

شناسایی و ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی تعدادی از گونه‌های ولیک (*Crataegus* spp.) در ایران

Identification and Evaluation of Morphological and Phytochemical Characteristics in Some Hawthorn (*Crataegus* spp.) Species in Iran

علی کوه‌خیل^۱، حمید حاتمی‌ملکی^{۲*} و ابوالفضل علیرضالو^۳

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۸/۱۶

چکیده

ولیک، نام عمومی گونه‌های گیاهی موجود در جنس *Crataegus* spp. متعلق به خانواده Rosaceae، گیاهی باغی با خواص دارویی می‌باشد. در این تحقیق، گونه‌های مختلف ولیک شامل *Crataegus meyeri*، *Crataegus monogyna* و *Crataegus pentagyna pseudoheterophylla* در منطقه طالقان واقع در استان البرز شناسایی شدند و سپس براساس خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی ارزیابی گردیدند. نتایج تجزیه واریانس با استفاده از صفات مورفولوژیک شامل طول برگ، عرض برگ، نسبت طول به عرض برگ، طول میوه، قطر میوه، نسبت طول به قطر میوه و وزن هزار دانه نشان داد که ژرم پلاسما متنوعی از گیاه ولیک در ایران وجود داشته و بین گونه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد. از نظر تمامی صفات مورفولوژیک مورد مطالعه به جز صفات نسبت طول به عرض برگ و نسبت طول به قطر میوه، گونه *C. pontica* دارای مقادیر حداکثر بود. بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر ترکیبات فیتوشیمیایی نیز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید. از میان گونه‌های مورد مطالعه، گونه‌های *C. meyeri*، *C. pentagyna* و *C. pseudoheterophylla* دارای درصد قابل توجهی از ترکیبات فنولی، تاننی و فلاونوئید روتین بودند. نتایج نشان داد که ارزیابی ترکیبات فیتوشیمیایی می‌تواند راهکاری مناسب برای تشخیص گونه‌های دارای اولویت دارویی در این جنس باشد.

واژه‌های کلیدی: فنول، تانن، فلاونوئیدروتین، ژرم پلاسما، Rosaceae

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۳. استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email: hatamimaleki@maragheh.ac.ir

*: نویسنده مسئول

مقدمه

اوقلو^۷ و همکاران (2004) و دنمز (2007) به اثبات رسیده است. در مطالعه‌ای که توسط یانار^۸ و همکاران (2011) انجام شد، تنوع ژنتیکی قابل‌ملاحظه‌ای براساس خصوصیات مختلف از قبیل وزن، طول و عرض میوه و ارتفاع گیاه مشاهده گردید.

میوه‌ها، برگ‌ها و گل‌های ولیک دارای شماری از ترکیبات ثانویه شیمیایی مانند، فلاونوئیدها، الیگومریک پروسیانیدین‌ها، تری‌ترین اسیدها، اسیدهای ارگانیک، استرول‌ها و مقدار کمی از آمین‌های فعال‌کننده تحرکات قلبی می‌باشد. از بین این ترکیبات فلاونوئیدها و الیگومریک پروسیانیدین‌ها به‌عنوان دو گروه اصلی مواد فعال زیستی محسوب می‌شوند که بسیاری از محصولاتی که از ولیک‌ها ساخته می‌شوند، براساس کمیت و کیفیت همین ترکیبات استانداردسازی و کنترل کیفیت می‌شوند (چانگ و همکاران، 2002). از عمده‌ترین ترکیبات فلاونوئیدی گیاه دارویی ولیک می‌توان به فلاونوئیدهای روتین، هیپروریزید، ویتکسین، ویتکسین رامنوز و پروسیانیدین‌های الیگومریک (دهیدروکتکین‌ها، کتکین‌ها و اپی‌کتکین‌ها) اشاره نمود (تریسی و کینگستون^۹، 2007). در بررسی‌هایی که در کشور ترکیه بر روی گونه‌های مختلف ولیک انجام گرفته، مشخص شده است که گل و برگ گونه‌های *Crataegus* *microphylla* و *Crataegus stevenii* دارای بیشترین محتوای فلاونوئیدی هستند (مریسی و ملیک اوقلو^{۱۰}، 2002). نتایج پژوهش دیگری نشان داده که میزان فنل کل، فلاونوئید و پروآنتوسیانیدین در دو وارپته از گونه *Crataegus azarolus* دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد (به‌ری ساهلول^{۱۱}، 2009). با توجه به این‌که کشور ایران به‌علت شرایط اقلیمی خاص به‌عنوان یکی از مناطق پراکنش گونه‌های مختلف ولیک محسوب می‌شود، این پژوهش با هدف جمع‌آوری و شناسایی گونه‌های مختلف ولیک و سپس بررسی تنوع آنها براساس صفات مختلف مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این تحقیق در منطقه طالقان واقع در غرب استان البرز به‌عنوان یکی از رویشگاه‌های گیاه ولیک در ایران، انجام گرفت. نمونه‌های گل و برگ در مرحله تمام گل، یعنی از اوایل تا اواسط اردیبهشت ماه و نمونه‌های میوه در مرحله رسیدن کامل

ولیک نام عمومی گونه‌های گیاهی جنس *Crataegus* spp. متعلق به خانواده گل سرخ (Rosaceae) است. درختچه‌ها یا درختان کوچک کم و بیش خاردار هستند که دارای برگ‌های سبز و روشن، گل‌های سفید یا صورتی رنگ بر روی گل‌آذین دیهیم می‌باشند. میوه‌ها کروی تا بیضوی، قرمز، زرد، ارغوانی و یا سیاه‌رنگ می‌باشند که هر میوه (بسته به گونه) حاوی ۱، ۳ یا ۵ عدد بذر است (چانگ^۱ و همکاران، 2002). جنس *Crataegus* دارای حدود ۲۰۰ الی ۱۲۰۰ گونه در سراسر جهان است (کریستنسن^۲، 1984). این جنس عضوی از زیرخانواده Maloideae می‌باشد که با جنس‌های *Mespilus*، *Pyracantha* و *Hesperomeles* ارتباط نزدیکی دارد. یکی از مراکز تنوع ژنتیکی اصلی این جنس منطقه‌ای وسیع از ترکیه تا ایران است (دنمز^۳، 2004). براساس آخرین مطالعات تاکسونومیک، جنس *Crataegus* در ایران دارای ۲۲ گونه و ۵ هیبرید می‌باشد (خاتم ساز^۴، 1992). گونه‌های مختلف جنس *Crataegus* بسته به رنگ میوه، «سرخ ولیک»، «سیاه ولیک» و یا «زرد ولیک» نامیده می‌شوند ولی نام محلی آن‌ها در هر یک از مناطق کشور متفاوت است. با توجه به این‌که بسیاری از خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاهان دارویی تحت تأثیر 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 (امیدباگی^۵، 2007). گزارشات کمی در مورد بررسی تنوع گونه‌های مختلف ولیک از نظر خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی وجود دارد. در مطالعه‌ای، خصوصیات گیاه‌شناسی، مورفولوژیک و فیتوشیمیایی دو گونه از گیاه ولیک مورد مطالعه قرار گرفت و اختلافاتی در خصوصیات ظاهری و میکروسکوپی این دو گونه مشاهده گردید (قاسمی دهکردی^۶ و همکاران، ۱۳۷۵). در مطالعات فیتوشیمیایی حضور فلاونوئیدهای روتین و هیپروریزید و همچنین اسید کلروژنیک به کمک کروماتوگرافی لایه نازک در این گیاهان مشخص شد که نشان‌دهنده پتانسیل موجود در آن‌ها برای تولید دارو می‌باشد (قاسمی دهکردی و همکاران، ۱۳۷۵). وجود تنوع مورفولوژیکی در بین گونه‌های مختلف ولیک جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ترکیه نیز توسط تورک

7. Turkoglu
8. Yanar
9. Tracy and Kingston
10. Mercili and Melikoglu
11. Bahri-Sahloul

1. Chang
2. Christensen
3. Donmez
4. Khatamsaz
5. Omidbaigi
6. Ghasemi Dehkordi

۲/۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد 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 اندازه‌گیری TEPH^۴ (کل ترکیبات فنلی قابل استخراج) و TET^۵ (کل تانن قابل استخراج) و تهیه محلول استاندارد، به طور همزمان انجام گردید. پس از نگهداری لوله‌های آزمایش به مدت ۳۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه، برای اندازه‌گیری 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.

یعنی از اواسط تا اواخر مهر ماه جمع‌آوری گردیدند. نمونه‌های هرباریومی تهیه شده از گل، برگ و میوه، با استفاده از نکات درج شده در فلورهای موجود در بخش هرباریوم گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفتند و گونه‌های *Crataegus monogyna* (سرخ ولیک)، *Crataegus meyeri*، *Crataegus pentagyna*، *Crataegus pseudoheterophylla* (سیاه ولیک) و *Crataegus pontica* (زرد ولیک) در این منطقه شناسایی شدند.

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 اندازه‌گیری گردیدند.

خصوصیات فیتوشیمیایی

ترکیبات فنولی و تانن کل: ترکیبات فنلی و تانن کل با استفاده از روش ماکار^۱ (2003) تعیین گردید. به منظور استخراج و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و تانن کل، نمونه‌های گل را که قبلاً در درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ 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 آرامی تکان داده شد و سپس در دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس عصاره استونی حاصله جهت اندازه‌گیری 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 ۱ مولار و ۲/۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. 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 PVP^۳ (پلی‌وینیل پلی پیرولیدون) اضافه شد. مخلوط فوق را به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره شفاف آن را در لوله آزمایش ریخته (سه تکرار) و به آن ۰/۹ میلی لیتر آب مقطر، ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین شیکالتو و

4. Total Extractable Phenols
5. Total Extractable Tannin

1. Makkar
2. Folin ciocalteu
3. Poly Vinyl Pyrrolidone

غلظت ترکیبات فنولی قابل استخراج نمونه (میلی گرم)

$$100 \times \frac{\text{وزن خشک نمونه (میلی گرم)}}{\text{درصد ترکیبات فنولی قابل استخراج نمونه}}$$
 میزان تانن کل (میلی گرم در هر گرم ماده خشک) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

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

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

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 میلی گرم، $\%Rutin = a.v/v.m$
 V: حجم نهایی حاصل از عصاره‌گیری برحسب میلی لیتر،
 v: حجم تزریق از نمونه موردنظر برحسب میلی لیتر،
 m: وزن گیاه خشک مصرفی جهت عصاره‌گیری به میلی گرم، می‌باشند.

تجزیه‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به ۵ گونه مختلف در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط نرم‌افزار MSTAT-C انجام گرفت.

نتایج و بحث

خصوصیات مورفولوژیکی

نتایج این تحقیق نشان داد که کلیه صفات مورد بررسی تحت تأثیر نوع گونه 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 ۱ درصد دیده شد (جدول ۱). وجود تنوع در صفات مختلف میوه توسط *یانار* و همکاران (2011) نیز گزارش شده است. در تحقیقی، کریستنسن (1984) نشان داده که خصوصیات مورفولوژیک برگ شامل طول، عرض، نسبت طول به عرض و

فلاونوئید روتین: استخراج و اندازه‌گیری فلاونوئید روتین مطابق با روش به‌کار گرفته شده توسط همتی^۱ و همکاران (۱۳۸۶) در گیاه ولیک و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام گرفت. بدین منظور، پس از پودر نمودن نمونه‌های گل مربوط به هر یک از گونه‌ها، مقدار ۲ گرم از نمونه‌های هر گونه به‌طور جداگانه درون لوله‌های آزمایش درب دار ریخته شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد به هر یک از لوله‌های آزمایش اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در داخل حمام آبی با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. پس از این مرحله، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه و در شرایط تاریک قرار گرفتند. سپس محتویات درون هر یک از لوله‌ها را از کاغذ صافی عبور داده و حجم عصاره اندازه‌گیری شده و عصاره‌ها تا زمان تزریق به دستگاه HPLC در محلی خنک و تاریک نگهداری شدند.

به‌منظور 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 سی‌سی DMSO توسط متانول به حجم ۲۵ سی‌سی رسانده شدند. بدین ترتیب محلول‌های استاندارد با غلظت ۲ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد که از آن‌ها برای رسم منحنی کالیبراسیون دستگاه HPLC استفاده گردید. دستگاه HPLC مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت واترز بود که از مشخصات آن می‌توان وجود دو عدد پمپ Waters 510، دستگاه تزریق Waters U6K، آشکارساز Waters 480، ستون میکروبانند اپاک ۱۰ $4.6 \times 300 \text{ mm C18}$ - $4.6 \mu\text{m}$ طول موج 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

نسبت طول به عرض برگ (۱/۸۰) مربوط به گونه *C. pentagyna* و کمترین مقدار آن (۱/۰۳) به گونه *C. monogyna* تعلق داشت (جدول ۲). از نظر صفات مورفولوژیکی مربوط به میوه، بیشترین مقدار طول و قطر میوه (به ترتیب ۱۵/۰۰ و ۱۸/۳۲ میلی‌متر) متعلق به گونه *C. pontica* و کمترین مقدار این دو صفت (به ترتیب ۹/۸۸ و ۸/۴۹ میلی‌متر) مربوط به گونه *C. monogyna* بودند (جدول ۲). همچنین بیشترین نسبت طول به قطر میوه (۱/۱۶) مربوط به گونه *C. monogyna* و کمترین نسبت طول به قطر میوه (۰/۸۱) مربوط به گونه *C. pontica* می‌باشد (جدول ۲).

تعداد بریدگی‌های برگ در تعدادی از گونه‌های ولیک و در دو منطقه آب و هوایی یونان و یوگسلاوی متفاوت است. بنابراین هر دو عامل ژنوتیپ و اقلیم بر مورفولوژی نهایی برگ‌ها تأثیرگذار می‌باشند. میانگین گونه‌ها از لحاظ صفات مورفولوژیک مورد مطالعه نشان داد که از نظر صفات مربوط به برگ، بیشترین مقدار طول برگ (۳/۸۹ سانتی‌متر) مربوط به گونه *C. pontica* و کمترین مقدار آن (۲/۰۴ سانتی‌متر) مربوط به گونه *C. monogyna* است (جدول ۲). از نظر عرض برگ بیشترین مقدار (۳/۷۱ سانتی‌متر) مربوط به گونه *C. pontica* و کمترین مقدار (۱/۸۰ سانتی‌متر) مربوط به گونه *C. pseudoheterophylla* می‌باشد. همچنین بیشترین مقدار

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در گونه‌های مورد مطالعه ولیک

Table 1: Results of analysis of variance for morphological characteristics in studied species of hawthorn

میانگین مربعات (Mean of squares)								درجه	منابع تغییرات
وزن هزار دانه	نسبت طول به قطر میوه	قطر میوه	طول میوه	نسبت طول به عرض برگ	عرض برگ	طول برگ	آزادی	Source of variation	
1000 seed weight	Fruit length/Fruit diameter	Fruit diameter	Fruit length	Leaf length/Leaf width	Leaf width	Leaf length	Degree of freedom		
3862.40**	0.06**	2.76**	2.78**	2.70**	0.17*	1.61**	4	گونه	
7.20	0.00	0.17	0.16	0.15	0.04	0.04	10	خطا	
2.1	6.1	13.8	13.5	12.9	7.8	7.5		ضریب تغییرات CV%	

* و ** به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشند.

* and **: significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های صفات مورفولوژیک در گونه‌های مورد مطالعه ولیک

Table 2: Mean comparison of studied species of hawthorn based on morphological characteristics

وزن هزار دانه	نسبت طول به قطر میوه	قطر میوه	طول میوه	نسبت طول به عرض برگ		طول برگ	گونه
				عرض برگ	نسبت طول به عرض برگ		
1000 seed weight	Fruit length/Fruit diameter	Fruit diameter	Fruit length	Leaf width	Leaf length/Leaf width	Leaf length	Species
118.17 ^c	0.99 ^a	11.27 ^{ab}	11.26 ^{bc}	2.05 ^b	1.37 ^{ab}	2.83 ^{bc}	<i>C. meyeri</i>
181.33 ^a	0.81 ^b	18.32 ^a	15.00 ^a	3.71 ^a	1.04 ^c	3.89 ^a	<i>C. pontica</i>
86.66 ^c	1.12 ^a	10.63 ^{bc}	12.02 ^{ab}	1.84 ^b	1.80 ^{ab}	3.22 ^b	<i>C. pentagyna</i>
134.67 ^b	1.16 ^a	8.49 ^c	9.88 ^c	1.03 ^c	1.97 ^b	2.04 ^d	<i>C. monogyna</i>
105.83 ^d	1.14 ^a	8.79 ^c	9.99 ^c	1.80 ^b	1.28 ^{bc}	2.33 ^{cd}	<i>C. pseudoheterophylla</i>

برای هر صفت، میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند
For each trait, means having at least a same letter are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 1% level of probability

میوه برای گونه‌های *C. meyeri*، *C. aronia*، *C. orientalis*، *C. pontica* و *C. tanacetifolia* به ترتیب ۱۷/۳، ۱۵/۲، ۱۲/۵، ۲۰/۲ و ۱۶/۶ میلی‌متر به دست آمد که تاحدودی در توافق با طول میوه گزارش شده برای گونه‌های *C. pontica* و *C. meyeri* در این تحقیق می‌باشد. در آزمایش دیگری، تورک

گونه‌های مختلف ولیک به‌طور معمول توسط اندازه‌های مختلف میوه‌هایشان شناخته می‌شوند. در مطالعه‌ای که توسط *Balta*^۱ و همکاران (2006) انجام شد، میانگین طول

اوقلو (2004) میانگین طول میوه را برای گونه *C. monogyna*، ۱۱/۰۵ میلی‌متر برآورد نمودند که بیشتر از مقدار به‌دست آمده برای این گونه در تحقیق حاضر است. برخلاف نتایج این تحقیق، *بالتا* و همکاران (2006) قطر میوه را برای دو گونه *C. meyeri* و *pontica* به ترتیب ۱۹/۴ و ۱۵/۲ میلی‌متر گزارش نمودند. قطر میوه برای گونه *C. monogyna* توسط *ابسو و هررا*^۱ (1994)، ۷ تا ۱۰ میلی‌متر و توسط *همپ*^۲ (2003)، ۱۰ میلی‌متر گزارش گردیده که در توافق با نتایج تحقیق حاضر می‌باشند. نسبت طول به قطر میوه برای دو گونه *C. pontica* و *C. meyeri* به ترتیب ۰/۸۶ و ۰/۸۲ میلی‌متر گزارش شده (*بالتا* و همکاران، 2006) که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق و برای این دو گونه متفاوت است. در این تحقیق، بیشترین میزان وزن هزار دانه (۱۸۱/۳۳ گرم) مربوط به گونه *C. pontica* و کمترین میزان (۸۶/۶۶ گرم) مربوط به گونه *C. pentagyna* می‌باشد (جدول ۲). بنابراین نوع گونه می‌تواند بر وزن هزار دانه این گیاه مؤثر باشد.

خصوصیات فیتوشیمیایی

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

نتایج مقایسه میانگین‌های درصد ترکیبات فنولی قابل استخراج در گونه‌های مورد مطالعه هم نشان داد که گونه *C. meyeri* دارای بیشترین درصد ترکیبات فنولی قابل استخراج (۱۱/۸۶ درصد) و گونه‌های *C. monogyna* و *C. pontica* دارای کمترین درصد این ترکیبات (به ترتیب ۸/۲۵ درصد و ۷/۵۳ درصد) هستند (جدول ۴). اثرات دارویی گونه‌های جنس *Crataegus* به صورت عمده با میزان ترکیبات فنولیکی آن‌ها در ارتباط است. ترکیب نهایی فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی در گیاهان به واسطه هر دو فاکتور ژنتیکی و محیطی مشخص می‌شود (*اوربناویسیوت*^۳ و همکاران، 2006). در تحقیقی *کراکوزیان*^۴ و همکاران (2004) نشان دادند که کاربرد تنش‌های محیطی از قبیل خشکی و سرما موجب افزایش مواد پلی‌فنولی از جمله فلاونوئیدها در برگ‌های گونه‌های *C. monogyna* و *C. laevigata* می‌شود. این نتایج نشان داده‌اند که در مکان‌هایی که گونه‌های ولیک تحت تأثیر چنین تنش‌هایی قرار دارند، مواد مؤثره موجود در اندام‌های

مختلف گیاه، به‌ویژه گل‌ها و برگ‌ها افزایش می‌یابد و از این‌رو خواص دارویی آن‌ها نیز برای تولید انواع داروها بهبود می‌یابد (*کراکوزیان* و همکاران، 2004). بنابراین در اقلیم‌هایی مانند منطقه طالقان که دارای آب و هوای نسبتاً سرد و تنش‌زا می‌باشد، بالا بودن میزان ترکیبات فنولی موجود در نمونه‌های گل و برگ این گونه‌ها مورد انتظار است. از نظر مقدار تانن کل، بیشترین مقدار (۷/۹۰ درصد) برای گونه *C. pseudoheterophylla* به‌دست آمد (جدول ۴). گونه‌های *C. pentagyna*، *C. monogyna*، *C. pontica*، *C. meyeri* نیز به ترتیب دارای مقادیر ۶/۰۹، ۵/۲۹، ۵/۳۸ و ۶/۶۹ درصد بودند (جدول ۴). همان‌طور که در بسیاری از منابع ذکر شده است قسمت اعظم تانن موجود در گونه‌های جنس *Crataegus* را تانن‌های متراکم تشکیل می‌دهند (*چانگ* و همکاران، 2002 و *یائو*^۵ و همکاران، 2008). برخی از مطالعات نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی و درمان بیماری‌های قلبی را در ولیک‌ها به مواد فنولی و تانن‌های متراکم نسبت می‌دهند (*کراکوزیان* و همکاران، 2004). در نتیجه هر گونه‌ای که درصد بالاتری از تانن‌ها را به‌خود اختصاص دهد، احتمالاً دارای اثرات درمانی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجه‌تری می‌باشد. مقایسات میانگین نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه تفاوت محسوسی از نظر وجود فلاونوئید روتین وجود دارد. بالاترین میزان عملکرد فلاونوئید روتین (۰/۹ درصد) در گونه *C. pentagyna* و کمترین عملکرد آن (۰/۲۵ درصد) در گونه *C. pseudoheterophylla* می‌باشد (جدول ۴). در بیشتر مطالعاتی که بر روی گونه‌های مختلف جنس *Crataegus* انجام گرفته است، از گونه‌های *C. monogyna* و *C. laevigata* به‌عنوان بهترین منابع تولید فلاونوئیدها و از گونه‌هایی چون *C. pentagyna* به‌عنوان منابع محدودتر تولید فلاونوئیدها نام برده شده است (*یائو* و همکاران، 2008 و *راوندنیس*^۶ و همکاران، 2009). حال آن‌که، نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *C. pentagyna* دارای ظرفیت فلاونوئیدی بیشتری نسبت به گونه *C. monogyna* می‌باشد. مقدار فلاونوئیدها روتین موجود در نمونه‌های مورد مطالعه در این بررسی به مراتب بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط *همتی* و همکاران (۱۳۸۶) می‌باشد که در دو منطقه گرم و مرطوب شمال کشور انجام گرفته است که این می‌تواند ناشی از تأثیر برخی از عوامل اقلیمی بر تولید فلاونوئید روتین در این گیاه باشد. چنانچه تحقیقات انجام شده توسط *داویس و آلبریگو*^۷ (1994) بر روی برخی فلاونوئیدهای مرکبات

1. Obeso and Herrera
2. Hampe
3. Urbonaviciute
4. Kirakosyan

5. Yao

6. Raudonis

7. Davise and Albrigo

دارد که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی این جنس مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به این که در بین گونه‌های مورد مطالعه، گونه‌های *C. meyeri*، *C. pentagyna* و *C. pseudoheterophylla* دارای درصد قابل توجهی از ترکیبات فنولیک، تانن و فلاونوئید روتین هستند، به‌منظور تولید دارو نسبت به سایر گونه‌ها دارای اولویت می‌باشند.

نشان داده که تولید آن‌ها در مناطقی با آب‌وهوای خنک بیشتر از مناطق گرم می‌باشد، زیرا طول دوره تقسیم سلولی افزایش یافته و به‌دنبال آن تولید برخی از فلاونوئیدها نیز بیشتر می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای برای صفات مورد مطالعه در گونه‌های ولیک در ایران وجود

جدول ۳: تجزیه واریانس خصوصیات فیتوشیمیایی در گونه‌های ولیک
Table 3: Analysis of variance of phytochemical characteristics in studied species of hawthorn

میانگین مربعات (Mean of squares)			درجه آزادی	منابع تغییرات
فلاونوئید روتین Rutin flavonoid	تانن کل Total tannin	ترکیبات فنولی Phenolic compounds	Degree of freedom	Source of variation
0.97**	3.48**	10.28**	4	گونه Species
0.045	0.37	0.17	10	خطا Error
0.86	9.8	4.2		ضریب تغییرات CV%

** معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد

***: significant at the 1% probability levels

جدول ۴: مقایسه میانگین‌های خصوصیات فیتوشیمیایی در گونه‌های مورد مطالعه ولیک
Table 4: Mean comparison of studied species of hawthorn based on phytochemical characteristics

فلاونوئید روتین Rutin flavonoid	تانن کل Total tannin	ترکیبات فنولی Phenolic compounds	گونه Species
0.45 ^b	6.09 ^b	11.86 ^a	<i>C. meyeri</i>
0.43 ^b	5.29 ^b	7.53 ^c	<i>C. pontica</i>
0.90 ^a	6.69 ^{ab}	10.47 ^b	<i>C. pentagyna</i>
0.66 ^b	5.38 ^b	8.25 ^c	<i>C. monogyna</i>
0.25 ^c	7.90 ^a	11.01 ^{ab}	<i>C. pseudoheterophylla</i>

برای هر صفت، میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند
For each trait, means having at least a same letter are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test at 1% level of probability

منابع

- قاسمی دهکردی، ن.، فنادی، ع. و محتاج، ف. ۱۳۷۵. بررسی مورفولوژی و فیتوشیمیایی گیاه *Crataegus curvisepala* در مقایسه با گیاه *Crataegus oxyacantha* دارو، ۶: ۲۵-۳۶.
- همتی، خ.، بشیری‌صدر، ز. ا.، برزعلی، م. و کلاتی، ح. ر. ۱۳۸۶. تاثیر اقلیم و اندام‌های مختلف روی برخی فلاونوئیدهای درختچه سرخ ولیک (*Crataegus monogyna*). فصلنامه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۴: ۱۵۱-۱۶۰.
- Bahri-Sahloul, R., Ammar, S., Fredj, R. B., Saguem, S., Grec, S., Trotin, F. and Skhiri, F. H. 2009. Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Extracts from Flowers of Two *Crataegus azarolus* L. Varieties. Pakistan Journal of Biological Science, 12: 660-668.
- Balta, M. F., Celik, F., Turkoglu, N., Ozrenk, K. and Ozgokce, F. 2006. 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.
- Christensen, K. I. 1984. The morphological variation of some *Crataegus* populations (Rosaceae) in Greece and Yugoslavia. Nordic Journal of Botany, 4: 585-595.
- Davise, F. S. and Albrigo, L. G. 1994. Citrus. CAB international press, wallington, UK. P. 9814.
- Donmez, A. A. 2004. The Genus *Crataegus* L. (Rosaceae) with special reference to hybridisation and biodiversity in Turkey. Turkish Journal of Botany, 28: 29-37.
- Donmez, A. A. 2007. Taxonomic note on the genus *Crataegus* (Rosaceae) in Turkey. Botanical Journal of Linnean Society, 155: 231-240.
- Hampe, A. 2003. Large-scale geographical trends in fruit traits of vertebrate-dispersed temperate plants. Journal of Biogeography, 30: 487-496.
- Khatamsaz, M. 1992. Flor of Iran, No. 6, Rosaceae. Reaserch Institute of Forest and Rangelands Publication. Tehran, Iran, 352 PP.
- Kirakosyan, A., Kaufman, P., Warber, S., Zick, S., Aaronson, K., Bolling, S. and Change, S. C. 2004. Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. Physiologia Plantarum, 121: 182-186.
- Makkar, H. P. S. 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.
- Merikli, A. H. and Melikoglu, G. 2002. Investigation on Turkish *Crataegus* Species. Acta Pharmaceutica Turcica, 44: 169-173.
- Obeso, J. R. and Herrera, C. M. 1994. Inter-and intraspecific variation in fruit traits in co-occurring vertebrate-dispersed plants. International Journal of Plant Science, 55: 382-387.
- Omidbaigi, R. 2007. Approaches to production and processing of medicinal plants. Volume 1. Astane Qudse Razavi publication. Mashhad, Iran, 348 PP.
- Raudonis, R., Jaksas, V., Burdulis, D., Benetis, R. and Janulis, J. 2009. Investigation of contribution of individual constituents to antioxidant activity in herbal drugs using postcolumn HPLC method. Medicina, 45: 382-394.
- Tracy, T. S. and Kingston, R. L. 2007. Herbal Products: toxicology and clinical pharmacology. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey, 288 PP.
- Turkoglu, N., Kazankaya, A. and Sensoy, R. I. 2005. Pomological characteristics of hawthorn species found in Van Region. Journal of Agricultural Science, 15: 17-21.
- Turkoglu, N., Kazankaya, A. and Ilknur sensoy, R. 2004. Pomological characteristics of hawthorns species found in Van region. Tarım Bilimleri Dergisi, 15: 17-21.
- Urbonaviciute, A., Jakstas, V., Kornysova, O., Janulis, V. and Maruska, A. 2006. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. Journal of Chromatography, 1112: 339-344.
- Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K. U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, I. and Celik, F. 2011. Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. Scientific Research and Essays, 6: 35-38.
- Yao, M., Ritchie, H. E. and Brown-Woodman, P. D. 2008. A reproductive screening test of hawthorn. Journal of Ethnopharmacology, 118: 127-132.

Identification and Evaluation of Morphological and Phytochemical Characteristics in Some Hawthorn (*Crataegus* spp.) Species in Iran

Khohkheil¹, A., Hatami Maleki^{2*}, H. and Alirezalou³, A.

Abstract

Hawthorn, as the general name for the species of *Crataegus* genus belonged to Rosaceae family, is of horticultural crops with medicinal characteristics. In this study, several species of hawthorn including *Crataegus monogyna*, *Crataegus meyeri*, *Crataegus pseudoheterophylla*, *Crataegus pentagyna* and *Crataegus pontica* were identified in Taleghan region of Alborz province, Iran and then, evaluated based on morphological and phytochemical characters. Results of analysis of variance for morphological characters including leaf length, leaf width, ratio of leaf length to leaf width, fruit length, fruit diameter, ratio of fruit length to fruit diameter and 1000 seed weight revealed the existence of divergence for Hawthorn germplasm in Iran and significant differences among the studied species. Among studied species, *C. pontica* had the maximum values of studied morphological characters exception of ratio of leaf length to leaf width and ratio of fruit length to fruit diameter. There were significant differences among studied species based on phytochemical characters. Species including *Crataegus meyeri*, *Crataegus pseudoheterophylla*, *Crataegus pentagyna* had noticeable percentage of phenolic compounds, tannin and rutin flavonoid. The results manifested that evaluation of phytochemical compounds could be a suitable method in identification of species having medical priority in this species.

Keywords: Phenolics, Tannins, Rutin flavonoids, Germplasm, Rosaceae

1. MSc Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

3. Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*: Corresponding author Email: hatamimaleki@maragheh.ac.ir