Archive of SID

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۹، پاییز ۱۳۹۴ / صفحات: ۴۱-۳۳

تاثیر نوع شاخه و فصل برداشت برگ بر روی برخی مواد ثانویه در ژنوتیپ‌های بومی زیتون در استان گلستان

ملیکه سادات عمرانی*[۱]، خدایار همتی[۲] و اسماعیل سیفی[۳]

[۱]کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۲] دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۳]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹٤/٦/۲۵ تاریخ پذیرش:۹٤/۹/٤

چکیده

زیتون درختی همیشه سبز و متعلق به خانواده‌ی Oleaceae می‌باشد. میوه و برگ‌های زیتون به‌دلیل داشتن مواد ثانویه مانند فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی حائز اهمیت هستند. هدف از انجام این پژوهش بررسی میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و اولئوروپین برگ ژنوتیپ‌های زیتون ۳ منطقه لیوان، نصرآباد و آزادشهر بر روی شاخه‌های رویشی و زایشی در فصول پائیز و بهار در استان گلستان بود. این پژوهش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که نوع شاخه، فصل و ژنوتیپ روی متغیرهای اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد و پنج درصد اثر معنی‌دار داشت. در بین ژنوتیپ‌های زیتون، ژنوتیپ آزادشهر و ژنوتیپ لیوان بیشترین میزان فنل کل و فلاونوئیدکل را به خود اختصاص دادند. هم‌چنین میزان آنتی اکسیدان و اولئوروپین در ژنوتیپ نصرآباد دارای بیشترین مقدار بود. برای مصارف دارویی بهترین زمان برداشت برگ‌ها از نظر دارا بودن حداکثر متابولیت‌های ثانویه، فصل بهار می‌باشد. در بررسی تاثیر محل برگ‌های زیتون، برگ‌های شاخه‌های زایشی از نظر داشتن فلاونوئید کل، آنتی اکسیدان و اولئوروپین دارای مقادیر بیشتر و برگ‌های شاخه‌های رویشی، دارای بالاترین مقدار فنل کل بودند.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، اولئوروپین، فلاونوئید کل، فنل کل، نوع شاخه

مقدمه

محصول یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی وقتی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد. در این راستا با انتخاب عوامل محیطی مناسب می‌توان به حداکثر مقدار محصول دست یافت. عوامل محیطی موثر بر رشد و عملکرد گیاه در ارتباط با اقلیم، خاک و گونه گیاهی است (امیدبیگی، ۱۳۸٤).

درخت زیتون، یکی از مهم‌ترین درختان میوه در کشورهای مدیترانه ای است (Ouni et al., 2012). برگ‌های زیتون به‌دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی حائز اهمیت هستند (Hansen et al., 1996). تحقیقات نشان داده است شش ترکیب فنلی اصلی در عصاره برگ زیتون وجود دارد، که شامل اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول، لوتئولین-۷-گلوکوزید، لوتئولین-٤-گلوکوزید، آپیجنین-۷-O-گلوکوزید و ورباسکوزید هستند. این ترکیبات همراه با ترکیبات

*نویسنده مسئول: mlk_em2000@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

دیگر در عصاره برگ زیتون یافت می‌شوند (Altiok et al., 2008). همچنین برگ‌های زیتون منابع مفید و ارزان اولئوروپین می‌باشند (Lujan et al., 2006). اولئوروپین دارای اثرات دارویی مفیدی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی (Andreadou et al., 2006)، اثر ضدالتهابی (Visioli et al., 1998)، مهار تجمع پلاکت‌ها (Petroni et al., 1995)، خاصیت ضدمیکروبی (Bisignano et al., 1999) و محافظت از نورون‌ها (Bazoti et al., 2006) می‌باشد. بسیاری از ویژگی‌های دارویی اولئوروپین، به‌دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی آن است (Al-azzawie and Alhamdani, 2006). همچنین اولئوروپین فراوان‌ترین (۲۹ درصد) سکوایریدوئید در عصاره خام برگ زیتون می‌باشد (Altiok et al., 2008). این ترکیب درمیوه‌های در حال توسعه نیز به مقدار فراوان یافت می‌شود، اما همزمان با بالغ شدن میوه‌ها غلظت آن به شدت کاهش می‌یابد (Malik and Bradford, 2006).

در گیاهان، فلاونوئیدها در گل و رنگدانه بذری، باروری گیاه و تولید مثل، و در واکنش‌های دفاعی مختلف برای دفاع در برابر تنش‌های غیرزنده مانند نور ماورابنفش و تنش‌های زنده مانند حمله عوامل بیماری‌زا نقش دارند (Forkman and Martens, 2001). در تحقیقی بر روی برگ ۸ رقم زیتون با اندازه گیری فنل کل، فلاونوئید کل، اولئوروپین و خاصیت آنتی اکسیدانی مشخص شد که اولئوروپین ترکیب عمده‌ی عصاره برگ در همه ارقام بود (Ben Salah et al., 2012). در پژوهش Vinha و همکاران (۲۰۰۵) نیز با اندازه‌گیری میزان اولئوروپین برگ‌ها و میوه‌های هفت واریته زیتون سوریه‌ای در فصول بهار و پاییز مشخص شد که مقدار اولئوروپین برگ‌ها در فصل بهار بیشتر از فصل پائیز می‌باشد.

هدف از انجام این پژوهش، استخراج ترکیبات فنلی کل از برگ روی شاخه‌های رویشی و برگ روی شاخه‌های زایشی زیتون و مقایسه مقادیر به‌دست آمده در دو فصل بهار و پائیز به منظور بررسی تاثیر فصل برداشت و اندام بر میزان متابولیت‌های ثانویه و دستیابی به مقادیر بیشتری ترکیبات فنلی کل بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۹۱ در دو فصل بهار و پائیز انجام شد. اطلاعات جغرافیایی با استفاده از GPS تهیه شد (جدول ۲). در این پژوهش از برگ‌های شاخه‌های رویشی و زایشی ژنوتیپ‌های زیتون از مناطق لیوان، نصرآباد و آزادشهر در فصول پائیز و بهار به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام گرفت. از آنجایی که این ژنوتیپ‌ها ناشناخته هستند بنابراین هر ژنوتیپ با اسم منطقه جمع‌آوری شده مشخص شده است. برگ‌های نزدیک میوه به عنوان برگ زایشی و برگ‌های انتهایی و دور از میوه به‌عنوان برگ‌های رویشی جمع آوری شدند. اطلاعات هواشناسی مناطق نمونه‌برداری شده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: اطلاعات هواشناسی مناطق نمونه‌برداری شده در سال ۱۳۹۱

مناطق	میانگین حداقل درجه حرارت هوا (درجه سانتی‌گراد)	میانگین حداکثر درجه حرارت هوا (درجه سانتی‌گراد)	میزان بارندگی سالیانه (میلی‌لیتر)
آزادشهر	۰/۵	۳۶/۶	۲۱۲/۶
نصرآباد	۱/۶	۳۵/۳	۵۶۴/۱
لیوان	۱/۴	۳۵/۰	۵۵۰/۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: اطلاعات جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری شده در سال ۱۳۹۱

مناطق	ارتفاع از سطح دریا (m)	عرض جغرافیایی (N°)	طول جغرافیایی (E°)
آزادشهر	۲٤۰	۳۷°۰٤′	۵۵°۱۰
نصرآباد	۱۰۸	۳٤°٤۹′	۵٤°۳۰′
لیوان	۲٦	۳٦°٤۵′	۵۳°۵۲′

عصاره گیری نمونه‌ها با استفاده از روش غرقابی انجام شد. به این ترتیب که یک گرم پودر گیاه در ده میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به‌مدت ۲٤ ساعت و در تاریکی روی شیکر قرار داده شد و سپس در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ده دقیقه سانتریفیوژ و سپس با کاغذ صافی، صاف شد و از عصاره بدست آمده برای اندازه گیری فنل کل، فلاونوئید کل، آنتی‌اکسیدان و اولئوروپین استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان فنل کل: برای اندازه‌گیری فنل کل، از روش Slinkard و Singleton (۱۹۷۷) استفاده شد. در این روش ابتدا ۲۰ میکرولیتر عصاره، ۱/۱٦ میلی‌لیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر فولین، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار مخلوط شدند و سپس لوله‌ها ۳۰ دقیقه در بن ماری دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد و جذب آن‌ها در طول موج ۷٦۰ نانومتر قرائت گشت. در شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید تهیه شد. این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شد و فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید (Gallic acid) در یک گرم برگ خشک بدست آمد.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل: برای محاسبه محتوای فلاونوئید از روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) با کمی تغییر استفاده شد. به این‌صورت که ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار (۲/٤۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره‌ی متانولی گشت. محلول حاصل ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس در طول موج ٤۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر عدد جذب قرائت شد. جهت رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های مختلف استاندارد کوئرسیتین استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH: به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش درصد مهار رادیکال‌های DPPH استفاده شد (Ebrahimzadeh et al., 2008). برای این منظور ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی، توسط اتانول به حجم یک میلی‌لیتر رسید و سپس با یک میلی‌لیتر DPPH ۰/۱ میلی‌مولار (٤ میلی‌گرم رادیکال در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول) مخلوط شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت گشت. برای شاهد از ۲۰ میکرولیتر متانول به جای عصاره متانولی و از اتانول به عنوان بلانک استفاده شد. فعالیت مهار رادیکال DPPH از فرمول درصد فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال ((AS/AC-۱) ۱۰۰=DPPH) محاسبه شد. در این معادله AC جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به‌عنوان کنترل، AS جذب DPPH به‌علاوه نمونه و از متانول به‌عنوان بلانک استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری اولئوروپین با استفاده از دستگاه HPLC: به‌منظور تعیین میزان اولئوروپین موجود در عصاره، از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. جهت آماده‌سازی نمونه، ۱ گرم برگ پودر شده با دقت هزارم توزین شده و در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (۱:۱۰) مخلوط و به‌مدت ۱۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ در ۳۵۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه بخش فوقانی محلول بعد از گذشتن از فیلتر سرنگی، به‌ظروف مخصوص HPLC منتقل شد و آماده تزریق به‌دستگاه شد.

فاز متحرک شامل یک میلی‌لیتر اسید استیک، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه شده و ۵۰ میلی‌لیتر متانول با سرعت جریان یک میلی لیتر در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بود. با مقایسه زمان تاخیر (مدت زمانی که طول می‌کشد تا ترکیب مورد نظر از ستون خارج شود)، و سطح زیر منحنی نمونه با نمونه‌های استاندارد، میزان اولئوروپین تعیین و در نهایت بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت. ترسیم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

بررسی نوع شاخه، فصل، ژنوتیپ و اثر متقابل آنها روی متغیرهای اندازه‌گیری شده: بر اساس جدول (۱)، (تجزیه واریانس)، نوع شاخه بر روی میزان فنل کل اثر معنی‌داری در سطح یک درصد و بر مقدار آنتی اکسیدان و اولئوروپین در سطح پنج درصد داشت. هم چنین بر میزان فلاونوئید کل فاقد اثر معنی‌دار بود. تیمار فصل نیز بر روی تمام متغیرهای اندازه گیری شده دارای اثر معنی‌دار در سطح یک درصد بود. اثر متقابل نوع شاخه و فصل برداشت، بر مقادیر فلاونوئید کل و آنتی اکسیدان در سطح یک درصد و بر میزان فنل کل و اولئوروپین در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. در اثر متقابل نوع شاخه و ژنوتیپ بر میزان فنل کل و فلاونوئید کل اثر معنی‌داری در سطح یک درصد و بر مقدار آنتی اکسیدان و اولئوروپین در سطح پنج درصد مشاهده شد. هم‌چنین در اثر متقابل فصل و ژنوتیپ تمام متغیرهای اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد دارای اثر معنی‌دار بود. در تقابل سه گانه تیمارها بر مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل و آنتی اکسیدان اثر معنی‌داری در سطح یک درصد و مقدار اولئوروپین در سطح پنج درصد مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس نوع شاخه، فصل، ژنوتیپ و اثر متقابل آنها روی متغیرهای اندازه‌گیری شده

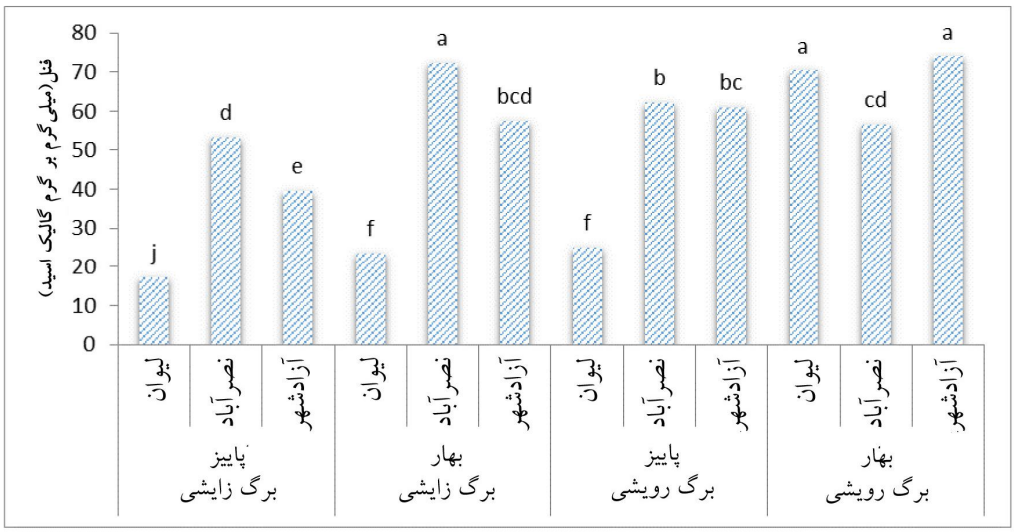
منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	فنل کل (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)	آنتی اکسیدان (درصد رادیکال آزاد)	اولئوروپین (میلی‌گرم درگرم وزن خشک)
نوع شاخه	۱	۱۸۲۳/۸۰**	۰/۰۰۰۲^{ns}	۲۰/۲۷*	۳۹۱۸/۸۹*
فصل	۱	۲۲۹۷/۷۰۵**	۳/۰۴۸**	۱۵۰۸/۳۵**	۶۰۹۹۲/۲۴**
ژنوتیپ	۲	۲۶۲۸/۰۸**	۰/۰۰۴^{ns}	۳۲۰/۵۴**	۱۲۷۹۶/۴۲**
نوع شاخه×فصل	۱	۲۴/۲۳*	۰/۰۴۴**	۹۳/۵۸**	۲۳۹/۸۱*
نوع شاخه×ژنوتیپ	۲	۷۵۷/۹۰**	۰/۰۲۷**	۲۸/۶۱*	۳۶۰۸/۱۳*
فصل×ژنوتیپ	۲	۲۷۴/۷۷**	۰/۱۰۳**	۲۱۸/۶۰**	۸۶۴۹/۳۴**
نوع شاخه×فصل×ژنوتیپ	۲	۷۹۰/۷۰۳**	۰/۰۴۳**	۳۷/۳۱**	۱۲۴۹/۷۴*
خطا	۲۴	۹/۵۱	۰/۰۰۵	۵/۵۸	۷۹۶/۴۷
ضریب تغییرات	–	۶/۰۳	۷/۴۴	۳/۰۱۰	۴/۲۱

* معنی‌دار شدن در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار شدن در سطح احتمال ۱ درصد، ns فاقد اثر معنی‌دار

www.SID.ir

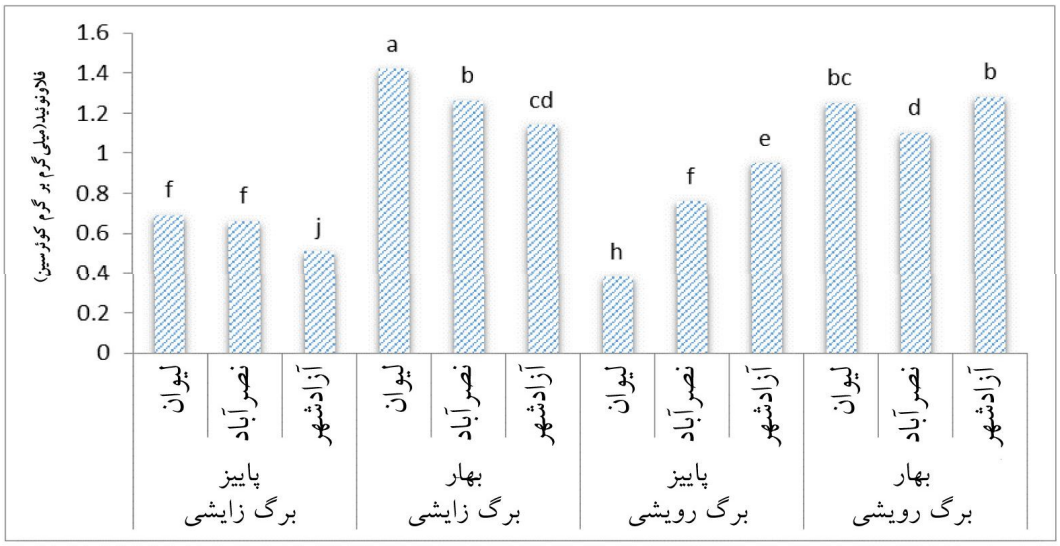
Archive of SID

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ برمیزان فنل کل: بیشترین میزان فنل کل (۷۳/۹۶ میلی گرم بر گرم گالیک اسید) با توجه به شکل ۱ مربوط به برگ‌ها روی شاخه‌های رویشی جمع آوری شده در فصل بهار و ژنوتیپ آزادشهر و کمترین میزان آن (۱۷/۲۶ میلی گرم بر گرم گالیک اسید) مربوط به برگ‌ها روی شاخه‌های زایشی جمع آوری شده در فصل پائیز و ژنوتیپ لیوان بود.



شکل۱: اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ برمیزان فنل کل

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ برمیزان فلاونوئید کل: طبق شکل ۲ بیشترین میزان فلاونوئید کل (۱/۴۲ میلی‌گرم بر گرم کوئرستین) مربوط به برگ‌ها روی شاخه‌های زایشی جمع‌آوری شده در فصل بهار و ژنوتیپ لیوان و کمترین میزان آن (۰/۳۸ میلی‌گرم بر گرم کوئرستین) مربوط به برگ‌ها روی شاخه‌های رویشی جمع‌آوری شده در فصل پائیز و ژنوتیپ لیوان بود.

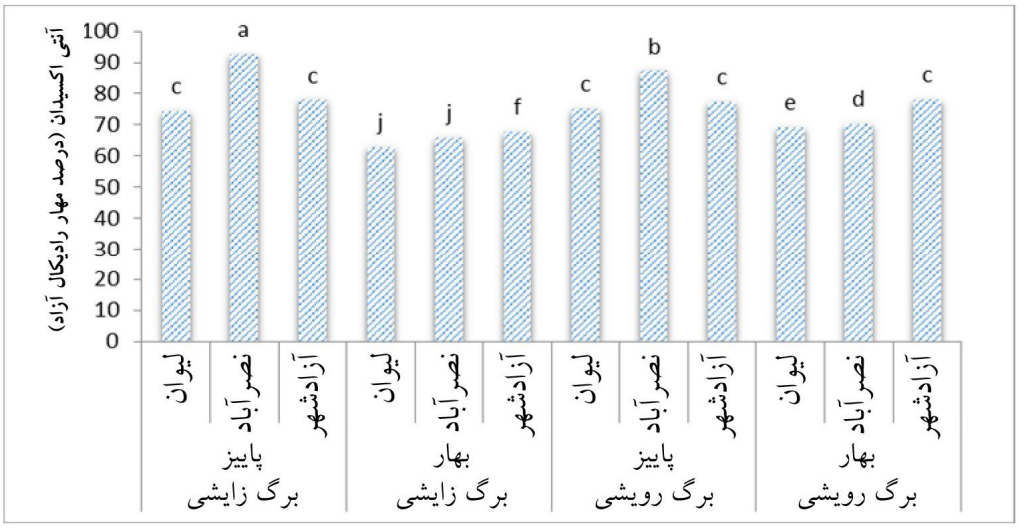


شکل۲: اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ بر میزان فلاونوئید کل

www.SID.ir

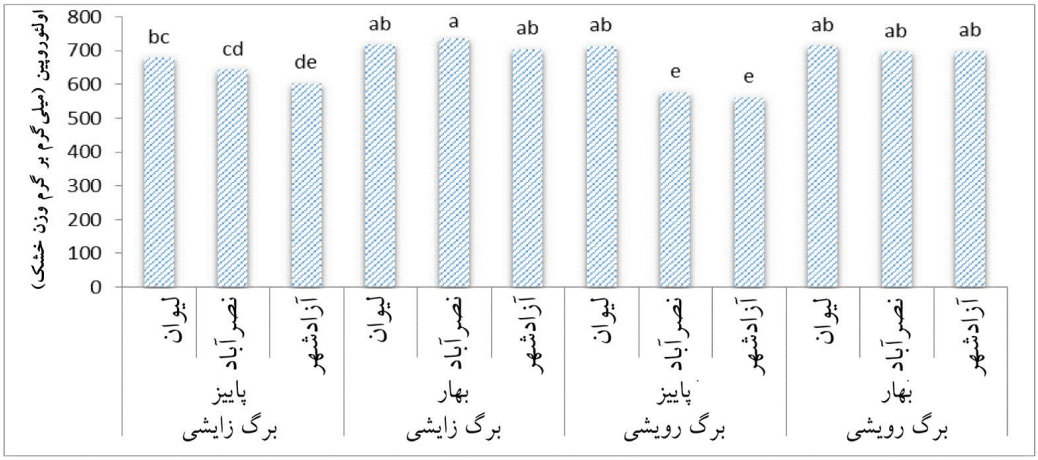
Archive of SID

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مکـان رویـش، فصل و ژنوتیپ برمیزان فعالیـت آنتـی اکسـیدانی: بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۲/۷۳ درصد) در برگ‌ها روی شاخه‌های زایشی فصل پائیز و مربوط به‌ژنوتیپ نصرآباد و کمترین میزان آن (٦٣ درصد) در برگ‌ها روی شاخه‌های زایشی فصل بهـار و ژنوتیـپ لیوان مشاهده شد (شکل ۳-۳).



شکل ۳: اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مکـان رویـش، فصل و ژنوتیپ برمیزان اولئـوروپین: بـا توجـه بـه شکل ٤ بالاترین میزان اولئوروپین (۷۳٦/۳٦ میلی‌گرم بـر گـرم وزن خشـک) مربـوط بـه بـرگ‌هـا روی شاخه‌های زایشی در فصل بهار و ژنوتیـپ نصـرآباد و کمترین میزان آن (٥٧٥/٢٤ میلـی‌گـرم بـر گـرم وزن خشک) مربوط به برگ‌ها روی شاخه‌های رویشـی در فصل پائیز و ژنوتیپ آزادشهر بود.



شکل ٤: اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ برمیزان اولئوروپین

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

اثر متقابل تیمارهای مکان رویش، فصل و ژنوتیپ برمیزان فنل کل: طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر میزان فنل کل نمونه‌های مورد مطالعه در ۳ منطقه مورد بررسی دو فصل بهار و پاییز متفاوت بود. تفاوت در میزان فنل کل فصول بهار و پائیز در برگ‌ها، نشان دهنده این است که مقدار فنل به زمان برداشت و همچنین تغییر در عوامل اقلیمی و آب و هوایی بستگی دارد.. در این راستا Malik و Bradford (۲۰۰۶) بیان داشتند ترکیبات فنلی برگ زیتون می‌تواند تحت تاثیر چندین عامل از جمله نوع رقم، منطقه جغرافیایی، شرایط نمونه‌برداری، محتوای رطوبت و روش استخراج قرار گیرد.

همچنین نتایج نشان داد محتوای فنل کل برگ بین ارقام مختلف زیتون کاملا متفاوت بود. ژنوتیپ و شرایط رشدی از طریق تاثیر بر کمیت و نوع ترکیب‌های فنلی کل می‌توانند به این تفاوت کمک کنند (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۰). در تحقیقی مشخص شد میزان ترکیب‌های فنلی کل در ارقام ایتالیایی زیتون به‌طور گسترده ای به مکان رویش و شاخص بلوغ زیتون بستگی دارد (Combe et al., 2009). تحقیقات نشان داده است میزان ترکیبات فنلی در بروز بیماری‌های مربوط به آفات و حشرات تغییر می یابد. در این تحقیق مشخص شد که زیتون‌های منطقه لیوان در پائیز ۹۱ دچار آفت مگس زیتون شده بودند و یکی از دلایل کاهش چشمگیر در میزان فنل برگ‌های نزدیک به میوه ممکن است به دلیل وجود این آفت باشد. کاهش مقدار فنل در رابطه با صدمات مگس زیتون در پژوهش Pereira و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد ترکیبات فلاونوئیدی تحت تاثیر مکان رویش فصل و ژنوتیپ تغییر معنی داری یافت.تحقیقات نشان داده است که ترکیبات فنلی و مشتقات آنها می توانند توسط عوامل مختلف مانند رقم، شرایط آب و هوایی، درجه بلوغ و شیوه‌های زراعی تحت تاثیر قرار گیرند (Ranalli et al., 2006).

طبق نتایج بدست آمده میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی نیز تحت تاثیر زمان، محل و نوع ژنوتیپ تغییرات قابل ملاحظه ای داشت. گزارش شده است میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی مانند فنل کل، فلاونوئید کل و خصوصیات آنتی اکسیدانی آن‌ها به عوامل متعددی از قبیل آب و هوا، گونه، روش استخراج و روش اندازه‌گیری آنتی اکسیدان بستگی دارد (Baiano et al., 2009). در این راستا اعلام شده است محل کشت زیتون اثر قابل توجهی بر محتوای آنتی اکسیدانی آن از جمله ترکیبات فنلی دارد (Peer and Murphy, 2007). همچنین در مورد ریشه گیاه شیرین بیان نیز با بررسی تاثیر زمان برداشت بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ریشه‌ها با زمان برداشت تغییر کردند (Lujan et al., 2006).

مطابق با نتایج بدست آمده میزان اولئوروپین برگ‌های زیتون در هر سه منطقه در فصل بهار افزایش یافت. گزارش شده است میزان اولئوروپین برگ‌های زیتون در مناطق شمالی و جنوبی کشور از مقدار بالایی برخوردار است (Ansari et al., 2010). همچنین در پژوهشی اثر سن ،رنگ برگ (سبز، سبز-زرد و زرد) و ژنتیک بر میزان اولئوروپین هفت رقم زیتون ایتالیایی در دو زمان برداشت بهار و پائیز بررسی شد. بر اساس نتایج تحقیق فوق اعلام گشت که میزان اولئوروپین به شدت تحت تاثیر ژنتیک و سن برگ قرار دارد (Singh and Agarwal, 2008). از سوی دیگر Servili و همکاران (۱۹۹۹) افزایش مشتقات آگلیکون اولئوروپین و کاهش تیروزول را در درخت‌های زیتون تحت تنش آب بیان کردند. طبق

www.SID.ir

Archive of SID

اطلاعات هواشناسی در پژوهش حاضر منطقه آزادشهر با متوسط بارش ۲۱۲/٦ میلی‌متر در سال نسبت به دو منطقه دیگر خشک‌تر می باشد. در این رابطه به نظر می‌رسد خشکی می تواند یکی از دلایل افزایش اولئوروپین در این منطقه طی فصول بهار و پائیز باشد.

Servili و همکاران (۱۹۹۹) افزایش مشتقات آگلیکون اولئوروپین و کاهش تیروزول را در درخت‌های زیتون تحت تنش آب بیان کردند. منطقه آزادشهر با متوسط بارش ۲۱۲/٦ میلی‌متر در سال نسبت به دو منطقه دیگر خشک‌ترین منطقه می‌باشد و خشکی می‌تواند یکی از دلایل اولئوروپین بالا در این منطقه طی فصول بهار و پائیز باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

طبق نتایج بدست آمده در بین ژنوتیپ‌های زیتون، ژنوتیپ آزادشهر و ژنوتیپ لیوان بیشترین میزان فنل کل و فلاونوئیدکل را به خود اختصاص داد. هم‌چنین مقادیر آنتی اکسیدان و اولئوروپین در ژنوتیپ نصرآباد دارای بیشترین مقدار بود. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد برای مصارف دارویی بهترین زمان برداشت برگ‌ها از نظر دارا بودن حداکثر متابولیت‌های ثانویه، فصل بهار می‌باشد. در بررسی تاثیر محل برگ‌های زیتون نیز، برگ‌ها روی شاخه‌های زایشی از نظر داشتن فلاونوئید کل، آنتی‌اکسیدان و اولئوروپین بیشترین مقدار و برگ‌ها روی شاخه‌های رویشی، بالاترین مقدار فنل کل را دارا بودند.

منابع

امیدبیگی، ر. (۱۳۸٤). تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد اول. صفحه ۳٤۷.

رفیعی، ز، جعفری، م، اعلمی، م، خمیری، م. (۱۳۹۰). ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتاب گردان. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی. جلد۲۱. شماره ۱. صفحات ۲۱-۱۰.

Al-Azzawie, H.F. and Alhamdani, M.S. (2006). Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. Life Science. 78: 1371-1377.

Altiok, E., Baycin, D., Bayraktar, O. and Ulku, S. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. Separation and Purification Technology. 62: 342-348.

Ansari, M., Kazemipour, M. and Fathi, S. (2010). Development of simple green extraction procedure and HPLC method for determination of oleuropein in olive leaf extract applied to a multi-source comparative study. Journal Iranian Chemical Society. 8 (1): 38-47.

Andreadou, I., Iliodromitis, E.K., Mikros, E., Constantinou, M., Agalias, A., Magiatis, P., Skaltsounis, A.L., Kamber, E., Tsantili-Kakoulidou, A. and Kremastinos, D.T. (2006). The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. Journal Nutrition. 136: 2213-2219.

Baiano, A., Gambacorta, G., Terracone, M. A., Previtali, C. Lamacchia, C. and Lamotte, E. (2009). Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. Food Science. 74 (2): 177-183.

Bazoti, F.N., Bergquist, J., Markides, K. and Tsarbopoulos, A. (2006). Noncovalent interaction between amyloid-b-peptide (1-40) and oleuropein studied by electrospray ionization mass spectrometry. Journal of the American Society for Mass Spectrometry.17: 568-575.

Ben Salah, M., Abdelmelek, H. and Abderraba, M. (2012). Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. Medicinal Chemistry. 2(5):107-111.

Bisignano, G., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Crisafi, G., Uccella, N. and Saija, A. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 51: 971-974.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food and Drug Analysis. 10: 178-82.

Combe, A., Castera, A., Lecomte, J. and Villeneuve, P. (2009). Characterization of Olive-Leaf phenolics by ESI-MS and evaluation of their antioxidant capacities by the CAT assay. Journal of the American Oil Chemists' Society. 86: 1215-1225.

Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J. and Hamidinia, A. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacology Online, 1: 7-14.

Forkman G. and Martens, S. (2001). Metabolic engineering and applications of flavonoids. Current Opinion in Biotechnology. 12: 155-160.

Hansen, K., Adsersen, A., Christensen, B.S., Brooegger, S., Rosendal, J.S., Nyman, U. and Wagner Smitt, U. (1996). Isolation of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor from *Oleaeuropaea* and *olealancea*. Phytomedicine. 2:319-324.

Lujan, R.J., Rodriguez, J.M.L. and Castro, M.D.L. (2006). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. Journal of chromatography A. 1108: 76-82.

Malik, N.S.A. and Bradford, J.M. (2006). Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in a Arbeqtunaolives. Scientia Hort. 110: 274-278.

Ouni, Y., Taamalli, A., Guerfel, M., Abdelly, C., Zarrouk, M. and Flamini, G. (2012). The phenolic compounds and compositional quality of chetoui virgin olive oil: effect of altitude. African Journal of Biotechnology. 11(55): 11842-11850.

Peer, W.A. and Murphy, A.S. (2007). Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? Trends Plant Science. 12:556-563.

Pereira, D.M., Valento, P.J., Pereira, A. and Andrade, P.B. (2010). Phenolics: From chemistry to biology. Molecules. 14: 2202-2211.

Petroni, A., Blasevich, M., Salami, M., Papini, N., Montedoro, G.F. and galli, C. (1995). Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. Thrombosis Research. 78: 151-160.

Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Febo, M. D., Marchegiani, D. and Fonzo, V. D. (2006). Factors affecting the contents of iridoidoleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54 (2): 434-440.

Servili, M., Baldioli, M., Selvaggini, R., Macchioni, A. and Montedoro, G. (1999). Phenolic compounds of olive fruit: one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance characterization of Nuzhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 12–18.

Singh, RP., Gu, M. and Agarwal, R. (2008). Silibinin inhibits colorectal cancer growth by inhibiting tumor cell proliferation and angiogenesis. Cancer Research. 68:2043-2050.

Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977). Total phenolic analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Encology and Viticulture. 28: 49-55.

Vinha, A.F., Ferreres, F., Silva, B.M., Valentao, P., Gonkalves, A. and Pereira, J.A. (2005). Phenolic profiles of purtoguese olive fruit: Influences of cultivar and geographical orgin. Food Chemistry. 89:561-568.

Visioli, F., Bellosta, S. and Galli, C. (1998). Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. Life Science. 62: 541-546.

www.SID.ir