

ارزیابی و مقایسه ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی ۱۴ اکوتیپ از گیاه دارویی
Zizyphus jujuba Mill. در ایران

سکینه کهنسال و اجارگاه^{۱*}، رضا برادران^۲، سیدغلامرضا موسوی^۳،

مجید تولیت ابوالحسنی^۴، داراب یزدانی^۵

^۱ دانشجوی دکتری، گروه باغبانی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران.

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران.

^۳ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۵

چکیده

گیاه عناب *Zizyphus jujuba* Mill. از تیره *Rhamnaceae* دارای خواص دارویی ملین، تصفیه کننده خون و آرام بخش اعصاب است. این تحقیق، به منظور ارزیابی صفات مورفولوژیکی، ترکیبات فنولی، تاننی و فلاونوئید اکوتیپ‌های گیاه دارویی عناب جهت دست یابی به اکوتیپ برتر به اجرا در آمد. ۱۴ اکوتیپ عناب از کلکسیون جهاد دانشگاهی واحد خراسان جنوبی، در بهار ۱۳۹۶ در مرحله تمام گل و میوه رسیده جمع‌آوری گردیدند. ترکیبات فنلی و تانن کل با روش ماکار و میزان فلاونوئید کل با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام گرفت. گروه بندی اکوتیپ‌ها بر اساس صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی از طریق تجزیه خوشه‌ای و همبستگی صفات کمی نیز به روش پیرسون انجام شد. نتایج نشان داد که عملکرد فلاونوئید با طول و عرض میوه و نسبت آنها همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. عملکرد فنل نیز با طول و عرض میوه و عملکرد تانن با فنل همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد. نتایج تجزیه واریانس تنوع صفات مورفولوژیکی شامل طول و عرض برگ، طول و قطر میوه و نسبت آنها و وزن هزاردانه ژرم پلاسما اکوتیپ‌های گیاه عناب در ایران نشان دادند. از نظر صفات مورفولوژیک اکوتیپ هسته درشت دارای حداکثر ماده موثره بود. اکوتیپ‌ها از نظر فیتوشیمیایی نیز اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند. بر اساس تجزیه خوشه‌ای، ۱۴ اکوتیپ در ۲ گروه جداگانه قرار گرفتند. و از نظر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی بین اکوتیپ‌ها تنوع بالایی نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: اکوتیپ، عناب، ایران، فیتوشیمیایی، مورفولوژیکی.

مقدمه

پرورش عناب استان خراسان جنوبی است (Pouyan, 2016). با توجه به اینکه بسیاری از خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاهان دارویی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی قرار دارند، بنابراین با انتخاب گونه‌ها و یا ارقام گیاهی مناسب می‌توان به حداکثر میزان محصول دهی از لحاظ کمی و کیفی دست یافت (Omidbigi, 2009).

ارزیابی مورفولوژیکی گیاهان از نخستین گام‌ها برای شناسایی منابع ژنتیکی است. این روش کم هزینه، آسان و در دسترس بوده و نگرشی کلی در مورد ویژگی‌های ژرم پلاسِم گیاه در اختیار به نژادگران می‌گذارد. ارزیابی ویژگی‌های ریخت شناسی و جمع‌آوری صفات مطلوب از اهداف مهم اصلاح گران است (Mirza and sefidkon, 1999). گزارشات کمی در مورد بررسی تنوع اکوتیپ‌های عناب از نظر خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی وجود دارد. در پژوهشی خصوصیات گیاه شناسی، مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی ۲۹ گونه از گیاه عناب مورد مطالعه قرار گرفت و اختلاف در خصوصیات ظاهری و میکروسکوپی این گونه‌ها مشاهده گردید (Omidbigi, 2009).

نیز وجود تنوع مورفولوژیکی در بین گونه‌های مختلف عناب جمع‌آوری شده از مناطق مختلف مازندران، گلستان و خراسان را در تحقیق خود اثبات کرده‌اند. از سویی در مطالعه‌ای که توسط Sing et al. (۲۰۰۷) انجام شد، تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای براساس خصوصیات مختلف از قبیل وزن، طول و عرض میوه و ارتفاع گیاه مشاهده گردید.

در بررسی‌های دیگری که در استان هرمزگان بر روی ۱۱ ژنوتیپ *Zizyphus* انجام گرفته، مشخص شده است که ژنوتیپ‌های رملیک و کنار دارای بیشترین محتوای فلاونوئیدی هستند (Rastegar and Hasanzadeh, 2015). نتایج پژوهش چیتی و همکاران

عناب با نام علمی *Zizyphus jujuba* Mill. خانواده *Rhamnaceae* تعلق دارد. گیاهی چوبی با برگ‌های ساده، گل‌ها ۵-۴ برگی، در لبه‌ها حامل کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها که غالباً تحلیل رفته‌اند. میوه درخت عناب شفت، کروی و یا بیضوی، به رنگ قرمز یا قهوه‌ای تیره دیده می‌شوند. شاخه‌های جوان درخت عناب ابتدا سبز تیره و سپس به رنگ قرمز تیره در می‌آیند (Pouyan, 2016; Salehi et al., 2017). میوه عناب به‌عنوان یک گیاه دارویی و با خواص تغذیه‌ای بالا و ارزشمند بوده و دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای املاح معدنی و ویتامین‌های مختلف از جمله ویتامین ث، ب، آ، کلسیم، فسفر و آهن، مواد قندی، فلاونوئیدها، موسیلاز، اسیدهای مالیک و سیتریک می‌باشد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عناب در پوست، گوشت و هسته‌های آن گزارش و به وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلی نسبت داده شده است (Chiti, et al., 2013). از جمله ترکیبات فنلی شامل: کافئیک و ترکیبات کاتشین است (Mirhaydr, 1993; Omidbigi, 2009). ترکیبات فلاونوئیدی شامل: فلاونوئیدهای روتین، هیپروزید، ویتکسین، ویتکسین رامنوز و پروسیانیدین‌های الیگومریک است (Zargari, 1992). حدود ۴۰ گونه در جنس *zizyphus* وجود دارد که همگی دیپلوئید و ۲۴ کروموزومی می‌باشد (Chiti, et al., 2013). این گیاه دارویی ابتدا در کشور چین و پس از آن در کشورهای هندوستان، افغانستان، پاکستان و ایران کشت گردیده است (Ghos, 2009). در سال ۱۸۷۳ از جنوب فرانسه به باغ‌های مختلف آمریکا منتقل شد (Omidbigi, 2009). عناب به عنوان داروی تصفیه کننده خون، آرام کننده اعصاب، مقوی عمومی، ملین، ضدسرفه و مدر بکار می‌رود، برگ، ریشه و پوست درخت عناب نیز استفاده دارویی دارد (Khakdaman, 2006). مهمترین مرکز کشت و

مواد و روش ها

مواد گیاهی: در این تحقیق ۱۴ اکوتیپ گیاه دارویی *Zizyphus jujuba* Mill. از کلکسیون عناب جهاددانشگاهی واحد خراسان جنوبی (بیرجند) در استان خراسان جنوبی، به عنوان یکی از رویشگاه‌های گیاه عناب در ایران، انجام گرفت. نمونه‌های برگ در زمان اواسط تا اواخر فروردین ۱۳۹۶؛ گلها در مرحله تمام گل، یعنی از اوایل تا اواسط اردیبهشت ماه و نمونه‌های میوه در مرحله رسیدن کامل یعنی از اواسط مرداد تا اواخر شهریور ماه جمع آوری گردیدند.

نشان داده که میزان فنل کل، فلاونوئید و آنتی اکسیدانی در دو اکوتیپ بیرجند و خواف از گونه *Zizyphus* دارای تفاوت معنی داری می باشد (Chiti, et al., 2013). با توجه به این که کشور ایران به علت شرایط اقلیمی خاص به عنوان یکی از مناطق پراکنش گونه‌های مختلف عناب محسوب می شود، این پژوهش با هدف ارزیابی صفات مورفولوژیکی، ترکیبات فنولی، تاننی و فلاونوئید اکوتیپ‌های گیاه دارویی عناب در ایران جهت دست یابی به اکوتیپ عناب دارویی برتر به اجرا در آمد.

جدول ۱: مشخصات اکوتیپ‌های عناب کلکسیون جهاد دانشگاهی واحد خراسان جنوبی

شماره اکوتیپ	مکان	Location	نام فارسی (بومی)	endemic name (Based on fruit shape)	Code used in this study	مختصات جغرافیایی Geographical Coordinates
۱۰۱	محمدیه- خراسان جنوبی- ایران	Jujube collection, ACECR, Mohamadyeh-South Khorasan- Iran	هسته درشت	Haste dorosht	Hd	32° 51' 47.210"N 59° 12' 59.928"E ارتفاع: 1379m
۱۰۲	سیوجان- خراسان جنوبی- ایران	Syojan- South Khorasan- Iran	انگشت عروس ۱	Angosht aros1	Aa1	32° 51' 59.015" N 58° 57' 53.948" E ارتفاع: 1362m
۱۰۳	سیوجان- خراسان جنوبی- ایران	Syojan- South Khorasan- Iran	انگشت عروس ۲	Angosht aros2	Aa2	33° 0' 1.192"N 60° 13' 47.570"E ارتفاع: 1400m
۱۰۴	گزیک- خراسان جنوبی- ایران	Gezik- South Khorasan- Iran	نخودی	Nakhodi	N	33° 0' 1.192"N 60° 13' 47.570"E ارتفاع: 1400m
۱۰۵	بیرجند- خراسان جنوبی- ایران	Birjand- South Khorasan- Iran	خرمایی ۱	Khormayi1	Kh1	32° 51' 47.210"N 59° 12' 59.928"E ارتفاع: 1466 m
۱۰۶	بیرجند- خراسان جنوبی- ایران	Birjand- South Khorasan- Iran	خرمایی ۲	Khormayi2	Kh2	32° 52' 3.029"N 59° 10' 49.782"E ارتفاع: 1450m
۱۰۷	القورات- خراسان جنوبی- ایران	Alghorat- South Khorasan- Iran	خرمایی ۳	Khormayi3	Kh3	33° 5' 36.264"N 59° 21' 59.985"E ارتفاع: 2013m
۱۰۸	القورات- خراسان جنوبی- ایران	Alghorat - South Khorasan- Iran	خرمایی ۴	Khormayi4	Kh4	33° 5' 25.909"N 59° 22' 23.468"E ارتفاع: 2086m

مختصات جغرافیایی Geographical Coordinates	Code used in this study	endemic name (Based on fruit shape)	نام فارسی (بومی)	Location	مکان	شماره اکوتیپ
32° 50' 20.578"N 58° 55' 51.462"E ارتفاع: 1343m	G1	Gerdoyi1	گردویی ۱	Taghab- South Khorasan- Iran	تقاب- خراسان جنوبی- ایران	۱۰۹
32° 50' 26.517"N 58° 55' 52.858"E ارتفاع: 1345m	G2	Gerdoyi2	گردویی ۲	Taghab- South Khorasan- Iran	تقاب- خراسان جنوبی- ایران	۱۱۰
32° 50' 16.813"N 58° 55' 45.437"E ارتفاع: 1340m	G3	Gerdoyi3	گردویی ۳	Taghab- South Khorasan- Iran	تقاب- خراسان جنوبی- ایران	۱۱۱
32° 46' 36.731"N 58° 52' 49.049"E ارتفاع: 1293m	Kh	Khazdoki	خزدوکی	Khosf- South Khorasan- Iran	خوسف- خراسان جنوبی- ایران	۱۱۲
33° 8' 59.732"N 59° 42' 53.364"E ارتفاع: 1948m	P1	Pestanaki1	پستانکی ۱	Asyaban- South Khorasan- Iran	آسیابان- خراسان جنوبی- ایران	۱۱۳
33° 8' 46.974"N 59° 42' 54.250"E ارتفاع: 1945m	P2	Pestanaki2	پستانکی ۲	Asyaban- South Khorasan- Iran	آسیابان- خراسان جنوبی- ایران	۱۱۴

دقیقه ساترینفوژ گردید. سپس عصاره استونی حاصله جهت اندازه گیری ترکیبات فنولی و تانن استفاده گردید. برای استخراج ترکیبات فنولی ۰/۱ میلی لیتر از عصاره استونی نمونه را در یک لوله آزمایش (سه تکرار) ریخته و به آن ۰/۹ میلی لیتر آب مقطر، ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین فنول شیکالتو^۲ یک مولار و ۲/۵ میلی لیتر معرف کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شود. محلول حاصل را تکان داده و در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۵ دقیقه نگهداری گردید. برای استخراج تانن، ۲ میلی لیتر از عصاره استونی نمونه به یک لوله آزمایش حاوی ۱۰۰ میلی گرم پلی وینیل پلی پیرولیدون^۳ اضافه شد. مخلون فوق را به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ ساترینفوژ کرده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره شفاف آن را در لوله آزمایش ریخته (سه تکرار) و به آن

خصوصیات مورفولوژیکی: در این تحقیق برخی از پارامترهای مورفولوژیک مانند طول و عرض برگ، طول و قطر میوه به همراه وزن هزار دانه در سه تکرار اندازه گیری گردیدند.

خصوصیات فیتوشیمیایی: ترکیبات فنولی و تانن کل: ترکیبات فنلی و تانن کل با استفاده از روش ماکار^۱ (۲۰۰۳) تعیین گردید. به منظور استخراج و اندازه گیری ترکیبات فنولی و تانن کل، نمونه‌های میوه را که قبلاً در درجه حرارت ۱۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ساعت کاملاً خشک شده بودند آسیاب نموده و سپس با استفاده از هاون کاملاً ساییده شدند. مقدار ۲۰۰ میلی گرم از نمونه خشک شده را داخل بطری‌های پلاستیکی ریخته و به آن ۸۰ میلی لیتر استون ۷۰ درصد اضافه گردید. مخلوط حاصل را به مدت ۵ دقیقه به آزامی تکان داده شد و سپس در دور ۳۰۰۰ به مدت ۵

2. Folin ciocalteu
3. PVP

1. Makkar

بعد از $(PVP) - TEPH =$ غلظت تانن کل (TET)
 $TEPH$ باقیمانده افزودن
 همچنین برای محاسبه درصد تانن قابل استخراج از
 فرمول زیر استفاده شد.

$$100 \times \frac{\text{غلظت تانن قابل استخراج نمونه (میلی گرم)}}{\text{وزن خشک نمونه (میلی گرم)}} = \text{درصد تانن قابل استخراج نمونه (TET)}$$

ارزیابی میزان فلاونوئید کل: استخراج و اندازه گیری
 فلاونوئید مطابق با روش به کار گرفته شده توسط
 چیتی و همکاران (Chiti et al., 2013) در گیاه
 عناب و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با
 کارایی بالا انجام گرفت. بدین منظور، پس از پودر
 نمودن نمونه های میوه مربوط به هر یک از گونه ها،
 مقدار ۲ گرم از نمونه های هر اکوتیپ به طور جداگانه
 درون لوله های آزمایش درب دار ریخته شود. سپس
 ۱۰ میلی لیتر متانول ۹۵ درصد به هر یک از لوله های
 آزمایش اضافه گردید. نمونه ها به مدت ۵ دقیقه در
 داخل حمام آبی با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد گذاشته
 شد. پس از این مرحله، نمونه ها به مدت ۴۸ ساعت در
 دمای آزمایشگاه و در شرایط تاریک قرار گرفتند.
 سپس محتویات درون هر یک از لوله ها را از کاغذ
 صافی عبور داده و حجم عصاره اندازه گیری شده و
 عصاره ها تا زمان تزریق به دستگاه $HPLC$ در محلی
 خنک و تاریک نگهداری شدند.

به منظور تهیه محلول استاندارد حاوی مقدار
 مشخصی از فلاونوئید روتین، مقادیر ۲۵ و ۵۰ گرم از
 روتین ساخت شرکت سیگما با خلوص ۹۵ درصد تهیه
 و بعد از حل نمودن در ۳ سی سی $DMSO$ توسط
 متانول به حجم ۲۵ سی سی رسانده شوند. بدین ترتیب
 محلول های استاندارد با غلظت ۲ و ۱ میلی گرم بر
 کیلوگرم به دست آمد که از آنها برای رسم منحنی
 کالیبراسیون دستگاه $HPLC$ استفاده گردید. دستگاه
 $HPLC$ مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت

۰/۹ میلی لیتر آب مقطر، ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین
 شویکالتو و ۲/۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد
 اضافه شود و پس از تکان دادن برای مدت ۳۵ دقیقه در
 دمای آزمایشگاه نگهداری شد. به منظور تهیه محلول
 استاندارد، ۵۰ میلی گرم اسیدتانیک را در ۱۰۰ میلی لیتر
 استون ۷۰ درصد حل نموده و سپس حجم ۱۰
 میلی لیتر از عصاره فوق توسط آب مقطر به ۱۰۰
 میلی لیتر رسانده شد (۰/۵ میلی گرم اسیدتانیک در هر
 میلی لیتر حلال). پس از آن حجم مقادیر ۰، ۱۰، ۲۰،
 ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره فوق توسط
 آب مقطر به ۱ میلی لیتر رسانده شده و در نهایت
 به ترتیب ۰/۵ میلی لیتر فولین شیکالتو یک مولار و ۲/۵
 میلی لیتر کربنات سدیم به هر کدام از آنها اضافه گردید.
 لازم به توضیح است که مرحله افزودن آب مقطر،
 معرف فولین شیکالتو و کربنات سدیم جهت
 اندازه گیری $TEPH$ (کل ترکیبات فنلی قابل استخراج)
 و TET (کل تانن قابل استخراج) و تهیه محلول
 استاندارد، به طور همزمان انجام گردید. پس از
 نگهداری لوله های آزمایش به مدت ۳۵ دقیقه در دمای
 آزمایشگاه، برای اندازه گیری ترکیبات فنولی قابل
 استخراج، عدد جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در
 طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. در اینجا با استفاده از
 معادله مربوط به منحنی حاصل از استانداردها، غلظت
 ترکیبات فنولی قابل استخراج براساس اعداد جذب
 قرائت شده، محاسبه گردید. برای محاسبه درصد
 ترکیبات فنولی قابل استخراج از فرمول زیر استفاده
 شد.

$$100 \times \frac{\text{غلظت ترکیبات فنولی قابل استخراج نمونه (میلی گرم)}}{\text{وزن خشک نمونه (میلی گرم)}} = \text{درصد ترکیبات فنولی قابل استخراج نمونه}$$

میزان تانن کل (میلی گرم در هر گرم ماده خشک) نیز با
 استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

1. Total Extractable Phenols
2. Total Extractable Tannin

نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد که کلیه صفات مورد بررسی تحت تأثیر نوع اکوتیپ بودند. تجزیه واریانس برای تعدادی از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه شامل طول برگ، نسبت طول به عرض برگ، طول میوه، قطر میوه و نسبت طول به قطر میوه حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار در بین گونه‌های مورد مطالعه در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد (جدول ۱). همچنین بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر صفت عرض برگ تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت (جدول ۱). با توجه به نتایج تجزیه واریانس، در رابطه با وزن هزار دانه نیز بین گونه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد دیده شد (جدول ۱).

میانگین گونه‌ها از لحاظ صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه نشان داد که از نظر صفات مربوط به برگ، بیشترین مقدار طول برگ (۴/۶۴ میلی‌متر) مربوط به اکوتیپ خرمایی ۳ و کمترین مقدار آن (۲/۷۹ میلی‌متر) مربوط به اکوتیپ گردویی ۳ است (جدول ۲) از نظر عرض برگ بیشترین مقدار (۱/۸۴ میلی‌متر) مربوط به اکوتیپ خرمایی ۳ و کمترین مقدار (۰/۵۰ میلی‌متر) مربوط به اکوتیپ گردویی ۳ می‌باشد. همچنین بیشترین مقدار نسبت طول به عرض برگ (۵/۵۲) مربوط به اکوتیپ گردویی ۳ و کمترین مقدار آن (۱/۸۵) به اکوتیپ گردویی ۱ تعلق داشت (جدول ۲). از نظر صفات مورفولوژیکی مربوط به میوه، بیشترین مقدار طول و عرض میوه (به ترتیب ۲۹/۰۰ و ۲۲/۱۳ میلی‌متر) متعلق به اکوتیپ خرمایی ۱ و کمترین مقدار این دو صفت (به ترتیب ۵/۹۶ و ۳/۴۶ میلی‌متر) مربوط به اکوتیپ نخودی بودند (جدول ۲). همچنین بیشترین نسبت طول به عرض میوه (۲/۷۰) مربوط به اکوتیپ گردویی ۳ و کمترین نسبت طول به عرض

واترز بود که از مشخصات آن می‌توان وجود دو عدد پمپ Waters 510، دستگاه تزریق Waters U6K، آشکارساز Waters 480، ستون میکروبانداپاک ۱۰ μm $4.6 \times 300 mm$ C18، طول موج $\lambda = 280 nm$ جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه، حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر و فاز متحرک متانول و اسیدفسفریک را نام برد. برای انجام HPLC، همه نمونه‌ها اعم از استاندارد و مجهول توسط فیلترهای ۰/۴۵ میکرومتر صاف شده و سپس محلول‌های دیگری با رقت یک دهم محلول قبلی برای هر نمونه تهیه و به میزان ۱۰ میکرولیتر از هر یک از نمونه‌ها به دستگاه HPLC تزریق گردید. سپس درصد فلاونوئید روتین موجود در نمونه‌های گیاهی توسط رابطه زیر محاسبه شد.

a: مقدار روتین گزارش شده توسط دستگاه HPLC

برحسب

$$\%Rutin = a.v/v.m \text{ گرم}$$

v: حجم نهایی حاصل از عصاره‌گیری برحسب میلی‌لیتر.

v: حجم تزریق از نمونه موردنظر برحسب میلی‌لیتر،

m: وزن گیاه خشک مصرفی جهت عصاره‌گیری به میلی‌گرم، می‌باشند.

تجزیه‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به ۱۴ اکوتیپ مختلف در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از PROC GLM توسط نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند، گروه بندی (تجزیه خوشه‌ای) جمعیت‌ها بر اساس صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی به روش WARD و همبستگی بین صفات نیز به روش پیرسون توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.

میوه (۱/۰۹) مربوط به اکوتیپ خرمایی ۴ می باشد (جدول ۲).

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک، فیتوشیمیایی و وزن هزار دانه اکوتیپ های *Zizyphus jujuba* Mill.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		طول برگ	عرض برگ	نسبت طول به عرض برگ	طول میوه	عرض میوه	نسبت طول به عرض میوه
اکوتیپ	۱۳	۶/۶۹**	۰/۲۹**	۲/۳۹**	۱۵۵/۲۲**	۱۵۳/۷۲**	۰/۵۷**
خطا	۲۸	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۷۴	۰/۶۶	۰/۰۱
ضریب تغییرات		۲/۶۳	۲/۹۰	۳/۷۶	۶/۷۶	۵/۸۴	۷/۱۷

ادامه جدول شماره ۱:

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فنل	فلاونوئید	تانن
اکوتیپ	۱۳	۱/۹۳**	۰/۴۵**	۷/۰۴**
خطا	۲۸	۰/۴۲	۰/۰۵	۰/۳۱
ضریب تغییرات		۱۵/۹۵	۱۴/۰۲	۱۰/۱۴

ns* و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می باشند.

جدول ۲: مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک، فیتوشیمیایی و وزن هزار دانه اکوتیپ های *Zizyphus jujuba* Mill.

صفات	طول برگ	عرض برگ	نسبت طول به عرض برگ	طول میوه	عرض میوه	نسبت طول به عرض میوه	وزن صد دانه
هسته درشت	۳/۱۳ ^e	۱/۴۰ ^{ed}	۲/۲۳ ^{gf}	۲۴/۳۳ ^{cd}	۱۷/۳۳ ^c	۱/۴۰ ^d	۱۵۰/۷۵ ^b
انگشت عروس ۱	۳/۴۱ ^d	۱/۶۱ ^b	۲/۱۱ ^{gh}	۱۶/۶۶ ^e	۹/۰ ^{de}	۱/۸۶ ^b	۱۰۲/۷۰ ^e
انگشت عروس ۲	۳/۳۸ ^d	۱/۵۰ ^c	۲/۲۴ ^{gf}	۱۱/۰ ^{fg}	۸/۵۰ ^e	۱/۲۹ ^{def}	۱۰۱/۸۰ ^f
نخودی	۳/۸۴ ^{bc}	۱/۴۶ ^{cd}	۲/۶۱ ^{bc}	۵/۹۶ ^h	۳/۴۶ ^h	۱/۷۱ ^{bc}	۱۰۲/۸۱ ^e
خرمایی ۱	۳/۱۶ ^e	۱/۳۰ ^{ef}	۲/۴۱ ^{de}	۲۹/۰ ^a	۲۲/۱۳ ^a	۱/۳۰ ^{de}	۱۵۲/۰۰ ^a
خرمایی ۲	۳/۶۹ ^c	۱/۳۴ ^{ef}	۲/۷۴ ^b	۲۷/۸۳ ^{ab}	۲۲/۸۳ ^a	۱/۲۱ ^{efg}	۱۵۲/۰۰ ^a
خرمایی ۳	۴/۶۴ ^a	۱/۸۴ ^a	۲/۵۲ ^{cd}	۲۵/۸۳ ^{bc}	۲۲/۱۳ ^a	۱/۱۶ ^{efg}	۱۰۲/۳۶ ^{ef}
خرمایی ۴	۲/۹۶ ^f	۱/۵۰ ^c	۱/۹۷ ^{ih}	۲۴/۶۶ ^c	۲۲/۵۰ ^a	۱/۰۹ ^g	۱۵۱/۰۱ ^b
گردویی ۱	۲/۹۶ ^f	۱/۶۰ ^b	۱/۸۵ ⁱ	۲۲/۳۳ ^d	۲۰/۰ ^b	۱/۱۶ ^{fg}	۱۰۱/۰۳ ^g
گردویی ۲	۳/۴۸ ^d	۱/۴۷ ^c	۲/۳۵ ^{ef}	۲۲/۳۳ ^d	۱۶/۶۶ ^c	۱/۳۳ ^{de}	۱۵۱/۰۴ ^b
گردویی ۳	۲/۷۹ ^g	۰/۵۰ ^g	۵/۵۲ ^a	۲۲/۳۳ ^d	۸/۲۳ ^{ef}	۲/۷۰ ^a	۱۰۱/۹۳ ^f
خزدوکی	۳/۴۸ ^d	۱/۵۷ ^b	۲/۲۰ ^{gf}	۱۷/۹۶ ^e	۹/۹۶ ^d	۱/۸۰ ^{bc}	۱۰۱/۰۳ ^g
پستانکی ۱	۳/۹۳ ^b	۱/۷۸ ^a	۲/۲۰ ^{gf}	۱۲/۹۳ ^f	۶/۹۹ ^{gf}	۱/۸۵ ^{bc}	۱۰۴/۰۴ ^d
پستانکی ۲	۳/۱۷ ^e	۱/۳۰ ^f	۲/۴۲ ^{de}	۱۰/۰ ^g	۵/۹۶ ^g	۱/۶۷ ^c	۱۰۶/۰۲ ^c
lsd	۰/۱۵۱	۰/۰۷	۰/۱۵	۲/۲۹	۱/۳۶	۰/۱۸	۰/۵۷

ادامه جدول شماره ۲:

صفات	فنل	فلاونوئید	تانن
هسته درشت	۵/۴۳ ^a	۱/۶۹ ^{ab}	۸/۴۶ ^a
انگشت عروس ۱	۴/۸۸ ^{abc}	۱/۸۳ ^a	۶/۸۷ ^{bc}
نگشت عروس ۲	۵/۳۹ ^{ab}	۱/۸۲ ^a	۵/۳۰ ^e
نخودی	۴/۳۲ ^{bcd}	۱/۷۹ ^a	۵/۲۴ ^e
خرمایی ۱	۱/۸۵ ^{cde}	۱/۹۹ ^a	۷/۴۳ ^b
خرمایی ۲	۳/۰۵ ^{ef}	۱/۹۲ ^a	۴/۸۱ ^{ef}
خرمایی ۳	۴/۰۸ ^{cde}	۱/۸۵ ^a	۶/۵۱ ^{bc}
خرمایی ۴	۳/۷۳ ^{de}	۱/۷۹ ^a	۴/۲۴ ^{gf}
گردویی ۱	۳/۶۴ ^{def}	۱/۷۹ ^a	۲/۵۸ ^h
گردویی ۲	۲/۶۰ ^f	۱/۷۵ ^{ab}	۵/۵۲ ^{de}
گردویی ۳	۳/۹۳ ^{cde}	۱/۳۸ ^{bc}	۳/۶۳ ^g
خردوکی	۴/۴۴ ^{abcd}	۰/۷۸ ^d	۵/۴۶ ^{de}
پستانکی ۱	۴/۴۵ ^{abcd}	۱/۲۳ ^c	۵/۱۳ ^{ef}
پستانکی ۲	۳/۵۹ ^{def}	۰/۸۵ ^d	۶/۴۰ ^{cd}
lsd	۱/۰۹	۰/۳۷	۰/۹۴

در هر ردیف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد ندارند.

جدول ۳: ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی *Zizyphus jujuba* Mill.

صفات	طول برگ	عرض برگ	نسبت طول به عرض برگ	طول میوه	عرض میوه	نسبت طول به عرض میوه	وزن صددانه
طول برگ	۱						
عرض برگ	۰/۶۰ ^{**}	۱					
نسبت طول به عرض برگ	-۰/۲۱ ^{ns}	-۰/۸۶ ^{**}	۱				
طول میوه	-۰/۱۱ ^{ns}	-۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۰۱ ^{ns}	۱			
عرض میوه	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۱۶ ^{ns}	-۰/۲۳ ^{ns}	۰/۸۹ ^{**}	۱		
نسبت طول به عرض میوه	-۰/۱۹ ^{ns}	-۰/۶۰۹ ^{**}	۰/۶۳ ^{**}	-۰/۳۰۳ [*]	-۰/۶۸ ^{**}	۱	
وزن صددانه	-۰/۲۲ ^{ns}	-۰/۰۹ ^{ns}	-۰/۱۶ ^{ns}	۰/۶۳ ^{**}	۰/۶۶ ^{**}	-۰/۴۵ ^{**}	۱
فنل	۰/۰۱۵ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	-۰/۱۰۵ ^{ns}	-۰/۲۸ [*]	-۰/۳۱ [*]	۰/۱۵ ^{ns}	-۰/۲۹ [*]
فلاونوئید	۰/۰۹۸ ^{ns}	۰/۰۹۴ ^{ns}	-۰/۱۰۸ ^{ns}	۰/۳۸ [*]	۰/۵۰ ^{**}	-۰/۴۳ ^{**}	۰/۳۸ [*]
تانن	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۱۹ ^{ns}	-۰/۲۴ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	-۰/۱۱ ^{ns}	۰/۲۸ [*]

ادامه جدول ۳:

صفات	فنل	فلاونوئید	تانن
فنل	۱		
فلاونوئید	۰/۰۱ ^{ns}	۱	
تانن	۰/۳۶ [*]	۰/۰۸ ^{ns}	۱

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می‌باشند.

2007) نشان داده‌اند که خصوصیات مورفولوژیک برگ شامل طول، عرض، نسبت طول به عرض و تعداد بریدگی‌های برگ در تعدادی از گونه‌های ولیک در دو منطقه آب و هوایی یونان و یوگسلاوی متفاوت است. بنابراین هر دو عامل ژنوتیپی و اقلیم بر مورفولوژی نهایی برگ‌ها تأثیرگذار می‌باشند.

به‌طور معمول اکوتیپ‌های مختلف عناب توسط اندازه‌های مختلف میوه‌هایشان شناخته می‌شوند. در مطالعه‌ای که توسط قوس و همکاران (Ghos et al., 2006) روی عناب انجام شد، میانگین طول میوه برای اکوتیپ، نخودی، خرمایی و گردویی، به ترتیب ۶/۳، ۲۸، ۲۴ میلی‌متر گزارش گردید که تاحدودی در توافق با طول میوه گزارش شده برای اکوتیپ‌های خرمایی و گردویی در این تحقیق می‌باشد. در آزمایش دیگری، چیتی و همکاران (Chiti et al., 2013) نسبت طول به عرض میوه را برای اکوتیپ خرمایی، ۳/۳۰ میلی‌متر برآورد نمودند که بیشتر از مقدار به دست آمده برای این گونه در تحقیق حاضر (۱/۳۰) است. برخلاف نتایج تحقیق، نخایی (Nakhaei, 2016) طول میوه را برای دو اکوتیپ نخودی و خرمایی به ترتیب ۶ تا ۸ و ۳۳ میلی‌متر گزارش نمودند. طول میوه برای اکوتیپ هسته درشت توسط حسینی آوا و سیفی (Hosseini, 2002) ۱۸ تا ۲۰ میلی‌متر و توسط قوس (Ghos, 2009)، ۱۹ میلی‌متر گزارش گردیده است. نسبت طول به قطر میوه برای دو اکوتیپ هسته درشت و پستانکی به ترتیب ۱/۳۰ و ۱/۷۰ میلی‌متر گزارش شده چیتی و همکاران (Chiti et al., 2013) که با نتایج به دست آمده در این تحقیق متفاوت است. بنابراین مشاهده می‌شود نوع گونه یا اکوتیپ می‌تواند بر وزن هزار دانه این گیاه موثر باشد بیان می‌شود، ترکیب نهایی فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی در گیاهان به واسطه هر دو فاکتور ژنتیکی و محیطی مشخص می‌شود (Westwood, 1992). خیراخوسیان

در این تحقیق، بیشترین میزان وزن هزار دانه (۱۵۲/۰۰) مربوط به اکوتیپ خرمایی ۱ و ۲ و کمترین میزان (۱۰۱/۰۳) مربوط به اکوتیپ گردویی ۱ و خزدوکی می‌باشد (جدول ۲).

خصوصیات فیتوشیمیایی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد از نظر ترکیبات فنولی، تانن کل و فلاونوئید وجود دارد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌های درصد ترکیبات فنولی قابل استخراج در گونه‌های مورد مطالعه هم نشان داد که اکوتیپ هسته درشت دارای بیشترین درصد ترکیبات فنولی قابل استخراج (۵/۴۳) و اکوتیپ خرمایی ۱ دارای کمترین درصد این ترکیبات (به ترتیب ۱/۸۵ درصد) هستند (جدول ۲). از نظر مقدار تانن کل، بیشترین مقدار (۸/۴۶) برای اکوتیپ هسته درشت به دست آمد (جدول ۲). گونه‌های گردویی ۱ و گردویی ۳ نیز به ترتیب دارای مقادیر ۲/۵۸ و ۳/۶۳ درصد بودند (جدول ۲). بالاترین میزان عملکرد فلاونوئید (۱/۹۹ درصد) در اکوتیپ خرمایی ۱ و کمترین عملکرد آن (۰/۷۸ درصد) در اکوتیپ خزدوکی می‌باشد (جدول ۲).

بحث

با توجه به صفات مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی ارزیابی شده در این تحقیق، بین اکوتیپ‌های مورد بررسی تنوع بالایی ملاحظه می‌شود که عوامل مختلفی در این تنوع می‌توانند دخیل باشند. میرزا و سفیدکن (Mirza and Sefidkon, 1999) معتقدند صفات مورفولوژیکی متأثر از شرایط اقلیمی و ژنتیک هستند. همچنین وجود تنوع در صفات مختلف میوه توسط خاکدامن و همکاران (Khakdaman et al., 2006) نیز گزارش شده است. در تحقیقی دیگری سینگ و همکاران (Sing et al.,

فلاونوئیدی بیشتری نسبت به گونه پستانکی می‌باشد. مقدار فلاونوئیدهای موجود در نمونه‌های مورد مطالعه در این بررسی به مراتب بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط چتی و همکاران (۲۰۱۳) می‌باشد که در دو منطقه بیرجند و خواف انجام گرفته است که این می‌تواند ناشی از تأثیر برخی از عوامل اقلیمی بر تولید فلاونوئید در این گیاه باشد. چنانچه تحقیقات انجام شده توسط دایوس و آلبریگو (Davis and Albrigo, 1994) بر روی برخی فلاونوئیدهای مرکبات نشان داده که تولید آنها در مناطقی با آب و هوای خنک بیشتر از مناطق گرم می‌باشد، زیرا طول دوره تقسیم سلولی افزایش یافته و به دنبال آن تولید برخی از فلاونوئیدها نیز بیشتر می‌شود.

ضرایب همبستگی صفات: برای بررسی روابط بین جمعیت‌های مختلف می‌توان از فاکتورهای مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی استفاده نمود. صفات مورفولوژیکی متأثر از شرایط اقلیمی و ژنتیک هستند در برخی موارد وجود همبستگی بین صفات مورفولوژیکی و صفات فیتوشیمیایی می‌تواند به اصلاح کنندگان در برنامه‌های اصلاحی کمک زیادی کند (Salehi et al., 2017).

در این مطالعه (جدول ۳) ملاحظه می‌شود عملکرد فلاونوئید با طول میوه، عرض میوه و نسبت طول به عرض میوه همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. عملکرد فنل نیز با طول میوه و عرض میوه و عملکرد تانن تنها با فنل همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. وزن هزار دانه با طول میوه، عرض میوه و نسبت طول به عرض میوه همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد. اما بین باقی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی هیچ گونه همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. در بررسی‌هایی که در استان هرمزگان بر روی ۱۱ ژنوتیپ *Ziziphus* انجام گرفته، مشخص شده است که ژنوتیپ‌های رملیک و کنار دارای بیشترین

و همکاران (Khirakhosyan et al., 2004) نیز نشان دادند که کاربرد تنش‌های محیطی از قبیل خشکی و سرما موجب افزایش مواد پلی فنولی از جمله فلاونوئیدها در برگ‌های (میوه‌های) گونه‌های *C. laevigata* و *C. monogyna* می‌شود. این نتایج نشان داده‌اند که در مکان‌هایی که گونه‌های ولیک تحت تأثیر چنین تنش‌هایی قرار دارند، مواد موثره موجود در اندام‌های مختلف گیاه، به ویژه گلها و برگ‌ها افزایش می‌یابد و از این رو خواص دارویی آنها نیز برای تولید انواع داروها بهبود می‌یابد (Khirakhosyan et al., 2014). بنابر مطالب فوق می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در اقلیم‌هایی مانند منطقه خراسان جنوبی که دارای آب و هوای شب‌های نسبتاً سرد، روزهای گرم و تنش‌ها می‌باشد، بالا بودن میزان ترکیبات فنولی موجود در نمونه‌های گل و برگ این گونه‌ها مورد انتظار است. در پژوهش حاضر نیز از نظر مقدار، بیشترین مقدار تانن کل، برای اکوتیپ هسته درشت به دست آمده است.

در منابع ذکر شده است، هر گونه‌ای که درصد بالاتری از تانن‌ها را به خود اختصاص دهد، احتمالاً دارای اثرات درمانی و آنتی‌اکسیدانی بیشتری می‌باشد. در بسیاری از پژوهش‌ها نیز ذکر گردیده قسمت اعظم تانن موجود در گونه‌های جنس *Ziziphus* را تانن‌های متراکم تشکیل می‌دهند (Chang et al., 2002; Westwood, 1992). برخی از مطالعات نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی و درمان بیماری‌های قلبی را در عنب‌ها به مواد فنولی و تانن‌های متراکم نسبت می‌دهند (Khirakhosyan et al., 2014).

همچنین اثرات دارویی اکوتیپ‌های جنس *Ziziphus* به صورت عمده با میزان ترکیبات فنولیکی آنها نیز در ارتباط است. مقایسات میانگین نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه تفاوت محسوسی از نظر وجود فلاونوئید وجود دارد. به طوری که نتایج این تحقیق نشان داد که گونه خرمايي دارای ظرفیت

مشاهدات می‌توان چنین نتیجه گرفت که عوامل ژنتیکی ممکن است بیش از عوامل مورفولوژیکی مطلوب می‌توان به کشت اکوتیپ برتر این گیاه دارویی در ایران جهت کمک به تولید داروهای گیاهی از عناب توصیه شود.

منظور تولید دارو نسبت به سایر اکوتیپ‌ها دارای اولویت بوده و به عنوان اکوتیپ برتر معرفی می‌گردند که این امر ممکن است متأثر از ژنتیک و مورفولوژی باشد. همچنین اکوتیپ خرمایی ۱ و خزدوکی دارای میزان فلاونوئید بالاتری بوده و با اکوتیپ گردویی مجاور خود تفاوت معنی‌داری داشت. از این

References

- Balta, M.F., Celik, F., Turkoglu, N., Ozrenk, K. and Ozgokce, F. 2009. Some fruit traits of Hawthorn (*Crataegus* spp.) genetic resources from Malatya, Turkey. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2: 531-536.
- Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F. and Chow, M.S. 2002. Hawthorn. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42: 605-612.
- Chiti, S., Mortazavi, S.A., Basiri, Sh. and Sharifi, A. 2013. Evaluation of some physicochemical and nutritional characteristics of two jujube cultivars in Khorasan province. *The first regional conference of medicinal herbs in the north of the country*, 1: 51-53.
- Davis, F.S. and Albrigo, L.G. 1994. *Citrus*. CAB international press, Wallington, UK. P. 9814.
- Hossein Ava, S. and Saifi. A. 2002. *Jujube*. Technical Publications of the Tate Organization Promotion, Tehran: 17
- Ghos, K. 2009. *Forgotten Fruit Jujube*, South Khorasan Jihad Organization, Saeedi Manesh Publications.
- Khakdaman, H., Pourmidani, A. and adenani, M. 2006. Genetic variation of different ecotypes of jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) In Iran using cluster analysis. *Genetic research and improvement of Iranian pasture and forest plants*. 14: 214-202.
- Khirakhosyan, A., Kaufman, P., Warber, S., Zick, S., Aaronson, K., Bolling, S. and Change, S.C. 2014. Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiologia Plantarum*, 121: 182- 186.
- Makkar, H.P. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animal adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effect of feeding tannin-rich feed. *Small Ruminant Research*. 49: 241-256.
- Martin. M. and Meyer, J.R. 1971. Phosphorus utilization from internal and external sources in the growth of woody ornamental plants. *Amer. Soc. Hort. Sci* 96 (2): 209-212.
- Mirhaydr, H. medicinal herbs in the prevention of disease treatment Vol. 2, Office of the Publishing of Islamic Culture.
- Mirza, M. and sefidkon, F. 1999. Essential oil composition of two *Salvia* species from Iran, *Salvia nemorosa* L. and *Salvia reuterana* Boiss. *Flover and fragrance J*. 14: 230-232.
- Nakhaei, A. 2016. Atlas of genetic reserves of garden products in South Khorasan province. Fekre bekr Press, Tehran.
- Obeso, J.R. and Herrera, C.M. 2004. Inter-and intraspecific variation in fruit traits in co-occurring vertebrate-dispersed plants. *International Journal of Plant Science*, 55: 382-387.
- Omidbigi, R. 2009. *Production and processing of medicinal plants*. Astan Quds Razavi Publishing House, Vol. 4, Fifth Edition, 438p.
- Pouyan, M. 2016. *Medicinal plants of Southern Khorasan*, Islamic Azad University, Birjand.
- Rastegar, S. and Hasanzadeh, H., 2015. Evaluation of Quantitative and Qualitative Characteristics of Fruit of 11 Indigenous (*Ziziphus mauritiana*) Genotypes in Hormozgan Province.

- Plant Products of Shahid Chamran University - Faculty of Agriculture. 38(3): 0254- 3648.
18. Salehi, F., Aroee, H., Naghdi badi, H., Nemati, S. and Tolyat, M. 2017. Evaluation of morphophysiological and phytochemical traits of different ecotypes (*Salvia multicaulis* Vahl.) of Hamedan province. Journal of Medicinal Plants. Sixteenth Year, Fourth Edition, Special Issue No. 11.
19. Westwood, M. 1992. Working fruit in temperate regions (Translation Y. Rasool zadegan). Isfahan University Press.
20. Zargari, A. 1992. Medicinal Plants. First volume. Tehran University Press.