیز آن‌ها می‌شود. لذا به منظور تأثیر محلول پاشی بر گیاهان لازم است محلول پاشی چند مرتبه تکرار شود که این عمل نیز موجب آلودگی محیط زیست و افزایش هزینه‌ها می‌شود. نانو ذرات و نانو کپسول‌ها وسیله‌ای کارآمد برای توزیع کودها با روش کنترل شده را فراهم می‌کنند که موجب کاهش آلودگی محیط زیست می‌شوند. مواد نانو ساختار به موادی اطلاق می‌شود که حداقل یکی از ابعاد آن زیر ۱۰۰ نانومتر باشد. در مقیاس کوچک و اتمی خصوصیات و رفتارهای جالب توجهی از جمله واکنش پذیری بالا، تحرک بالا و خصوصیات خودکنترلی از خود نشان می‌دهند که دلیل آن سطح ویژه بالای ذرات می‌باشد که موجب افزایش کارایی نانو کودها نسبت به کودهای معمولی می‌شود (Green and Beestman, 2007). هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تأثیر محلول پاشی نانوذره اکسید روی در افزایش برخی شاخص‌های کیفی زرشک سیاه و تأثیر دمای مورد استفاده در خشک کردن بر میزان ترکیبات مذکور بود.

### مواد و روش‌ها

نهال‌های یکسان دو ساله زرشک سیاه تکثیر شده به روش پاجوش به گلدان‌های ۷ لیتری حاوی خاک (مشخصات خاک مورد استفاده در جدول (۱) اشاره شده است) منتقل شدند. گیاهان به مدت یک سال در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان نگهداری شد. تغذیه گیاهان با استفاده از محلول کامل هوگلند انجام شد در بهار سال ۱۳۹۵، گیاهان تحت تیمار محلول پاشی با نانوذره اکسید روی با غلظت‌های صفر، ۳ و ۶ میلی گرم در لیتر قرار گرفت. نانوذره مورد استفاده در پژوهش حاضر از شرکت US NANO (آمریکا) خریداری شد. محلول پاشی دوم ۳۰ روز بعد از محلول پاشی اول تکرار گردید و ۵ ماه بعد از محلول پاشی دوم گیاهان برای اندازه گیری صفات مورد مطالعه (وزن خشک ریشه، ساقه و برگ، میوه، محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، تانن‌های قابل هیدرولیز و

دارای هسته ایزو کینولین‌ها می‌باشد و به سه گروه آپورفین‌ها، پروتوبرین و بیس بنزید ایزو کینولین تقسیم می‌شوند (Fatehi et al., 2005; Karimi et al., 2009). مهم‌ترین محل استقرار ترکیبات آلکالوئیدی ریشه و پوست ساقه می‌باشد در بررسی انجام شده در خصوص تأثیر عصاره آبی ریشه زرشک در بهبود اختلالات کلیوی ناشی از استرپتوزوتوسین در موش‌های مبتلا به دیابت مشخص شد که عصاره گیاه زرشک تأثیر مثبت در بهبود اختلال دارد (Ashraf et al., 2012). فلاونوئیدها و فنل‌ها از ترکیبات ثانویه مهم گیاه زرشک می‌باشد که دارای اثرات ضد باکتری، ضد ویروس، ضد التهاب و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. دو نوع تانن در گیاهان شناسایی شده که شامل تانن‌های هیدرولیز شونده و تانن‌های متراکم می‌باشد. تانن‌های هیدرولیز شونده فراوان‌ترین پلی فنل در گیاهان بوده که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Shahdadi et al., 2012).

کشور ایران یکی از مهم‌ترین تولیدکنندگان زرشک در دنیا می‌باشد زرشک گیاهی قانع بوده و قادر به رشد در طیف وسیعی از خاک‌ها می‌باشد. زرشک سیاه به صورت بوته‌های خودرو در بخش‌های مختلف استان آذربایجان شرقی رشد می‌کند اما متأسفانه با توجه به اهمیت دارویی و اقتصادی (قیمت بالای میوه) این گیاه ارزشمند، تاکنون تدبیری در راستای اهلی کردن، تغذیه مناسب گیاه، کاشت و برداشت مکانیزه آن اتخاذ نشده است. شرایط آهکی و قلیایی خاک‌های منطقه از عوامل محدودکننده جذب عناصر کم مصرف می‌باشد. با توجه به محدودیت‌های مصرف خاکی عناصر کم مصرف (از قبیل تثبیت شدن و اثرات باقی مانده) محلول پاشی یا تغذیه برگ‌ها از روش‌های مؤثر در برطرف کردن نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم مصرف و افزایش متابولیک ثانویه در گیاهان می‌باشد (Mirshekari and Madani, 2017). روی یکی از مهم‌ترین ریزمغذی‌ها در رشد گیاه بوده (SedaghatKish et al., 2012) و در آسیمپلاسیون کربن، تجمع ساکاریدها، ظرفیت جذب و انتقال آب، از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، فعالیت آنزیم‌ها، بیوسنتز

عصاره گیری گردید و بعد از صاف کردن نمونه حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۵ و ۱۰ میلی لیتر از محلول به صورت جداگانه به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد و روی آن ها ۵ میلی لیتر محلول پرکلرات سدیم و ۱۰ میلی لیتر بافر بورات فسفات اضافه گردید و با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از دو ساعت محتویات هر بالن به دکانتور منتقل و با افزودن ۱۰ میلی لیتر دی کلرواتان فاز آلی جدا شد. سپس فلورسانس نمونه ها در طول موج های ۳۵۵ و ۵۱۶ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفلوریمتر اندازه گیری شد.

### جداسازی تانن های قابل هیدرولیز

از روش Garro Galvez (1997) برای جداسازی تانن های قابل هیدرولیز استفاده شد. بدین منظور ۲ گرم پودر گیاهی با متانول ۹۶ درصد مخلوط و بعد از یک ساعت قرار دادن در بن ماری صاف گردید (این عمل سه مرتبه تکرار شد). عصاره الکلی حاصل در دمای اتاق خشک و سپس روی ماده خشک حاصل ۲۵ میلی لیتر آب مقطر در حال جوش اضافه گردید. به عصاره حاصل بعد از سرد شدن ۲۵ میلی لیتر اتراتیلک اضافه و با دکانتور فاز اتری آن جدا شد. فاز آبی باقی مانده به دو قسمت مساوی تقسیم و pH بخش اول با هیدروکسید سدیم ۱ نرمال به ۱۰ و pH بخش دوم با اسید کلریدریک ۱ نرمال به روی ۳ تنظیم شد و سپس ۲۰ دقیقه در بن ماری جوشانده شد. بعد از سرد شدن pH آن ها روی ۶ تنظیم و تانن های هیدرولیزی با اتراتیلک جداسازی گردید. سپس به منظور جداسازی الکل نمونه ها در دمای اتاق خشک شد. به منظور اندازه گیری تانن ماده خشک حاصل در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. میزان جذب نمونه ها به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۴۳ نانومتر قرائت شد.

محتوای آلکالوئید کل (مورد آزمون قرار گرفت. در آزمایش دوم به منظور بررسی تأثیر دما بر محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، تانن های قابل هیدرولیز و محتوای کل آلکالوئیدی، بخش های مختلف گیاه در سه دامنه دمایی (دمای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درجه سانتی گراد) خشک گردید و سپس ترکیبات مذکور اندازه گیری شد.

### فلاونوئید کل

فلاونوئید کل نمونه ها به روش رنگ سنجی آلومنیوم در ۵۱۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. محتوای کل فلاونوئیدها بر مبنای استاندارد روتین هیدرات بیان گردید (Kim et al., 2006).

### محتوای فنل کل

میزان فنل کل نمونه ها با استفاده از معرف فولن سیکالتو به روش Kim et al. (2006) به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. محتوای فنل کل بر مبنای استاندارد اسید گالیک تعیین گردید.

### محتوای آنتوسیانین کل

از روش Wanger (2014) برای اندازه گیری آنتوسیانین کل استفاده شد. پس از عصاره گیری گیاهان، جذب محلول فوقانی در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی  $33000 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر بیان شد.

### محتوای قند محلول

محتوای قند محلول با استفاده از دستگاه رفروکتومتر دستی (Erma, Tokyo, Japon) و بر اساس درجه بریکس بیان شد.

### اندازه گیری محتوای آلکالوئید تام

اندازه گیری آلکالوئید به روش Yusupo (1990) انجام شد. بدین منظور ۴۰ گرم از نمونه گیاهی به کمک متانول

جدول ۱- ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Physical and chemical characteristics of soil used in this experiment

ماده آلی MO	ازت N	پتاس K	فسفر P	سیلت Silt	رس Clay	شن Sand	هدایت الکتریکی EC	pH	بافت خاک Soil texture
درصد (%)		میلی گرم بر کیلوگرم (mg/Kg)		درصد (%)			دسی زیمنس بر متر (dS/m)		
0.6	0.05	400	37	15	8	77	1.9	7.9	شنی-لوم Sandy-Loam

## طرح آماری و نحوه تجزیه داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای آماری MSTATC، SPSS مورد تجزیه قرار گرفت. مقایسه میانگین‌های تیمارهای مختلف به کمک آزمون LSD در سطوح احتمال پنج و یک درصد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### وزن خشک گیاه

نتایج بررسی وزن خشک گیاه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین بخش‌های مختلف گیاه وجود دارد (جدول ۲). بر اساس نتایج حاصل از جدول ۲ ریشه (۵۸/۳ گرم) در مقایسه با سایر اندام‌های گیاه دارای وزن خشک بیشتری بود. و کمترین وزن خشک گیاه در میوه (۳/۱۸ گرم) مشاهده گردید. در بررسی انجام شده توسط (Azizi et al., 2010) در گیاه کلزا مشخص شد که محلول‌پاشی با روی تأثیر مثبت در عملکرد زیستی، درصد روغن بذر و محتوای پروتئین داشت. نتایج مشابهی در خصوص افزایش عملکرد گیاه توسط (Ghasemi et al., 2012) در ذرت در اثر کاربرد روی تحت تنش خشکی گزارش شده است. در تحقیق انجام شده توسط (Pandey et al., 2009) مشخص شد که در گیاهانی که کمبود روی دارند، غلظت تریپتوفان و جیرلین کاهش می‌یابد و در نهایت باعث کاهش فعالیت هورمون‌های رشد نظیر اکسین می‌شود. افزایش ماده خشک در اثر کاربرد عنصر روی، می‌تواند به علت افزایش بیوستر اکسین، افزایش غلظت کلروفیل، افزایش فعالیت فسفوانول پیرووات کربوکسیلاز و ریبولوز بی فسفات کربوکسیلاز، کاهش تجمع سدیم در بافت‌های گیاهی و افزایش کارایی جذب نیتروژن و فسفر در حضور عنصر روی باشد (Azizi et al., 2010).

### محتوای آنتوسیانین

محتوای آنتوسیانین نمونه‌ها تحت تأثیر مستقل اندام گیاهی و سطوح محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۲). هر دو سطح محلول‌پاشی نسبت به تیمار شاهد تأثیر مثبت بر محتوای آنتوسیانین داشت (جدول ۳). بیشترین میزان آنتوسیانین نمونه‌ها در میوه گیاه به میزان ۷۹/۱ میکرومول

بر گرم وزن تر مشاهده شد. ریشه دارای کمترین میزان آنتوسیانین بود نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های (Vojodi Mehrabani et al., 2016b) در پژوهش‌های خصوص افزایش آنتوسیانین در گیاهان شمع‌دانی عطری محلول‌پاشی شده با سولفات روی مطابقت دارد. در بررسی انجام شده توسط (Song et al., 2015) مشخص شد که محلول‌پاشی روی بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوستر ترکیبات فنلی را در طی نمو میوه انگور تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش محتوای آنتوسیانین، تانن، فلاونوئید و فنل کل در جبه انگور شد. همچنین مشخص شد که محلول‌پاشی موجب گردید در مرحله وریزان (آغاز تغییر رنگ در انگور) آنزیم‌های درگیر در بیوستر فلاوانول‌ها به سمت مسیر بیوستر آنتوسیانین هدایت شوند. ایشان عنوان نمودند که افزایش بیان ژن VvLDOX بعد از مرحله وریزان دلیل اصلی افزایش محتوای آنتوسیانین در انگورهای تیمار شده با روی بود.

### محتوای روی نمونه‌ها

محتوای روی نمونه تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی و اندام گیاهی قرار گرفت (جدول ۲). بر اساس نتایج حاصل از جدول (۳) ریشه و بخش هوایی گیاه دارای بالاترین غلظت روی بود. بیشترین غلظت روی نمونه‌ها در تیمارهای ۳ و ۶ میلی گرم در لیتر نانوذره روی مشاهده شد (جدول ۴). افزایش در محتوای روی برگ بعد از محلول‌پاشی با روی توسط (Davaranpanah et al., 2016) در گیاه انار و توسط (Di-alami et al., 2016) در خرما گزارش گردید. نتایج مشابهی در خصوص افزایش محتوای روی دانه در اثر محلول‌پاشی با روی توسط (Abdoli et al., 2014) گزارش شد.

### محتوای مواد جامد محلول کل (TSS)

محتوای مواد جامد محلول کل تحت تأثیر مستقل سطوح محلول‌پاشی و اندام گیاهی قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش غلظت روی بر محتوای مواد جامد محلول کل افزوده شد. بیشترین میزان مواد جامد محلول در تیمار ۶ میلی گرم در لیتر نانو ذره اکسید روی به میزان ۳/۳

افزایش در محتوای مواد جامد محلول بعد از محلول پاشی با روی در انگور توسط Song *et al.* (2015) و در خرما توسط Di-alami *et al.* (2012) گزارش شد ایشان دلیل افزایش در محتوای مواد جامد محلول کل را افزایش در میزان فتوسنتز عنوان نمودند.

درجه بریکس مشاهده شد (جدول ۴). بر اساس نتایج حاصل از جدول ۲ بیشترین میزان مواد جامد محلول کل در میوه مشاهده گردید. سطح ویژه بالا، واکنش پذیری و تحرک پذیری بالای کودهای نانو موجب توزیع یکنواخت و با سرعت بالای کود در گیاه شده که موجب افزایش عملکرد گیاه می شود (Green and Beestman, 2007).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول پاشی با نانوذره اکسید روی بر وزن خشک گیاه، محتوای آنتوسیانین، غلظت روی و مواد جامد محلول کل در زرشک سیاه

Table 2. ANOVA for the effects of nano-Zn foliar application on TSS, plant dry weight, Zn content and anthocyanin content in *Berberis integerrima*

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک گیاه	آنتوسیانین	مواد جامد محلول کل	روی
S.o.V.	df	Plant dry weight	Anthocyanin content	TSS	Zn
تکرار	2	8831**	16.78*	2.41**	274**
اندام گیاه	2	24130**	312**	4.67**	648**
محلول پاشی نانوذره روی	2	1807 <sup>ns</sup>	20**	1.71**	117**
اندام گیاه × محلول پاشی	4	519 <sup>ns</sup>	1.95 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	1.3 <sup>ns</sup>
خطا آزمایشی	16	1054	3.14	0.09	25.3
ضریب تغییرات (درصد)		16.71	19.3	11.22	18.2
C.V. (%)					

ns, \* و \*\* به ترتیب به مفهوم عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشند.  
ns, \* and \*\*: non-significant and significant at 5 and 1%, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر نوع اندام گیاهی بر وزن خشک، غلظت روی، محتوای آنتوسیانین و مواد جامد محلول کل در زرشک سیاه

Table 3. Mean comparison for the effect of plant organs types on TSS, anthocyanin content, Zn concentration and plant dry weight in *Berberis integerrima* affected by nano-Zn foliar application

اندام گیاه	وزن خشک	محتوای آنتوسیانین	محتوای مواد جامد محلول کل	غلظت روی
Plant organ	Plant dry weight (g)	Anthocyanin content (μmol g <sup>-1</sup> FW <sub>t</sub> )	TSS (Brix)	Zn concentration (μg g <sup>-1</sup> D.W <sub>t</sub> )
ریشه	58.3 <sup>a</sup>	10.3 <sup>c</sup>	1.84 <sup>c</sup>	33 <sup>a</sup>
بخش هوایی	37.4 <sup>b</sup>	20.6 <sup>b</sup>	2.61 <sup>b</sup>	29.5 <sup>a</sup>
میوه	3.18 <sup>c</sup>	79.10 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	16.8 <sup>b</sup>
LSD	12.3	7	0.44	6.9

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار آماری بر اساس آزمون LSD می باشند.  
Similar letters in the columns are non-significant based on LSD test.



**محتوای فنل کل**

میزان فنل کل در ترکیب تیماری بخش هوایی محلول‌پاشی شده با ۶ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسید روی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ترکیب تیماری میوه در هر دو سطح محلول‌پاشی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید (جدول ۶).

محتوای فنل کل نمونه‌ها تحت تأثیر اثر متقابل دمای مورد استفاده در خشک کردن و ترکیب تیماری (اندام گیاهی در سطوح محلول‌پاشی) قرار گرفت (جدول ۵). نتایج نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار محتوای فنل کل با افزایش دمای مورد استفاده در خشک کردن بود. بیشترین

**جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی با نانوذره اکسید روی بر محتوای آنتوسیانین، غلظت روی و مواد جامد محلول کل در زرشک سیاه**

**Table 4. Mean comparison for the effect of nano Zn foliar application on TSS, Zn and Anthocyanin content in of *Berberis integerrima*.**

غلظت روی (میکروگرم در گرم وزن خشک) Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{D.Wt}$ )	مواد جامد محلول کل (درجه بریکس) TSS (0 Brix)	محتوای آنتوسیانین (میکرو مول بر گرم وزن تر) Anthocyanin content ( $\mu\text{mol g}^{-1}\text{FWt}$ )	سطوح محلول‌پاشی با نانوذره اکسید روی (میلی‌گرم در لیتر) Different levels of Zn nano particle ( $\text{mg L}^{-1}$ )
22.2 <sup>b</sup>	2.1 <sup>b</sup>	4.4 <sup>b</sup>	شاهد (Control)
26.2 <sup>ab</sup>	2.45 <sup>b</sup>	5.65 <sup>b</sup>	3
30.9 <sup>a</sup>	3.3 <sup>a</sup>	7.04 <sup>a</sup>	6
5.7	0.42	2.40	LSD (1%)

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Similar letters in the columns are non-significant based on LSD test.

**جدول ۵- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی با نانو ذره روی و دمای مورد استفاده در خشک کردن بر محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، تانن قابل هیدرولیز و محتوای آلکالوئید زرشک سیاه**

**Table 5. ANOVA for the effects of nano-Zn foliar application on plant parts on total phenol, flavonoid, hydrolysable tannin and alkaloids content in *Berberis integerrima***

محتوای آلکالوئید Alkaloids content	محتوای تانن هیدرولیزی Hydrolysable Tannins content	محتوای فلاونوئید Flavonoid content	محتوای فنل کل Total phenolic content	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.o.V.
37	0.59	309 <sup>**</sup>	15.05 <sup>**</sup>	2	تکرار Replication
837 <sup>**</sup>	9.5 <sup>**</sup>	96 <sup>**</sup>	16.12 <sup>**</sup>	2	دما Temperature
308 <sup>**</sup>	1.68 <sup>**</sup>	221 <sup>**</sup>	38.77 <sup>**</sup>	8	ترکیب تیماری (اندام گیاهی محلول‌پاشی شده) Treatment
41.6 <sup>**</sup>	0.34 <sup>ns</sup>	16.08 <sup>**</sup>	6.05 <sup>**</sup>	16	دما × ترکیب تیماری Temperature × Treatment
15.6	0.30	6.49	1.23	52	خطا آزمایشی Error
34.7	38.7	19.2	15.14		ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)

ns, \* و \*\* به ترتیب به مفهوم عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

ns, \* and \*\*: non-significant and significant at 5 and 1%, respectively.

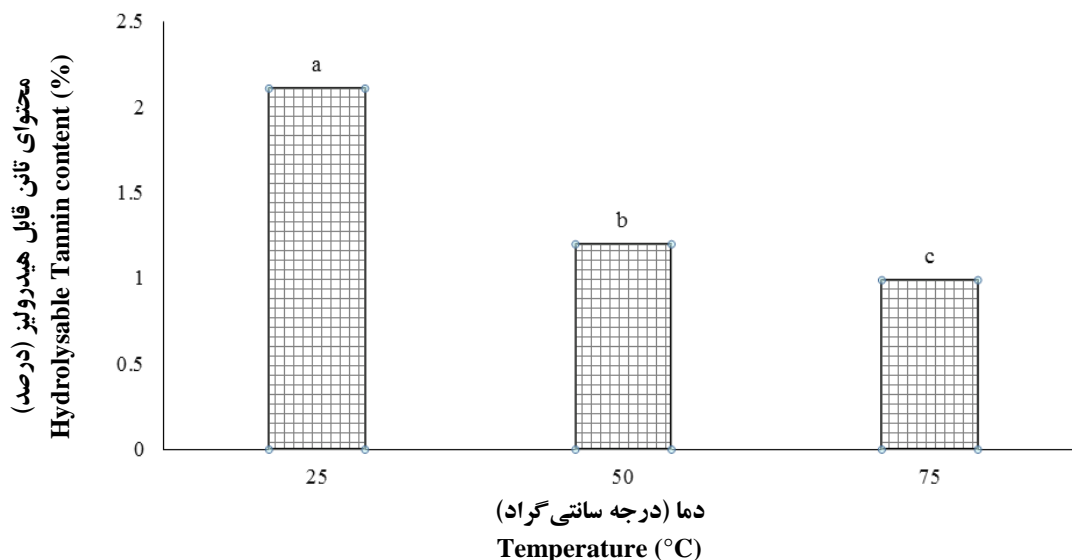






که با افزایش دما تانن‌های قابل هیدرولیز تجزیه می‌شوند. کاهش ترکیبات مذکور بر اثر خشک کردن ممکن است ناشی از پیوند آن‌ها با ترکیبات دیگری مانند پروتئین‌ها یا بر اثر تغییر ساختار شیمیایی آن‌ها باشد.

تحقیقات (Rakic et al. (2007) در خصوص تغییر در محتوای ترکیبات فنلی با افزایش دمای خشک کردن مطابقت داشت ایشان دلیل این تغییر را تأثیر مخرب دمای بالا بر محتوای ترکیبات تاننی عنوان نمودند و بیان کردند



شکل ۱- مقایسه میانگین بین دماهای مختلف خشک کردن بر محتوای تانن هیدرولیزی در زرشک

Figure 1. Mean comparison for the effect of temperature on hydrolysable tannins content in *Berberis integririma*

جدول ۷- مقایسه میانگین بین اندام‌های گیاه و سطوح محلول پاشی با نانوذره روی بر محتوای تانن‌های قابل هیدرولیز زرشک سیاه

Table 7. Mean comparison for the effect of nano-Zn foliar application and plant part on hydrolysable tannin content in *Berberis integririma*

محتوای تانن هیدرولیزی Hydrolysable tannin content (%)	بخش گیاهی محلول پاشی شده با نانوذره روی (میلی گرم در لیتر) Nano- Zn foliar application on Plant organs (mgL <sup>-1</sup> )
1.7 <sup>ab</sup>	ریشه + 0
1.9 <sup>a</sup>	ریشه + 3
1.9 <sup>a</sup>	ریشه + 6
1.5 <sup>abcd</sup>	بخش هوایی گیاه + 0
1.6 <sup>abc</sup>	بخش هوایی گیاه + 3
1.4 <sup>abcd</sup>	بخش هوایی گیاه + 6
0.7 <sup>d</sup>	میوه + 0
0.9 <sup>cd</sup>	میوه + 3
1 <sup>bcd</sup>	میوه + 6
0.7	LSD %

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار آماری براساس آزمون LSD می‌باشند.

Similar letters in the columns are non-significant based on LSD test.

### نتیجه گیری

با نقش مخرب حرارت در تخریب ساختار آن‌ها باشد. به‌طور کلی نتایج حاصل از پژوهش‌های انجام شده حاکی از پاسخ مثبت گیاه زرشک به محلول‌پاشی نانوذره اکسیدروی بود. شاید توضیح محتمل در این خصوص بهبود اجزای عملکرد در اثر کاربرد روی باشد. لذا پیشنهاد می‌شود با توجه به ارزش دارویی زرشک تحقیقات کاربردی بیشتری در راستای استخراج و فرمولاسیون ترکیبات ثانویه موجود در گیاه انجام شود و همچنین تحقیقات بیشتری در خصوص به‌زراعی این گیاه ارزشمند انجام شود.

ترکیب‌های فنولی بخش مهمی از مواد مؤثره زرشک سیاه می‌باشند محتوای این ترکیب‌ها به شدت تحت تأثیر فاکتورهای محیطی، شرایط رشد و عملیات پس از برداشت قرار می‌گیرند. از این‌رو اطلاع از عوامل تأثیرگذار بر میزان این ترکیبات و افزایش یا حفظ آن‌ها از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. دماهای مورد استفاده در خشک کردن در حفظ یا افزایش ترکیبات فنلی، آلکالوئیدی و تانن مؤثر بوده و کاهش میزان ترکیبات با افزایش دمای خشک کردن احتمالاً در ارتباط

### References

- Abdoli, M., Esfandiari, E., Mousavi, B. and Sadeghzadeh, B. (2014). Effects of foliar application of zinc sulfate at different phenological stages on yield formation and grain zinc content of bread wheat (cv. Kohdasht). *Azarian Journal of Agriculture*, 1(1), 11-16.
- Ardestani, S., Sahari, M. A., Barzegar, M. and Abbasi, S. (2013). Some Physicochemical Properties of Iranian Native Barberry Fruits (abi and poloei): *Berberis integerrima* and *Berberis vulgaris*. *Journal of Food and Pharmaceutical Science*, 1, 60-67.
- Ashraf, H., Heidari, R., Nejati, V. and Ilkhanipoor, M. (2012). Aqueous extract of *Berberis integerrima* root improves renal dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(1), 82-90.
- Azizi, Kh, Norouzian, A. Heydar, S. and yaghubi, M. (2010). The study of effect of zinc and boron foliar application on yield, yield components, seed oil and protein content and growth indices of rapeseed (*Brassica napus* L.) in Khorramabad climatic conditions. *Journal of Agronomy Science*, 4(5), 1-16. [In Farsi]
- Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Bahloul, N., Lognay, G., Drira, N.E. (2004). Date seed oil: Phenolic, tocopherol and sterol profiles. *Journal of Food Lipids*, 11(4), 251-255.
- Davarpanah, S., Tehranifar, A., Davarynejada, Gh., Abadia, G. and Khorasani, R. (2016). Effects of foliar applications of zinc and boron nano-fertilizers on pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani) fruit yield and quality. *Scientia Horticulture*, 210, 1-8.
- Di-alami, H., Rah-Khodaie, A. and Mohabi A. H. (2012). Effect of nitrogen, boron and zinc sprays on fruit set, yield and quality of date fruit (cv Sayer). *Plant Productions*, 35(1), 11-22. [In Farsi]
- Dlnoaz Hashimloyan, B., Ataiiazimin, A. and Mozhdehi, M. (2015). Identification and measurement of some secondary metabolites of leaves, stems and roots of *Dendrostellera lessertii* and their allelopathy effects on barley and mungbean plants. *Plant Ecophysiology*, 27, 162-177. [In Farsi]
- Fatehi, M., Saleh, T. M., Fatehi Hassanabad, Z., Farrokhfal, K., Jafarzadeh, M. and Davoudi, S. A. (2005). Pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract. *Journal of Ethnopharm*, 102(1), 46-52.
- Garro Galvez, J. M., Riedl, B. and Conner, A. H. (1997). Analytical studies on Tara tannins. *Holzforchung*, 51(3), 235-243.

- Ghasemi, M. M., Sepehri, A., Ahmadvand Q. and Abo Talabian, M. A. (2012). Effect of foliar application of zinc and manganese on the yield and yield components of maize (*zea may* l.) cultivars under water deficit stress. *Plant Productions*, 35(3), 41-54. [In Farsi]
- Green, J. M. and Beestman, G. B. (2007). Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. *Crop Protection*, 26(3), 320-327.
- Hemantaranjan, A. (1996). Physiology and biochemical significance of zinc in plants. In A. Hemanteranjan (Ed.), *Advancement in micronutrient research*, Joudhpur, Rajasthan, India: Scientific Publishers.
- Karimi, F., Amini Eshkevari, T., and Zeinali, A. (2009). Differences of total alkaloid, atropine and scopolamine contents in leaves of *Atropa belladonna* L. from Vaz area - north of Iran in relation to some environmental and phenological factors. *Iranian Journal of Plant Biology*, 1(1), 77-89. [In Farsi]
- Kim, K. H., Tsao, R., Yang, R. and Cui, S. W. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95(3), 466-473.
- Mirshekari, A. and Madani, B. (2017). Effects of calcium chloride sprays to the leaves and fruits on postharvest physiological characteristics of papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika II) Fruits. *Plant Productions*, 40(3), 89-100. [In Farsi]
- Nahed, G., El-Aziz, A. and Balbaa, L. K. (2007). Influence of tyrosine and zinc on growth, flowering and chemical constituents of *Salvia farinacea* plants. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(11), 1479-1489.
- Pandey, N., Pathak, G. C. and Sharma, C. P. (2006). Zinc is critically required for pollen function and fertilization in lentil. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(2), 89-96.
- Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin M., Tesevic, V. and Povrenovic, D. (2007). Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chem*, 104, 830-4.
- Sayyah, M., Boostani, H., Pakseresht, S. and Malayeri, A. (2010). Comparison of *Silybum marianum* L. Gaerth. with fluoxetine in the treatment of obsessive compulsive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(2), 362-365.
- SedaghatKish, Z., Moalemi, N., Rahemi, M., Khaleghi, E. and Mortazavi, M. (2012). Effects of foliar application of urea and zinc sulfate on some physical and bio-chemical characteristics of pomegranate fruit. *Punica granatum* L. cv. Rabab-e-Neyriz. *Plant Productions*, 34(2), 67-80. [In Farsi]
- Shahdadi F., Mirzaei H., Maghsoudlou Y., Ghorbani M. and Daraei Garmakhany A. (2012). Effect of drying process on the phenolic-compounds content and antioxidant activity of two varieties of date-palm fruit Kaluteh and Mazafati. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 6(3), 67-74. [In Farsi]
- Song, C., Liu, M.Y., Meng, J. F., Chi, M., Xi, Z. M. and Zhang, Z.W. (2015). Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. *Molecules*, 20(2), 2536-2554.
- Vega-Galvez, A., Scala, K. D., K Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., Lopez, J. and Perez-Won, M. (2009). Effect of airdrying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, color and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, 117(4), 647-53.
- Vojodi Mehrabani, L., Hassanpouraghdam, M. B., Ebrahimzadeh, A. and Valizadeh Kamran, R. (2016b). Effects of ZnSO<sub>4</sub> foliar application on vegetative growth and phenolic and essential oil content of geranium (*Pelargonium odoratissimum* L.). *Journal of Ornamental Plants*, 6(3), 193-199.

Vojodi Mehrabani, L., Valizadeh Kamran, R. and Azizpour, K. (2016a). The effects of organic manures, soil cover and drying temperature on some growth and phytochemical characteristics of *Calendula officinalis*. *Journal of sustainable Agriculture and Production Science*, 26(4), 103-112. [In Farsi]

Wanger, G. J. (2014). Contact and vacuole extra vacuole distribution of neutral sugar free amino acids and anthocyanin in protoplast. *Plant Physiology*, 64(1), 88-93.

Yusupov, M. M. (1990). Alkaloids of *Berberis vulgaris*. *Chemistry of Natural Compounds*, 26(1), 105-106.



© 2019 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)