

## تأثیر تاریخ کاشت بر درصد روغن، محتوی فنل تام بذر و برگ گونه‌های زراعی، وحشی و نسل F<sub>۱</sub> تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ (*Carthamus spp.*)

ثریا کرمی<sup>۱</sup>، محمدرضا سبزیعلیان<sup>۲\*</sup>، مهدی رحیم ملک<sup>۳</sup>، قدرت‌اله سعیدی<sup>۴</sup> و لایون خدایی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکترا، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران، پست الکترونیک: sabzalian@cc.iut.ac.ir

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

۵- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۵

### چکیده

به‌منظور بررسی اثر احتمالی تاریخ کاشت بر درصد روغن بذر، محتوی فنل تام بذر و برگ گلرنگ، سه جمعیت (۱۹ نمونه) شامل شش رقم از گونه زراعی (*Carthamus tinctorius L.*)، چهار ژنوتیپ از گونه وحشی (*C. oxyacanthus M. B.*) و ۹ ژنوتیپ از نسل F<sub>۱</sub> تلاقی بین گونه‌ای (*C. tinctorius* × *C. oxyacanthus*) در دو تاریخ بررسی شدند. نتایج نشان داد که تاریخ کاشت بجز محتوی فنل تام برگ، بر درصد روغن بذر و فنل تام بذر اثر معنی‌داری داشت ( $P < 0.01$ ). به‌طوری‌که بیشترین درصد روغن و محتوی فنل تام بذر به‌ترتیب در کشت تابستانه و کشت بهاره مشاهده شد. همچنین در هر دو تاریخ کاشت، بیشترین و کمترین درصد روغن بذر به‌ترتیب به جمعیت گونه زراعی و وحشی اختصاص داشت. اگرچه درصد روغن بذر جمعیت‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌ای حد واسط جمعیت‌های زراعی و وحشی بود؛ اما برخی ژنوتیپ‌ها در این جمعیت‌ها دارای درصد روغن بالایی بودند که در محدوده درصد روغن مشاهده شده در ارقام زراعی بود. در مورد محتوی فنل تام بذر، به‌نظر می‌رسد علاوه بر تاریخ کاشت، رنگ بذر و خلوص ژنتیکی مکان‌های کنترل‌کننده رنگ بذر نیز بر این صفت مؤثر باشند؛ زیرا ژنوتیپ‌های پوسته رنگی (ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته مشکی و ژنوتیپ‌های وحشی) در مقایسه با ژنوتیپ‌های پوسته سفید (ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته سفید) محتوی فنل تام بیشتری داشتند. در مجموع، نتایج این آزمایش نشان داد که می‌توان از تغییر زمان کاشت و همچنین تلاقی بین گونه‌ای برای بهبود درصد روغن و محتوی فنل تام بذر به‌عنوان دو فاکتور با خواص دارویی در گلرنگ استفاده کرد. همچنین برگ گلرنگ در مقایسه با بذر، منبع غنی‌تری از فنل تام می‌باشد که می‌توان از آن در صنایع دارویی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: تاریخ کاشت، درصد روغن، محتوی فنل تام، *Carthamus spp.*، هیبرید بین گونه‌ای.

## مقدمه

گلرنگ زراعی (*Carthamus tinctorius*) از دیرباز به منظور رنگ کردن البسه با استفاده از رنگ قرمز و نارنجی استخراج شده از گل‌های گلرنگ در ایران و چین کشت می‌شد (Hiramatsu et al., 2009). اما در حال حاضر هدف اصلی از زراعت این گیاه به دلیل غنی بودن دانه‌های گلرنگ از اسیدهای چرب غیراشباع با مصارف خوراکی در اروپا و آمریکا و همچنین کاربردهای فارماکولوژی در جهان (Asgarpanah & Kazemivash, 2013)، تولید دانه می‌باشد.

مهمترین وظایف اسیدهای چرب امگا۶، تولید ایکوزانوئیدها (Eicosanoids) است (Simopoulos, 2004). هورمون‌های حیاتی ایکوزانوئیدها دارای اثرات کاهش فشار خون، منبسط‌کننده عروق، بازدارنده طبیعی چسبندگی پلاکت‌ها، خاصیت ضد تشکیل لخته خون، خاصیت تشکیل لخته خون و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی بدن می‌باشند (Murray et al., 2006). شاید به همین دلایل در گذشته بدون اطلاع از جزئیات اشاره شده، برای درمان بیماری‌های قلبی و کبدی از این روغن به فراوانی استفاده می‌شد.

علاوه بر روغن، بیش از ۲۰۰ ترکیب شیمیایی دیگر از بخش‌های مختلف گلرنگ شناسایی و استخراج شد که مهمترین آنها اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، دیترین‌ها و سزکوئی‌ترین‌ها می‌باشند که همگی در گروه متابولیت‌ها و متابولیت‌های ثانویه قرار می‌گیرند. در عصاره دانه گلرنگ، مطالعات نشان داده‌است که پلی‌فنول‌ها و مشتقات سروتونین از جمله ان-پی کومارول (N-p-coumaroyl) و ان-فرولول سروتونین (N-feruloylserotonin)، با خاصیت پادسرطانی (Lin & Weng, 2006) و کاهنده کلسترول وجود دارد (Cho et al., 2004) که در بهبود ضربان قلب (Suzuki et al., 2010) و درمان دیابت نیز مؤثر می‌باشند (Takahashi & Miyazawa, 2012). برگ‌های گلرنگ نیز، اگرچه به‌عنوان ماده غذایی مورد استفاده قرار نمی‌گیرند؛ اما مطالعات نشان داد که ترکیب‌های فنولیک موجود در برگ گلرنگ ممکن است برای جلوگیری از تنش‌های اکسیداتیو

مفید باشد. همچنین مطالعات انجام شده نشان داد که عصاره آب داغ برگ‌های گلرنگ و لوتولین ۷-۱-گلوکوزاید (Luteolin 7-O-glucoside) به‌عنوان جزء اصلی این عصاره، می‌تواند در محیط *in vivo* به‌عنوان جلوگیری‌کننده از تنش‌های اکسیداتیو القاء شده توسط پاراکوات (Paraquat-PQ) عمل کنند (Igarashi et al., 2001). در مطالعه‌ای دیگر، اسکوتلارین (Scutellarin) به‌عنوان یک فلاونوئید آنتی‌آلرژیک مؤثر در برگ‌های گلرنگ شناسایی شد (Toyoda et al., 1997).

میزان ترکیب‌های شیمیایی در گیاهان تحت تأثیر عوامل متعدد خارجی و داخلی از جمله ژنتیک، مراحل نمو گیاه، تاریخ کاشت، تاریخ برداشت، نور و فاکتورهای اقلیمی که در طی فصل رشد رخ می‌دهند، قرار می‌گیرد. از میان این عوامل، تاریخ کشت می‌تواند بیشترین تأثیر را بر میزان تولید ماده مؤثره گیاهان داشته باشد (Fang et al., 2011). نتایج مطالعه Singh (۱۹۹۳) نشان داد که میزان روغن و کیفیت روغن (اندیس یدی) با تأخیر زمان کاشت کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که در صورت بالا بودن دمای محیط رشد دانه گلرنگ، روغن گلرنگ حاوی اسید اولئیک بالاتری است و بدین ترتیب میزان اسید چرب امگا۶ به‌طور فزاینده‌ای کاهش می‌یابد، زیرا آزریمی که سبب تبدیل اسید اولئیک به اسید لینولئیک می‌شود در حرارت بالا از بین می‌رود (Hassan-zadeh et al., 2008).

در مورد اثر تغییرات فصلی بر روی محتوی فنل تام در بخش‌های مختلف گلرنگ اطلاعاتی در دست نیست اما در گیاهان دیگر که غنی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند، تحقیقات مفصلی انجام شده‌است. در تحقیق انجام شده بر روی چای سیاه به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیب‌های فنولیک، نتایج نشان داد که شرایط آب و هوایی در زمان‌های مختلف برداشت تا حد زیادی بر میزان ترکیب‌های فنولیک چای سیاه تأثیرگذار است (Pouri et al., 2011).

علاوه بر اثر تاریخ کاشت به‌عنوان یک راهبرد در افزایش یا تغییر مقدار مواد مؤثره، استفاده از روش‌های

*C. oxyacanthus* (کرمانشاه، آذری، اراک وحشی و اصفهان I) با رنگ پوسته قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، ۶ رقم از گونه زراعی *C. tinctorius* (اراک ۲۸۱۱، ۴۱۱۰، C۱۱۱، AC-Sunnet, AC-Stirling) با رنگ پوسته سفید، ۵ ژنوتیپ حاصل تلاقی بین گونه‌ای *(C. tinctorius × C. oxyacanthus)* با رنگ پوسته مشکی (مشکی ۲، مشکی ۱۲، مشکی ۳، مشکی ۸، مشکی ۴) و ۴ ژنوتیپ حاصل تلاقی بین گونه‌ای *(C. tinctorius × C. oxyacanthus)* با رنگ پوسته سفید (سفید ۴، سفید ۱۲، سفید ۳، سفید ۲) در مزرعه پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف‌آباد، اجرا شد. مختصات جغرافیایی محل مورد آزمون ۳۲ درجه و ۳۲ دقیقه عرض شمالی، ۵۱ درجه و ۳۲ دقیقه طول شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۱۶۳۰ متر است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تاریخ کاشت در دو سطح و ژنوتیپ‌ها در ۱۹ سطح به عنوان عوامل مورد آزمایش در نظر گرفته شدند. هر کرت آزمایشی نیز شامل سه ردیف کاشت بود که در آن ۱۰ بوته به فاصله ۸ سانتی‌متر از یکدیگر کاشته شد. فاصله ردیف‌های کاشت از یکدیگر ۴۰ سانتی‌متر بود.

#### تعیین درصد روغن دانه

برای تعیین میزان روغن دانه هر ژنوتیپ در هر تاریخ کاشت در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، غوزه‌های ۳۰ گیاه از هر تکرار (جمعاً ۹۰ گیاه) انتخاب شد و بعد بذرها را هر تکرار جمع و تبدیل به یک نمونه واحد شد. سپس کلیه بذرها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت در آون قرار داده شد و با استفاده از آسیاب پودر شد. ۱۰ گرم بذر آسیاب شده از هر ژنوتیپ با استفاده از دستگاه سوکسله و پترولیوم اتر به مدت ۶ ساعت طبق دستورالعمل AOCS روغن‌گیری شد (Knowles, 1989) و درصد روغن محاسبه شد.

اصلاحی از جمله تلاقی بین یا درون گونه‌ای نیز می‌تواند به عنوان یک راه حل در ایجاد تنوع در برخی مواد مؤثره و مهم از نظر اقتصادی از جمله روغن مؤثر باشد. در مطالعه انجام شده توسط Sabzalian و همکاران (۲۰۰۸) مشخص گردید که ترکیب اسیدهای چرب در دو گونه وحشی گلرنگ (*C. lanatus* و *C. oxyacanthus*) مشابه گونه زراعی *C. tinctorius* می‌باشد، هر چند که گونه زراعی دارای بالاترین نسبت اسیدهای چرب غیراشباع بود. همچنین محتوی روغن برخی از نمونه‌های گونه *C. oxyacanthus* به عنوان گونه اجدادی گلرنگ‌های زراعی با قابلیت تلاقی آسان با گونه زراعی (Dajue & Ashri & Knowles, 1960; Mundel, 1996) قابل مقایسه با ژنوتیپ‌های زراعی بود. از این رو، این امکان وجود دارد که در گیاه گلرنگ از گونه‌های وحشی در برنامه تلاقی بین گونه به منظور ایجاد منابع تنوع جدید برای حصول به محتوی روغن بالا با کیفیت مطلوب استفاده کرد.

با وجود اهمیت دانه و برگ گلرنگ به عنوان داروی سنتی در بسیاری از نقاط جهان، اطلاعات کافی در مورد اثر تاریخ کاشت بر روی محتوی فنل تام بذر و برگ گلرنگ، وجود ندارد. از این رو هدف از این مطالعه اولاً بررسی اثر تاریخ کاشت (تغییرات فصلی) بر درصد روغن بذر، محتوی فنل تام بذر و برگ به عنوان فاکتورهای درمانی و دارویی مهم در گلرنگ و دوماً بررسی تغییرات این صفات در هیبریدهای بین گونه‌ای *C. tinctorius × C. oxyacanthus* و گونه‌های والدینی آنها، به عنوان یک روش احتمالی در افزایش مواد مؤثره می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد گیاهی

این آزمایش در ۲۰ اسفندماه (کشت بهاره) و ۲۳ خردادماه (کشت تابستانه) سال زراعی ۱۳۹۲ به منظور بررسی اثرات تاریخ کاشت بر درصد روغن بذر و محتوی فنل تام بذر و برگ ۴ ژنوتیپ از گونه وحشی

## تهیه عصاره گیاهی

به منظور عصاره‌گیری از بذر و برگ، از روش تغییر یافته Chen و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. بدین منظور، به ۱۰۰ میلی‌گرم پودر بذر و برگ آسیاب شده هر یک از ژنوتیپ‌ها، به صورت جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. سپس مخلوط‌های فوق با سرعت دوران ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و محلول‌های روشناور برای سنجش میزان فنل تام جدا شد.

## تعیین میزان فنل تام

میزان فنل تام طبق روش فولین - سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) با استفاده از گالیک اسید به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Marinova et al., 2005). بدین منظور به ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی یا محلول‌های استاندارد (غلظت  $100-0 \text{ mg ml}^{-1}$  گالیک اسید (GAE) در آب مقطر)، حدود  $1/8$  میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو رقیق (۷/۱۵:۱) اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه با افزودن ۳ میلی‌لیتر از محلول ۷٪ سدیم کربنات حجم مخلوط واکنش با آب مقطر به ۵ میلی‌لیتر رسانده و بعد از ۹۰ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه، جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر تعیین و مقدار فنل تام از روی منحنی استاندارد بر حسب  $\text{mgGAE DW}^{-1}$  (میلی‌گرم/گرم وزن خشک) محاسبه شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس با استفاده از رویه GLM، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال  $P < 0.05$  و همبستگی ساده بین صفات با نرم‌افزار SAS انجام شد.

## نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) به استثناء محتوی فنل تام برگ، درصد روغن بذر و محتوی فنل تام

بذر تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار گرفتند و تفاوت میان تاریخ‌های کاشت برای هر دو صفت در سطح آماری ۱٪ معنی‌دار بود. بر اساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) بالاترین میزان درصد روغن بذر (۲۷/۰۸٪) در تاریخ کاشت ۲۳ خرداد و بالاترین میزان محتوی فنل تام بذر (۱۳/۵۶ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) در تاریخ کاشت ۲۰ اسفند بدست آمد. البته میانگین صفت محتوی فنل تام برگ در هر دو تاریخ کاشت تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

همچنین تأثیر ژنوتیپ بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۱). پایین‌ترین میزان درصد روغن بذر به ژنوتیپ کرمانشاه با ۲۴/۱۷٪ و بالاترین میزان آن به ژنوتیپ C۴۱۱۰ با ۲۹/۵۱ درصد روغن تعلق گرفت (جدول ۳). در سطح درون گروهی، از نظر صفت درصد روغن بذر، بین ارقام زراعی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد؛ در حالیکه کمترین تنوع درون گروهی مربوط به ژنوتیپ‌های وحشی بود (جدول ۳). در جمعیت تلاقی بین گونه‌ای نیز ژنوتیپ‌هایی دیده شد (مشکی ۲، مشکی ۱۲، سفید ۱۲، سفید ۴ و سفید ۲) که درصد روغن بذر مشابه با ارقام زراعی داشتند. مقایسه بین گروهی نیز نشان داد که بیشترین درصد روغن مربوط به گونه زراعی (۲۹٪) بود، در حالیکه کمترین درصد روغن در گونه وحشی (۲۴/۹۸٪) و جمعیت تلاقی بین گونه‌ای با رنگ پوسته مشکی (۲۵/۵۴٪) مشاهده شد.

از نظر محتوی فنل تام بذر، بالاترین محتوی فنل تام مربوط به ژنوتیپ مشکی ۳ با میانگین ۲۷/۲۱ میلی‌گرم/گرم وزن خشک و کمترین میزان آن متعلق به ژنوتیپ اراک ۲۸۱۱ با میانگین ۷/۸۰ میلی‌گرم/گرم وزن خشک بود. در سطح درون گروهی برای صفت مذکور، تنوع قابل ملاحظه‌ای در چهار گروه ژنوتیپی مشاهده نشد. با وجود این میزان فنل تام بذر در ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته مشکی به طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر از سایر گروه‌ها بود (۲۴/۰۵ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) (جدول ۳).

جدول ۱- میانگین مربعات برای درصد روغن، محتوی فنل تام بذر و برگ ژنوتیپ‌های اهلی، وحشی و ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی (F<sub>5</sub>)

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد روغن بذر	محتوی فنل تام بذر	محتوی فنل تام برگ
تاریخ کاشت	۱	۲۱/۰۲ **	۶۵۳۹/۰۰ **	۲۲۹/۳۴ ns
تکرار در تاریخ کاشت	۴	۰/۰۲۹	۲۶۳/۵۱	۱۲۶/۷۳
ژنوتیپ	۱۸	۱۸/۵۵ **	۲۸۵۹۳/۰۰ **	۲۷۲۲/۲۷ **
اثر متقابل ژنوتیپ × تاریخ کاشت	۱۸	۲/۷۸ **	۱۲۰۴/۵۰ *	۴۰۹۳/۵۳ **
خطا	۷۲	۰/۶۱	۶۰۴/۹۳	۱۶۸/۵۹
ضریب تغییرات	-	٪۲/۹۳	٪۱۸/۹۷	٪۵/۶۶

ns: غیر معنی‌دار، \* و \*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۲- مقایسه میانگین مجموع ژنوتیپ‌ها در دو تاریخ کاشت بهاره و تابستانه

تاریخ کاشت	درصد روغن بذر	محتوی فنل تام بذر	محتوی فنل تام برگ
بهاره (اسفند)	۲۶/۰۴ b	۱۳/۵۶ a	۲۳/۲۲ a
تابستانه (خرداد)	۲۷/۰۸ a	۱۲/۰۴ b	۲۲/۶۵ a

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.

بود (شکل ۱). از سوی دیگر، در بین گروه‌های ژنوتیپی مورد بررسی، ارقام زراعی در هر دو تاریخ کاشت بیشترین درصد روغن بذر و ژنوتیپ‌های وحشی کمترین درصد روغن بذر را به خود اختصاص دادند. در مورد محتوی فنل تام بذر، به استثناء ارقام زراعی که در هر دو تاریخ کاشت تفاوت معنی‌داری برای این صفت نشان ندادند؛ در سه گروه ژنوتیپی دیگر، بالاترین محتوی فنل تام بذر در تاریخ کاشت اول (کشت بهاره) مشاهده شد (شکل ۲). همچنین گروه ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته مشکی در هر دو تاریخ کاشت بالاترین محتوی فنل تام بذر را به خود اختصاص داد.

از نظر محتوی فنل تام برگ، نتایج نشان داد که ژنوتیپ وحشی آذری و ژنوتیپ مشکی ۳ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان فنل تام برگ بودند. همچنین در سطح درون گروهی ژنوتیپ‌های وحشی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها میزان فنل تام برگ بالاتری داشتند. مقایسه میانگین بین گروهی نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت بین گروه‌ها وجود ندارد (جدول ۳).

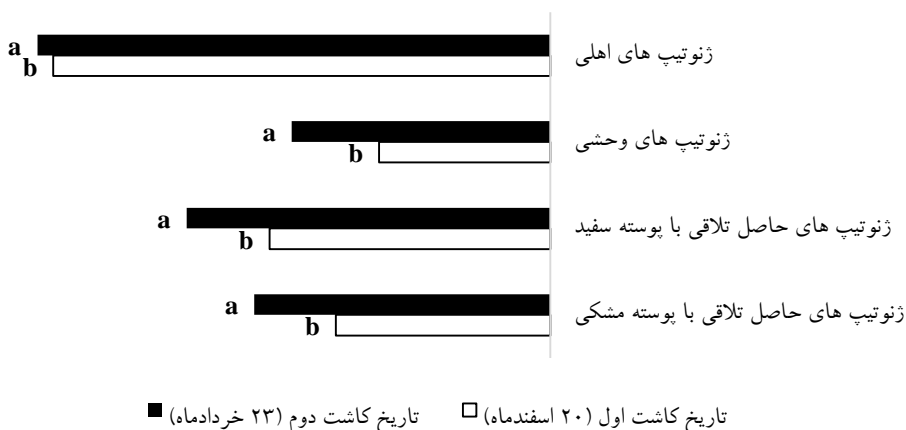
اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنوتیپ بر کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر چهار گروه، درصد روغن بذر به‌طور معنی‌داری در تاریخ کاشت دوم (کشت تابستانه) بالاتر از تاریخ کاشت اول (کشت بهاره)

جدول ۳- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی، ژنوتیپ‌های وحشی و اهلی گلرنگ

محتوی فنل تام برگ	محتوی فنل تام بذر	درصد روغن بذر	ژنوتیپ/رقم	جمعیت
۲۰/۷۳ a(fg)	۲۱/۸۹ a(b)	۲۶/۲۶ a(dg)	مشکی ۲	جمعیت حاصل تلاقی با پوسته مشکی
۲۲/۸۲ b(cd)	۲۲/۸۸ a(b)	۲۵/۹۵ ab(dh)	مشکی ۱۲	
۱۸/۷۹ d(h)	۲۷/۲۱ a(a)	۲۵/۶۸ abc(fh)	مشکی ۳	
۲۴/۷۵ a(b)	۲۵/۲۵ a(ab)	۲۵/۱۲ bc(hi)	مشکی ۸	
۲۵/۹۳ a(ab)	۲۳/۰۱ a(b)	۲۴/۷۰ c(il)	مشکی ۴	
۲۲/۶۰ A	۲۴/۰۵ A	۲۵/۵۴ C	-	میانگین
۲۰/۴۸ c(fg)	۸/۷۷ ab(d)	۲۷/۰۵ a(de)	سفید ۱۲	جمعیت حاصل تلاقی با پوسته سفید
۲۱/۴۳ b(dg)	۸/۶۵ b(d)	۲۶/۷۸ ab(de)	سفید ۴	
۲۰/۰۱ c(gh)	۸/۲۹ b(d)	۲۶/۴۴ ab(df)	سفید ۲	
۲۶/۰۶ a(ab)	۹/۴۱ a(ab)	۲۵/۶۶ b(fh)	سفید ۳	
۲۱/۹۹ A	۸/۷۸ B	۲۶/۴۸ B	-	
۲۴/۷۵ b(b)	۹/۷۲ a(c)	۲۵/۴۰ a(gi)	اصفهان I	جمعیت گونه وحشی
۲۶/۰۸ a(ab)	۹/۶۶ a(c)	۲۵/۲۰ a(hi)	اراک	
۲۶/۲۶ a(a)	۹/۷۰ a(c)	۲۵/۱۸ a(hi)	آذری	
۲۲/۷۴ c(cd)	۹/۸۲ a(c)	۲۴/۱۷ b(i)	کرمانشاه	
۲۴/۹۵ A	۹/۷۸ B	۲۴/۹۸ C	-	
۲۱/۸۶ a(c)	۸/۸۵ a(d)	۲۸/۱۴ c(c)	C111	جمعیت گونه زراعی
۲۱/۶۵ ab(dg)	۸/۶۷ a(d)	۲۸/۵۵ c(cd)	AC-Sunset	
۲۲/۲۶ ab(ce)	۷/۸۰ b(d)	۲۹/۲۰ b(ab)	اراک ۲۸۱۱	
۲۳/۱۷ a(c)	۸/۹۵ a(d)	۲۹/۲۳ b(ab)	Saffire	
۲۰/۹۳ b(eg)	۸/۴۴ ab(d)	۲۹/۴۱ a(ab)	AC-Stirling	
۲۱/۸۶ ab(cf)	۹/۲۲ a(d)	۲۹/۵۱ a(a)	C۴۱۱۰	میانگین
۲۶/۹۵ A	۸/۶۵ B	۲۹/۰۰ A	-	

حروف داخل پرانتز نمایانگر مقایسه میانگین در سطح کل ژنوتیپ‌ها و حروف کنار هر عدد نمایانگر مقایسه میانگین داخل هر گروه ژنوتیپی است.

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.



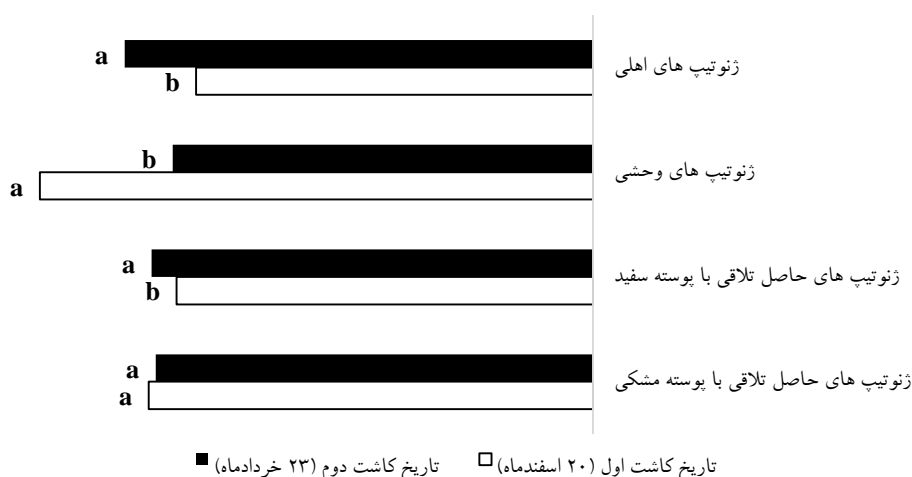
شکل ۱- روند اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنوتیپ مربوط به درصد روغن بذر (ژنوتیپ‌های با حرف مشابه اختلاف معنی‌دار در دو تاریخ کاشت ندارند).

تام برگ، در تاریخ کاشت اول مشاهده شد؛ در حالیکه در ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته مشکی محتوی فنل تام برگ تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار نگرفت (شکل ۳). همچنین در تمامی گروه‌های ژنوتیپی صرف‌نظر از تاریخ کاشت میزان محتوی فنل تام برگ در مقایسه با بذر بالاتر بود (جدول ۳).

برخلاف محتوی فنل تام بذر که روند خاصی را در هر دو تاریخ کاشت در تمامی گروه‌های ژنوتیپی نشان داد، محتوی فنل تام برگ روند مشابهی نداشت. در ژنوتیپ‌هایی با پوسته سفید (زراعی و حاصل تلاقی) مقادیر این صفت در تاریخ کاشت دوم در مقایسه با تاریخ کاشت اول بیشتر بود. در ژنوتیپ‌های وحشی با پوسته رنگی بیشترین محتوی فنل



شکل ۲- روند اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنوتیپ مربوط به محتوی فنل تام بذر (ژنوتیپ‌های با حرف مشابه اختلاف معنی‌داری در دو تاریخ کاشت ندارند).



شکل ۳- اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنوتیپ مربوط به محتوی فنل تام برگ (ژنوتیپ‌های با حرف مشابه اختلاف معنی‌داری در دو تاریخ کاشت ندارند).

ژنوتیپ‌هایی در هر دو جمعیت حاصل از تلاقی دیده شد که درصد روغن مشابه با ارقام زراعی داشتند. بنابراین می‌توان استنتاج کرد که از طریق تلاقی بین گونه‌ای امکان تولید ژنوتیپ‌هایی با درصد روغن مشابه والدین اهلی وجود خواهد داشت. از آنجایی که استفاده از ژنوتیپ‌های وحشی در برنامه‌های تلاقی و اصلاحی به دلیل داشتن ژن‌های مفید مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، همواره نگرانی احتمال کاهش درصد روغن در نتایج حاصل تلاقی را در پی داشته است، از این رو به نظر می‌رسد با توجه به مشخص شدن روند تغییرات درصد روغن بذر در ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی بین گونه‌ای از یکسو و نحوه تأثیر تاریخ کاشت بر درصد روغن ژنوتیپ‌های گلرنگ در این مطالعه، بدون نگرانی از احتمال کاهش شدید روغن، بتوان از برنامه‌های تلاقی بین گونه‌ای به‌عنوان یک روش مفید در ایجاد منابع تنوع استفاده کرد. در مطالعه انجام شده توسط Mostafaie و همکاران (۲۰۱۴) به‌منظور ارزیابی تنوع و تحمل به خشکی در نسل  $F_3$  حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ وجود تفکیک متجاوز در بین فامیل‌های  $F_3$  برای صفات مرتبط با عملکرد گلرنگ و همچنین اثرات متقابل معنی‌دار فامیل و محیط در همه صفات (اجزاء عملکرد، صفات فنولوژیک) مورد ارزیابی مشاهده شد. همچنین نتایج آنان نشان داد که

نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که درصد روغن بذر با محتوی فنل تام بذر ارتباط منفی و معنی‌دار ( $-0.46^*$ ) داشت، در حالیکه بین محتوی فنل تام برگ با درصد روغن و محتوی فنل بذر ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که درصد روغن بذر تحت تأثیر تاریخ کاشت، ژنوتیپ و اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنوتیپ قرار دارد. در هر دو تاریخ کاشت ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد روغن بذر را به‌خود اختصاص دادند. این نتیجه، یعنی بالا بودن درصد روغن بذر در گونه زراعی در مقایسه با گونه وحشی با توجه به روند تکاملی و انتخاب بر اساس درصد روغن بیشتر، دور از انتظار نبود. نتیجه مشابهی برای بالاتر بودن درصد روغن بذر در گونه زراعی نسبت به گونه‌های وحشی در مطالعات Weiss (۲۰۰۰) و Sabzalian و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که در هر دو تاریخ کاشت، میانگین درصد روغن بذر جمعیت‌های حاصل تلاقی بین گونه‌ای در حد واسط جمعیت‌های گونه وحشی و زراعی بود. با وجود این



گروه ژنوتیپی دیگر بالاترین میزان فنل تام بذر را در تاریخ کاشت اول داشتند. مطابق با نتایج این تحقیق، در مطالعه Anttonen و همکاران (۲۰۰۶) و Hoeck و همکاران (۲۰۰۰) اثر تاریخ کاشت به ترتیب بر میزان ترکیب‌های فنولیکی میوه توت‌فرنگی و دانه سویا معنی‌دار گزارش شد. همچنین بر اساس نظر Moïse و همکاران (۲۰۰۵) رنگ بذر بر اثر اکسید شدن ترکیب‌های پلی‌فنولیکی در پوسته بذر ایجاد می‌شود. این ترکیب‌ها در برگ ساخته و بعد به بذر منتقل می‌شوند؛ بنابراین به نظر می‌رسد این انتقال تحت تأثیر شرایط آنزیمی خاصی باشد که تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار گرفته است.

علاوه بر بذر به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیب‌های فنولیک، نتایج این مطالعه نشان داد که برگ گلرنگ صرف‌نظر از تاریخ کاشت در مقایسه با بذر، دارای محتوی فنل تام بالاتری می‌باشد (جدول ۳). بنابراین به نظر می‌رسد نقش اندام‌های هوایی به‌عنوان سدهای دفاعی در مقابله با تنش‌ها از جمله تابش‌های UV-B در افزایش محتوی فنل تام برگ به‌عنوان اولین سد دفاعی گیاه در مقایسه با بذر بی‌تأثیر نباشد (Warren *et al.*, 2003). در این مطالعه، برخلاف محتوی فنل تام بذر، روند تغییرات کلی محتوی فنل تام برگ در مقایسه بین گروه‌های ژنوتیپی از الگوی خاصی پیروی نمی‌کند؛ از این رو احتمالاً این روند در بین گروه‌های ژنوتیپی به دلیل تفاوت مکانیسم واکنش رقم‌ها، می‌تواند متفاوت باشد (Ma *et al.*, 2014).

همچنین نتایج نشان داد که در هر دو تاریخ کاشت بین درصد روغن بذر و محتوی فنل تام بذر به‌عنوان دو فاکتور مهم با خواص درمانی، ارتباط منفی و معنی‌دار وجود دارد. در مطالعه Anttonen و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش شد که طی تغییرات فصلی نوعی ارتباط منفی بین مواد مؤثره دارویی وجود دارد، به طوری که در کشت دیرهنگام محتوی ترکیب‌های فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه توت‌فرنگی افزایش و محتوی آنتوسیانین کاهش می‌یابد. بنابراین به نظر می‌رسد که شرایط آب و هوایی در زمان برداشت، از جمله بارندگی و دمای بالا عامل این ارتباط بین محتوی

می‌توان در برنامه‌های اصلاحی، از گلرنگ وحشی *C. oxyacanthus* برای بهبود برخی از صفات ژنوتیپ‌های زراعی و تولید لاین‌های متحمل به خشکی استفاده کرد.

برای محتوی فنل تام موجود در بذر همانطور که نتایج نشان داد صرف‌نظر از اثر تاریخ کاشت، متناسب با رنگ پوسته بذر بیشترین مقدار محتوی فنل تام بذر به ترتیب در ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته مشکی، ژنوتیپ‌های وحشی با رنگ پوسته قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره و ژنوتیپ‌هایی با پوسته سفید (ژنوتیپ‌های حاصل تلاقی با پوسته سفید و ارقام زراعی) دیده شد (جدول ۳). بنابراین می‌توان استنباط کرد که احتمالاً رنگ پوسته بذر در بروز این صفت بی‌تأثیر نباشد. از سوی دیگر به نظر می‌رسد ژن‌های تولیدکننده محتوی فنل تام بذر در ژنوتیپ‌هایی با پوسته رنگی بروز بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌هایی با پوسته سفید داشته باشند. وجود ارتباط مثبت و معنی‌دار بین ترکیب‌های فنولیک و رنگ پوسته دانه در گیاهانی از جمله برنج و سورگوم نیز گزارش شد (Shen *et al.*, 2009; Thaddi & Nallamilli, 2014). همچنین به نظر می‌رسد خلوص ژنتیکی رنگ بذر نیز بر محتوی فنل تام بذر بی‌تأثیر نباشد. در ژنوتیپ‌های اهلی ژن کنترل‌کننده رنگ بذر (W) به‌صورت خالص در آمده است (Imrie & Knowles, 1970) و محتوی فنل تام بذر در این گروه با خلوص ژنتیکی بالا تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار نگرفت و در هر دو تاریخ کاشت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در حالیکه ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی با رنگ پوسته سفید که از تلاقی والد وحشی پوسته رنگی و والد اهلی با رنگ پوسته سفید به‌وجود آمدند، دارای مکان ژنتیکی ناخالص برای ژن رنگ بذر می‌باشند. از این رو به نظر می‌رسد پس از خودگشایی، تفرق ژنتیکی برای این مکان، موجب ظهور دانه‌هایی با پوسته رنگی شد و موجب شد این ژنوتیپ‌ها در مقایسه با ژنوتیپ‌های اهلی دارای محتوی فنل تام بذر بالاتری باشند.

در مورد تأثیر تاریخ کاشت بر میزان فنل تام بذر، نتایج این مطالعه نشان داد که به‌استثنای ژنوتیپ‌های اهلی، سه

- Cho, S.H., Lee, H.R., Kim, T.H., Choi, S.W., Lee, W.J. and Choi, Y., 2004. Effects of defatted safflower seed extract and phenolic compounds in diet on plasma and liver lipid in ovariectomized rats fed high-cholesterol diets. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 50: 32-37.
- Dajue, L. and Mundel, H.H., 1996. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 7. Institut fur Pflanzengenetik und Kulturpflanzenzuchtung (IPK), Gatersleben, Germany and International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Fang, S., Yang, W., Chu, X., Shang, X., She, C. and Fu, X., 2011. Provenance and temporal variations in selected flavonoids in leaves of *Cyclocarya paliurus*. *Food Chemistry*, 124: 1382-1386.
- Hassan-Zadeh, A., Sahari, M.A. and Barzegar, M., 2008. Optimization of the ω-3 extraction as a functional food from flaxseed. *International of Food Science and Nutrition*, 59: 526-534.
- Hiramatsu, M., Takahashi, T., Komatsu, M., Kido, T. and Kasahara, Y., 2009. Antioxidant and neuroprotective activities of Mogami-benibana (safflower, *Carthamus tinctorius* Linne). *Neurochemical Research*, 4: 795-805.
- Hoeck, J.A., Fehr, W.R., Murphy, P.A. and Welke, G.A., 2000. Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean. *Crop Science*, 40: 48-51.
- Igarashi, K., Demachi, A. and Taakenaka, A., 2001. Protective effects of hot water extract of safflower leaves and its component luteolin-7-O-glucoside on paraquat-induced oxidative stress in rats. *Food Science and Technology Research*, 7: 224-230.
- Imrie, B.C. and Knowles, P.F., 1970. Inheritance studies in interspecific hybrids between *Carthamus flavescens* and *C. tinctorius*. *Crop Science*, 10: 349-352.
- Knowles, P.F., 1989. Safflower: 363-374. In: Robbelen, G., Downey, R.K. and Ashraf, A., (Eds.). *Oil Crop of the World*. McGraw-Hill, New York, 553p.
- Lin, J.K. and Weng, M.S., 2006. *Flavonoids as Nutraceuticals*. Springer, New York, 274p.
- Ma, D., Sun, D., Wang, C., Li, Y. and Guo, T., 2014. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80: 60-66.
- Marinova, D., Ribarov, F. and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the*

آنتوسیانین، محتوی فنل تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت‌فرنگی بود.

در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که تغییر تاریخ کاشت و استفاده از برنامه‌های تلاقی بین گونه‌ای احتمالاً یک روش مناسب به منظور افزایش فاکتورهای مؤثر درمانی دانه گلرنگ می‌باشد. به منظور حصول بیشترین درصد روغن بذر و محتوی فنل تام بذر به ترتیب بهترین تاریخ کاشت ۲۳ خرداد ماه (کشت تابستانه) و ۲۰ اسفند (کشت بهاره) پیشنهاد می‌گردد. همچنین از طریق تلاقی بین گونه‌ای نیز می‌توان ژنوتیپ‌هایی با درصد روغن تقریباً مشابه ارقام زراعی یافت کرد. اما در مورد محتوی فنل تام بذر به نظر می‌رسد با وجود تأثیر تاریخ کاشت، رنگ بذر و خلوص ژنتیکی مکان‌های کنترل‌کننده رنگ بذر نیز این صفت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به طوری که محتوی فنل تام بذر ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی با پوسته رنگی بیشتر از ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی در کشت بهاره بود. علاوه بر این نتایج نشان داد که برگ گلرنگ در مقایسه با بذر در هر دو تاریخ کاشت منبع غنی‌تری از ترکیب‌های فنولیک می‌باشد و می‌توان از آن در صنایع دارویی بهره‌برداری کرد.

#### منابع مورد استفاده

- Anttonen, M.J., Hoppula, K.I., Nestby, R., Verheul, M.J. and Karjalainen, R.O., 2006. Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growing environment, and genotype on the contents of selected phenolic in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 2614-2620.
- Asgarpanah, J. and Kazemivash, N., 2013. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 19: 153-159.
- Ashri, A. and Knowles, P.F., 1960. Cytogenetics of safflower (*Carthamus* L.) species and their hybrids. *Agronomy Journal*, 52: 11-17.
- Chen, Y., Xie, M.Y. and Gong, X.F., 2007. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. *Journal of Food Engineering*, 81: 162-170.

- antioxidants in edible wild plants. *Biological Research*, 37: 263-277.
- Singh, S.D., 1993. Yield, water, nitrogen, row spacing response analyzing safflower. Abstracts of the 3<sup>th</sup> International Safflower Conference. China, 8-13 September: 692-694.
  - Suzuki, K., Tsubaki, S., Fujita, M., Koyama, N., Takahashi, M. and Takazawa, K., 2010. Effects of safflower seed extract on arterial stiffness. *Vascular Health and Risk Management*, 6: 1007.
  - Takahashi, T. and Miyazawa, M., 2012. Potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Phytotherapy Research*, 26: 722-726.
  - Thaddi, B.N. and Nallamilli, M.N., 2014. Estimation of total bioactive compounds in pigmented and non-pigmented genotypes of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *International Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 3: 86-92.
  - Toyoda, M., Tanaka, K., Hoshino, K., Akiyama, H., Tanimura, A. and Saito, Y., 1997. Profiles of potentially antiallergic flavonoids in 27 kinds of health tea and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2561-2564.
  - Warren, J.M., Bassman, J.H., Fellman, J.K., Mattinson, D.S. and Eigerbrode, S., 2003. Ultraviolet-B radiation alters phenolic salicylate and flavonoid composition of *Populus trichocarpa* leaves. *Tree Physiology*, 23: 527-535.
  - Weiss, E.A., 2000. Oilseed crops. Blackwell Science, Oxford, 384p.
  - University of Chemical Technology and Metallurgy, 40: 255-260.
  - Moise, J.A., Han, S., Gudynaite-Savitch, L., Johnson, D.A. and Miki, B.L., 2005. Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 41: 620-644.
  - Mostafaie, F., Mirlohi, A.F., Saiedi, Gh., Sabzalian, M.R., Asgarinia, P. and Gheisari, M. 2014. Evaluation of variation and drought tolerance in F3 generation of a cross between domesticated (*Carthamus tinctorius* L.) and wild (*C. oxyacanthus* L.) Safflower species. *Iranian Journal of Crop Science*, 16: 165-180.
  - Murray, R.K., Granner, D.K. and Rodwell, V.W., 2006. Harper's Illustrated Biochemistry. McGraw-Hill Companies Press, USA, 692p.
  - Pouri, Z., Givianrad, M., Seyedeyn, A.S. and Larijani, K., 2011. Seasonal variation in phenolic compounds of black tea (*Camellia sinensis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27: 57-71.
  - Sabzalian, M.R., Saeidi, G. and Mirlohi, A., 2008. Oil content and fatty acid composition in seeds of three safflower species. *Journal of the American Oil Chemists*, 85: 717-721.
  - Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y. and Bao, J., 2009. Total phenolic, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science*, 49: 106-111.
  - Simopoulos, A.P., 2004. Omega-3 fatty acids and

## Influence of seasonal variations on seed oil and total phenolic content of seeds and leaves in cultivated, wild species and F<sub>5</sub> generation of inter-specific cross in *Carthamus* spp.

S. Karami<sup>1</sup>, M.R. Sabzalian<sup>2\*</sup>, M. Rahimmalek<sup>3</sup>, Gh. Saeidi<sup>3</sup> and L. Khodaei<sup>4</sup>

1- Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Agronomy and Plant Breeding, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

E-mail: sabzalian@cc.iut.ac.ir

3- Department of Agronomy and Plant Breeding, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

4- MSc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received: July 2016

Revised: October 2016

Accepted: November 2016

### Abstract

In order to investigate the possible influence of seasonal variation on the percentage of seed oil and total phenolic content in seeds and leaf of safflower, three populations (19 accessions) including 6 cultivars of cultivated species (*Carthamus tinctorius*), 4 genotypes of wild species (*C. oxyacanthus*) and 9 genotypes of F<sub>5</sub> generation derived from inter-specific cross (*C. tinctorius* × *C. oxyacanthus*) in two sowing dates, were evaluated. The results showed the effect of planting dates was significant on the percentage of seed oil and total phenolic content of seeds ( $p < 0.01$ ), except for leaf phenolic content. The percentage of seed oil and total phenolic content of seeds was higher in summer and spring planting dates, respectively. Also, in both planting dates, populations of cultivated and wild species had higher and lower percentage of seed oil, respectively. Whereas, percentage of seed oil in the populations derived from inter-specific cross was intermediate between cultivated and wild species, some genotypes in these populations had high percentage of seed oil and were in the range of percentage of seed oil observed for cultivated genotypes. Also, the total phenolic content of seeds in the genotypes with colored seed coat (black-seeded genotypes derived from the cross and wild genotypes) was higher comparing with white seed coat genotypes (cultivars and white-seeded genotypes derived from interspecific cross), then it seems that not only planting dates but also seed coat and genetic purity of loci controlling seed coat color may affect total phenolic content of seeds. In general, results of this experiment indicated that there is possibility of improving seed oil percentage and total phenolic content of seeds as the two factors with medicinal properties in *Carthamus* spp. using variation in planting dates and also inter-specific crosses. Furthermore, safflower leaf is a rich source in total phenolics in comparison with seed and can be used in pharmaceutical industries.

**Keywords:** Planting date, seed oil percentage, total phenolic content, *Carthamus* spp., inter-specific hybridization.