

سنجش ترکیبات فنولی، اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بومادران هزاربرگ (*Achillea millefolium* L.) در مراحل رشد

مهوش افشاری و مهدی رحیم ملک*

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۸۴۱۵۶۸۳۱۱۱، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۶/۲۷)

چکیده:

گیاهان سرده بومادران (*Achillea*) از تیره کاسنی (Asteraceae) از گیاهان مهم دارویی و زینتی محسوب می‌شوند. گونه بومادران هزاربرگ یکی از گونه‌های مهم بومادران و منبع غنی از آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شود. در این پژوهش، بخش‌های هوایی پنج ژنوتیپ بومادران هزار برگ از کندوان ایران (Amk)، لیتوانی (AmlitR)، انگلیس (AmUK)، ارومیه ایران (Amo) و همدان ایران (Amh) در طی چهار مرحله (پنج برگی، غنچه دهی، ۵۰٪ گلدهی، ۱۰۰٪ گلدهی) از نظر ترکیبات فنولی، اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطالعه گردیدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از مدل سیستم آلفا و آلفا-دی فنیل-بتا-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و قدرت احیا کنندگی آهن (FTC) ارزیابی شد. آزمایش با ۳ تکرار در قالب طرح اسپیلیت پلات در زمان در سال ۹۳ مورد ارزیابی قرار گرفت. تکرار نتایج نشان داد که در همه ژنوتیپ‌ها میزان فنل، فلاونوئید، میزان اسانس و قابلیت احیا کنندگی آهن (در چهار غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm) در مرحله ۵۰٪ گلدهی بیشتر از سایر مراحل است و کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH بر اساس IC₅₀ در این مرحله مشاهده شد. بیشترین میزان فنل و فلاونوئید به ترتیب در ژنوتیپ کندوان و ژنوتیپ ارومیه با مقادیر (۸۴/۵۲ میلی‌گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک) و (۱۳/۹۳۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک) مشاهده شد. بیشترین میزان احیا کنندگی آهن در هر دو غلظت و کمترین شاخص IC₅₀ (۶۳۹/۱۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر حجم عصاره) در ژنوتیپ کندوان بدست آمد. بیشترین و کمترین درصد اسانس متعلق به ژنوتیپ لیتوانی (۰/۷٪) و همدان (۰/۷٪) بود. بنابراین بهترین زمان برداشت این گونه از نظر ترکیبات فنولیک زمان ۵۰٪ گلدهی و از نظر درصد اسانس زمان ۱۰۰٪ گلدهی گیاه بود.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، بومادران، فلاونوئید، اسانس.

مقدمه:

شمالی اوشان، در اشتران کوه، تبریز، در شمال شرق و همدان می‌رویند. این گیاه معطر دارای اسانس و مقدار کمی تانن است و سرشاخه‌های گلدار آن دارای نوعی هتروزید مولد اسید سیانیدریک، گلیکو آکالوئیدی به نام آکی لئن، اینولین، مواد چرب مومی، فیتوسترول و اسید آکونی تیک است (میر

بومادران هزار برگ (*Achillea millefolium* L.) گیاهی است چندساله که به طور خودرو در دشت‌ها، کنار جاده‌ها و نواحی کوهستانی نقاط مختلف جهان می‌روید. سرده بومادران نوزده گونه در ایران دارد که در دامنه‌های زاگرس، البرز قسمت‌های

نیست. مثلاً در برگ‌های جوان آفتابگردان (*Helianthus annuus*) و تنباکو (*Nicotinia tabaceum*) مقدار ترکیبات فنولی بیشتر از سایر قسمت‌های گیاه است. با توجه به مشاهدات Valentine و همکاران (۲۰۰۳) برگ‌های بید بهاره حاوی ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به همان برگ‌ها در پائیز می‌باشند. بررسی‌ها نشان می‌دهد تولید ترکیبات فنولی در گیاهان بخشی از دفاع شیمیایی گیاه است که تحت کنترل عوامل محیطی و ژنتیکی قرار دارد.

برای حصول حداکثر درصد اسانس، زمان مناسب برداشت گیاهان دارویی باید به دقت انتخاب شود. از آنجایی که عملکرد اندام رویشی و مقدار اسانس در مراحل مختلف فنولوژیکی گیاه متفاوت می‌باشد، تعیین بهترین مرحله برداشت از بین مراحل مختلف فنولوژیکی گیاه دارویی، اهمیت ویژه‌ای دارد (Omidbeigi et al., 2003).

از آنجا که خواص دارویی اندام هوایی بومادران در ارتباط با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در آن است، انتخاب بهترین مرحله رشد و نموی آن برای استخراج مواد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند راهگشای استفاده مؤثرتر از آن در داروسازی باشد. در این تحقیق روند تغییرات ترکیبات فنولی، اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بومادران هزاربرگ طی مراحل مختلف رشد مورد بررسی گردید تا در تحقیقات بعدی از استراتژی‌های هدف دارتری جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه مهم در صنعت دارویی و مدیریت بهتر زمان برداشت این گیاه استفاده شود.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در دانشگاه صنعتی اصفهان در سال زراعی ۹۴-۹۳ در قالب طرح اسپیلیت پلات در زمان با سه تکرار در کرت‌هایی به ابعاد ۲×۱ متر انجام شد. بررسی‌ها و نمونه‌برداری‌ها از اندام‌های هوایی از گونه *A. millefolium*، که شامل Amk، AmlitR، AmUK، Amo، و Amh به ترتیب جمع آوری شده از کندوان، لیتوانی، انگلیس، ارومیه و همدان بود در چهار مرحله فنولوژیکی پنج برگی، غنچه دهی، ۵۰٪ گلدهی و ۱۰۰٪ گلدهی انجام شد (جدول ۱).

حیدر، ۱۳۸۲). نیمی از نواحی زیر کشت بادام زمینی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان قرار دارد (Reddy et al., 2003). آقاجانی و همکاران (۲۰۰۰) ترکیب مواد مؤثره گل در گونه *Achillea tenuifolia* را بررسی کردند. دختانی و همکاران (۲۰۰۵) در گونه‌های خاصی از گیاه بومادران مواد معطره و ترکیبات فنولی آن را مورد بررسی قرار دادند. در مطالعات میرزایی و اکبر تبارطوری (۱۳۸۹) میزان کل ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه ارزیابی و نشان داده شد که عصاره هیدرو الکلی بومادران، درمنه و بابونه در تمام مدل‌های مورد مطالعه، سطوح متفاوتی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند و بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به گیاه درمنه بود. اقدامی و صادقی (۲۰۱۰) با معرف فولین و متد آلومنیوم کلرید از عصاره گیاه بومادران هزار برگ، میزان فنولیک و فلاونوئید آن را ارزیابی نمودند و مشاهده کردند بین قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و میزان ترکیبات فنولیک در گونه بومادران هزاربرگ ارتباط معنی‌داری وجود دارد. با این وجود، هنوز گزارش کاملی درباره تأثیر مراحل مختلف فنولوژیکی بر روی میزان تجمع متابولیت‌های ثانویه در بومادران هزار برگ انجام نگرفته است.

کیفیت و کمیت گیاهان دارویی به طور خاصی تحت تأثیر ژنتیک (ژنوتیپ گیاه)، عوامل محیطی و اثر متقابل این دو عامل است (Abdalla & El-Khoshiban, 2007). میزان و نوع مواد مؤثره موجود در گیاهان که عمدتاً متابولیت‌های ثانویه هستند، در طول دوره رشد و نمو گیاه تغییر می‌کند، بنابراین خواص دارویی گیاهان که وابسته به حضور متابولیت‌های ثانویه است نیز ممکن است دچار تغییر شود.

بیشتر گیاهان دارویی با توجه به دارا بودن ترکیبات فنولی، خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند (Dawidowicza et al., 2006). ثابت شده است که ارتباط معنی‌داری بین مقدار ترکیبات فنولی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها وجود دارد (Sawdogo et al., 2006). مقدار ترکیبات فنولی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان و بسته به نوع گونه گیاهی ثابت

جدول ۱- مشخصات گونه‌های مورد استفاده در این مطالعه

ردیف	محل جمع آوری	نوع گونه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۱	ارومیه	<i>A. millefolim</i>	'N۳۷°۵۲	'w۴۵°۰۴
۲	انگلیس	<i>A. millefolim</i>	'N۵۰°۱۹	'w۰۵°۰۴
۳	لیتوانی	<i>A. millefolim</i>	'N۵۶°۰۱	'E۲۴°۰۰
۴	کندوان	<i>A. millefolim</i>	'N۳۷°۲۰	'w۴۷°۴۲
۵	همدان	<i>millefolim A.</i>	'N۴۶°۳۴	'E۴۹°۲۸

تهیه عصاره از برگ: اندام‌های هوایی نمونه‌های جمع آوری شده در چهار مرحله رشدی (پنج برگگی، غنچه دهی، ۵۰٪ گلدهی، ۱۰۰٪ گلدهی) به مدت یک هفته در سایه قرار داده شد تا کاملاً خشک گردید. سپس مقدار ۲/۵ گرم پودر برگ خشک شده گیاه به همراه ۵۰ میلی لیتر متانول ۸۰٪ به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. در نهایت عصاره حاصل را سه مرتبه از کاغذ صافی عبور داده تا محلول شفافی به دست آید. عصاره‌های تهیه شده فیلتر شده و با استفاده از روش پرکولاسیون عصاره‌گیری و با روش تقطیر در خلأ تغلیظ گردیدند. عصاره‌های خشک شده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولیک از عصاره گیاه: مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاهی بر اساس روش اسلینیکارد و همکاران (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره‌های مختلف رقیق شده (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰٪) مقدار ۲/۵ میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو ۱۰٪ اضافه گردید و پس از ۵ دقیقه مقدار ۲ میلی لیتر از کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در مقابل محلول کنترل متانول در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. هم‌زمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف اسید تانیک تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل کل هر عصاره بر حسب میلی‌گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید.

بررسی خاصیت آنتی رادیکالی: برای تعیین قدرت

عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH کولیسیک و همکاران (۲۰۰۴) اندازه‌گیری گردید. فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH توسط عصاره که معیاری از میزان فعالیت آنتی رادیکالی عصاره گیاهی است، مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$(\%RSA = OD \text{ control} - OD \text{ sample} / OD \text{ control} \times 100)$$

در این رابطه OD sample جذب نمونه، OD control جذب کنترل و RSA میزان فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد است. برای بررسی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی عصاره از شاخص IC_{50} نیز استفاده شد. برای بررسی بهتر این فعالیت از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (Butylated Hydroxy Toluene) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

IC_{50} بیان‌گر مقدار میلی‌گرم عصاره است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد. برای محاسبه آن ابتدا نموداری از رابطه میان مقادیر غلظت عصاره و درصد DPPH باقی‌مانده رسم نموده و با توجه به نمودار حاصل و به صورت ترسیمی غلظتی از عصاره را که قادر است ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی بکند، تعیین می‌شود.

بررسی خاصیت احیاکنندگی آهن (FTC): برای تعیین قدرت احیاکنندگی آهن، محلولی از ۱ میکروگرم عصاره در ۱ میلی لیتر آب مقطر تهیه گردید. یک میلی لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (PH=۶/۵) و ۲/۵ میلی لیتر محلول آبی یک درصد فری سیانید پتاسیم ($C_6N_6FeK_3$) مخلوط و سپس به مدت ۲ دقیقه در دمای ۵

مختلف نمودی بر اختلاف فنول در گیاه بومادران هزاربرگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). مقدار فنول تام در تمامی ژنوتیپ ها در طی مراحل رویشی به تدریج افزایش یافت، به طوری که در مرحله ۵۰٪ گلدهی به بیشترین میزان خود رسید و در نهایت در مرحله ۱۰۰٪ گلدهی میزان آن مجدداً کاهش یافت. بیشترین مقدار فنول تام در مرحله ۵۰٪ گلدهی (۸۴/۵۲ میلی گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک) در ژنوتیپ کندوان مشاهده شد در حالی که ژنوتیپ ارومیه با ۴۲/۶۳ میلی گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک کمترین فنول تام را دارا بود (جدول ۳). رسیدگی گیاهان دارویی با تغییرات مهم بیوشیمیایی اتفاق می افتد. اغلب میزان فنل کل با نمو و رسیدن کامل گیاه به طور پیوسته کاهش می یابد که این موضوع با نتایج این بررسی مطابقت داشت و میزان فنول تام بعد از مرحله ۵۰٪ گلدهی روند نزولی نشان داد. (جدول ۲). کمترین مقدار (IC₅₀) و بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی در مرحله ۵۰٪ گلدهی برابر با ۶۳۹/۱۶۵ میکروگرم بر میلی لیتر حجم عصاره در ژنوتیپ کندوان مشاهده شد. در حالی که ژنوتیپ ارومیه با ۱۰۵۷/۵ میکروگرم بر میلی لیتر حجم عصاره کمترین مقدار (IC₅₀) و بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را در بین ژنوتیپ های مورد مطالعه این گونه دارا بود (شکل ۱). عصاره همه ژنوتیپ ها نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی، شاخص IC₅₀ بیشتری از خود نشان دادند (شکل ۱).

بین قدرت احیاکنندگی عصاره ها هم با گذشتن زمان اختلاف معنی داری مشاهده شد و در زمان ۵۰٪ گلدهی بیشترین میزان جذب مشاهده شد. بیشترین و کمترین جذب نوری عصاره در هر چهار غلظت ۵۰ و ۱۰۰ و ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm در ژنوتیپ های بومادران هزاربرگ به ترتیب مربوط کندوان و ارومیه بود (شکل ۲ تا ۵). بین قدرت احیاکنندگی عصاره ها هم با گذشتن زمان اختلاف معنی داری مشاهده شد و در زمان ۵۰٪ گلدهی بیشترین میزان جذب مشاهده شد. مطابق روش DPPH غلظت های ۵۰۰ ppm نسبت به غلظت های پایین تر (۵۰ ppm) قوی تر عمل کرده است. عصاره همه ژنوتیپ ها

درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر محلول ۱ درصد اسیدتری کلرو استیک اسید (C₂HCl₃O₂) به مخلوط اضافه شد. محلول به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، ۲/۵ میلی لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۵ میلی لیتر محلول کلرید فریک مخلوط و جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. افزایش جذب در مخلوط واکنش به مفهوم قدرت احیاکنندگی بیشتر عصاره (آنتی اکسیدان) است (گلی موحد، ۱۳۸۲).

اندازه گیری محتوی تام فلاونوئید عصاره ها: محتوی تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیم اندازه گیری شد. به نیم میلی لیتر از هر عصاره ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر از محلول ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر از محلول آلومینیم کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی لیتر از استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد (کوئرتستین به عنوان استاندارد استفاده شد). سپس میزان فلاونوئید براساس میزان معادل (میلی گرم کوئرتستین در گرم عصاره) ثبت گردید (Braca et al., 2002).

اسانس گیری: استخراج اسانس از پودر اندام های هوایی بومادران های خشک شده در سایه با روش تقطیر با آب مقطر به کمک دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت انجام شد (زینلی بادی، ۱۳۸۲). میزان اسانس بر اساس تفاوت وزن اولیه شیشه و وزن شیشه حاوی اسانس محاسبه شده و درصد اسانس بر حسب میزان پودر اولیه هر نمونه مورد استفاده، محاسبه گردید (زمان، ۱۳۷۰).

کلیه محاسبات آماری، تجزیه واریانس و مقایسات میانگین و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و میانگین ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث:

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل ژنوتیپ و مراحل

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی گونه بومادران هزاربرگ (*A. millefolim*) در مراحل مختلف نموی.

میانگین مربعات صفات	FTC			IC ₅₀	فلاونوئید		درصد اسانس	درجه آزادی	منابع تغییرات
	۳۰۰ ppm	۱۰۰ ppm	۵۰ ppm		فول تام	تام			
تکرار	۰/۰۴۳ ^{ns}	۰/۰۰۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۱۹ ^{ns}	۰/۰۰۲۷ ^{ns}	۱۱۴۱۳۸۹ ^{**}	۰/۰۲۸ ^{ns}	۱۲/۷۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۲
ژنوتیپ	۰/۰۷۱ ^{**}	۰/۰۴۲ ^{**}	۰/۰۵۴ ^{**}	۰/۰۲۴ ^{**}	۱۱۳۳۲۷۹ ^{**}	۲۰/۵۵ ^{**}	۲۵۹۳ ^{**}	۰/۴۷۴ ^{**}	۴
تکرار×ژنوتیپ	۰/۰۰۹۰	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۷	۸۰۲۷	۰/۱۱۳	۲۱/۳۴۶	۰/۰۰۰۲۴	۸
مرحله نموی	۰/۴۱۱ ^{**}	۰/۲۶۵ ^{**}	۰/۲۰۱ ^{**}	۰/۲۲۲ ^{**}	۶۴۰۱۷۱ ^{**}	۵۳/۷۳ ^{**}	۱۹۲۵ ^{**}	۰/۰۸۳ ^{**}	۳
ژنوتیپ×مرحله نموی	۰/۰۰۵ ^{**}	۰/۰۰۹ ^{**}	۰/۰۰۸ ^{**}	۰/۰۰۶ ^{**}	۷۹۰۸۶ ^{**}	۱/۰۸ ^{**}	۳۸/۰۹ ^{**}	۰/۰۱۵۲ ^{**}	۱۲
خطای آزمایشی	۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱۱	۵۶۳/۸۸	۰/۱۳۷	۸/۸۸۵	۰/۰۰۱۱	۲۴
ضریب تغییرات (/.)	۹/۷۲	۹/۷۲	۹/۷۲	۱۰/۵۴	۲/۳۱	۳/۷۶	۶/۷۶	۱۵/۹۵	

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

بعضی از فلاونوئیدها به بافت‌های خاص در گیاه عناب نیز گزارش شده است (Pelotte et al., 1993).

در رابطه با محتوی اسانس، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مختلف بومادران هزاربرگ از نظر میزان اسانس اختلاف معنی‌داری را دارند (جدول ۲). کمترین محتوی اسانس در مرحله ۱۰۰٪ گلدهی برابر با ۰/۷٪ در ژنوتیپ لیتوانی مشاهده شد. در حالی که ژنوتیپ همدان با ۰/۷٪ کمترین درصد اسانس را در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه‌ی این گونه دارا بود (جدول ۴). تحقیقات محققان نشان داده است که کمیت ترکیبها و نسبت‌های مربوط به اجزای تشکیل دهنده اسانس به طور گسترده تحت تأثیر ژنوتیپ، مرحله تکوینی- تکاملی و رشد و نموی گیاه می‌باشد (Marotti and Piccaglia, 1994). بنابراین تغییرات کمی اسانس گیاه بومادران در طی مراحل مختلف رشد نیز از این قاعده تبعیت می‌کند و این نیاز ما به یک کمیت خاص از اسانس است که تعیین کننده زمان مناسب برداشت گیاه می‌باشد. مطالعات انجام شده توسط میراحمدی و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که در *Achillea biebersteinii* Afan. در مرحله گلدهی کامل میزان اسانس به بیشترین مقدار می‌رسد که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت و نتایج بررسی‌های ترکی و امجد (۲۰۱۵)

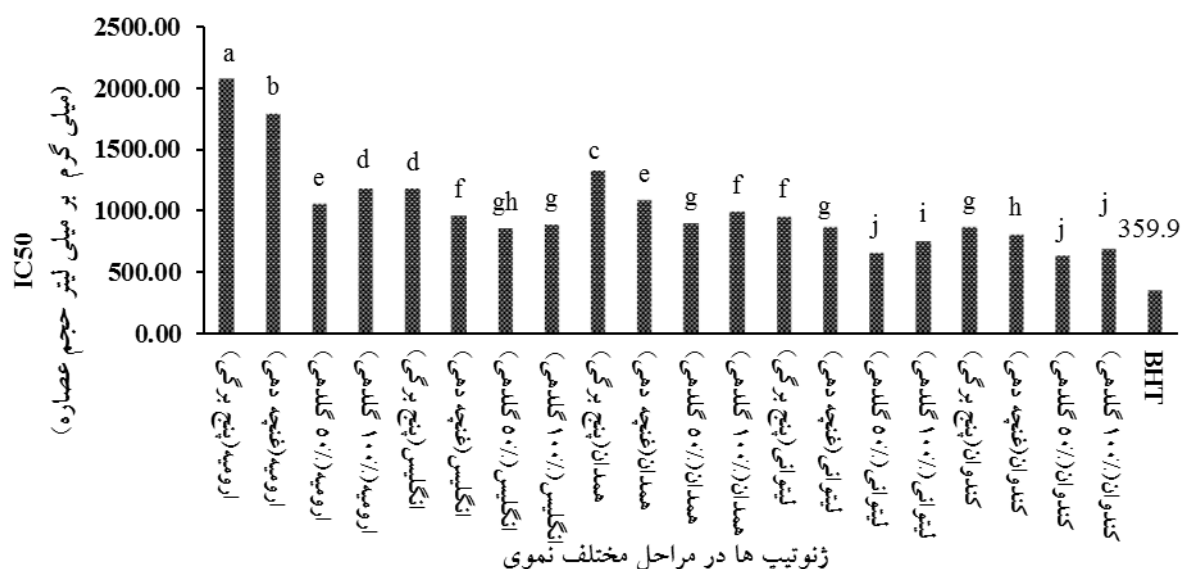
نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی، خاصیت احیاکنندگی بیشتری از خود نشان دادند (شکل ۲ تا ۵).

به نظر می‌رسد تأثیر دوره‌ی رشد و بلوغ بر محتوی فنول و فلاونوئیدها در بین میوه‌ها و سبزیجات متفاوت باشد، چنان که طبق نتایج Marin و همکاران (۲۰۰۴) در فلفل، نتایج Castrejón و همکاران (۲۰۰۸) در انگور و بررسی‌های Kim و همکاران (۲۰۰۴) در کلم نشان داد که سطح ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در پاسخ به بلوغ کاهش می‌یابد و در توت فرنگی، شاه توت و تمشک همراه با بلوغ سطح این ترکیبات افزایش می‌یابد (Kim et al., 2004). نتایج مطالعه حاضر مشخص نمود که تجمع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در بومادران هزاربرگ در مرحله رشد رویشی گیاه آغاز شده و بعد از گل‌دهی مقدار آن افزایش می‌یابد و در انتهای رسیدگی گیاه مجدداً مقدار این مواد کاهش می‌یابد. نقش دفاعی برخی از فلاونوئیدها در زمان تنش در گیاهان اثبات شده است (Kim et al., 2004). برای مثال کوئرستین در گیاه سیاه‌گیله (*Vaccinium myrtills*) نقش دفاعی را در این گیاه برعهده دارد (Witzell et al., 2003). در گیاه عطرسنگ (*Varthemia Persica*) برخی از ترکیبات فلاونوئیدی نظیر میرستین و آپی ژنین فقط در مرحله گل‌دهی وجود دارند. اختصاصی بودن

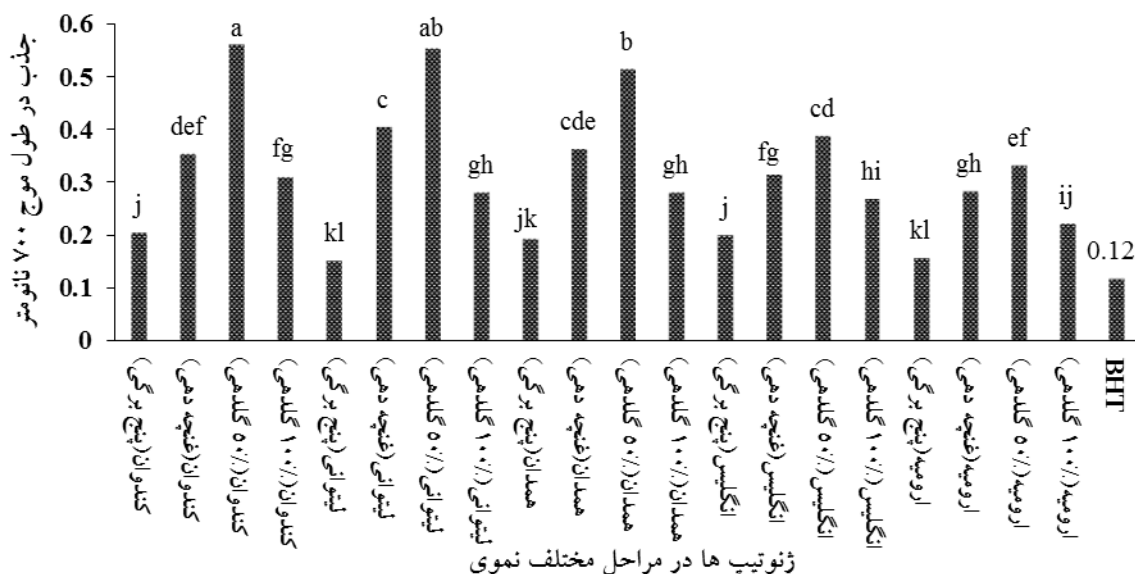
جدول ۳- مقایسه میانگین فلاونوئید تام و فنول تام بومادران هزاربرگ (*A. millefolium*) در مراحل مختلف رشد.

نام ژنوتیپ	مراحل نمو	فلاونوئید تام (mgg ⁻¹)	فنول تام (mgg ⁻¹)	نام ژنوتیپ	مراحل نمو	فلاونوئید تام (mgg ⁻¹)	فنول تام (mgg ⁻¹)
Amo (ارومیه)	پنج برگ	۸/۵۵۰ ^{ij}	۱۸/۴۱۳ ⁿ	Amk (کندوان)	پنج برگ	۸/۸۹۰ ^{hi}	۴۴/۷۲۳ ^{de}
	غنچه دهی	۱۳/۱۵۳ ^b	۳۵/۴۷۳ ^{ij}		غنچه دهی	۱۰/۳۴۰ ^f	۶۶/۱۳۰ ^b
	۵۰٪ گلدهی	۱۳/۹۳۶ ^a	۴۲/۶۳۰ ^{gh}		۵۰٪ گلدهی	۱۱/۳۶۶ ^{de}	۸۴/۵۲۳ ^a
	۱۰۰٪ گلدهی	۱۱/۶۹۰ ^{cd}	۲۵/۵۷۶ ^{lm}		۱۰۰٪ گلدهی	۹/۶۳۳ ^g	۵۵/۰۱۶ ^{cd}
AmUK (انگلیس)	پنج برگ	۵/۳۰۶ ^l	۲۷/۶۵۰ ^l	Amh (همدان)	پنج برگ	۶/۶۰۰ ^k	۲۱/۵۶۳ ^{mn}
	غنچه دهی	۹/۳۵۰ ^{gh}	۳۸/۹۷۳ ^{hi}		غنچه دهی	۹/۵۷۶ ^g	۳۳/۳۰۶ ^{jk}
	۵۰٪ گلدهی	۱۰/۹۱۰ ^{ef}	۴۸/۱۰۶ ^f		۵۰٪ گلدهی	۱۰/۸۳۰ ^{ef}	۴۸/۶۱۶ ^{ef}
	۱۰۰٪ گلدهی	۸/۱۸۶ ^{ef}	۳۲/۹۲۳ ^{jk}		۱۰۰٪ گلدهی	۸/۷۲۰ ⁱ	۲۹/۷۲۰ ^{kl}
AmlitR (لیتوانی)	پنج برگ	۷/۶۸۶ ^j	۴۷/۱۳۶ ^{fg}	LSD		۰/۳۱۷	۴/۳۷۹
	غنچه دهی	۱۰/۸۸۶ ^{ef}	۵۹/۱۴۶ ^c				
	۵۰٪ گلدهی	۱۲/۲۳۳ ^c	۶۸/۶۵۳ ^b				
	۱۰۰٪ گلدهی	۹/۴۱۳ ^{gh}	۵۳/۵۸۰ ^{de}				
LSD		۰/۳۱۷	۴/۳۷۹				

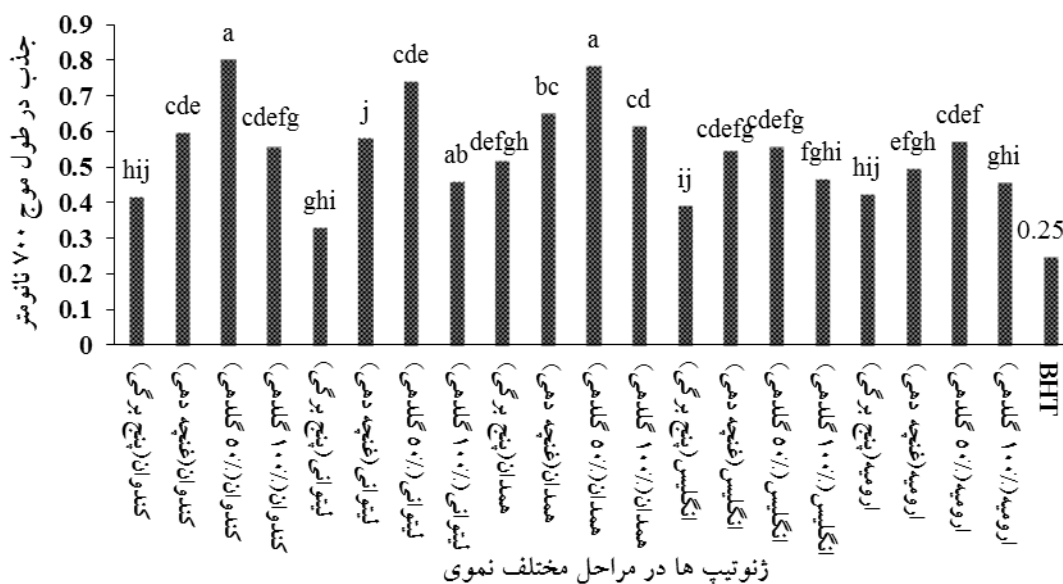
(mgTAEg⁻¹): میلی گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک، (mgQUE g⁻¹): میلی گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک. در هر ستون حروف معنی داری بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می باشد.



شکل ۱- مقایسه تأثیر مراحل مختلف نمو بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH بر اساس IC50 در پنج ژنوتیپ مختلف گونه‌ی بومادران هزاربرگ. در هر ستون حروف معنی داری بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می باشد.



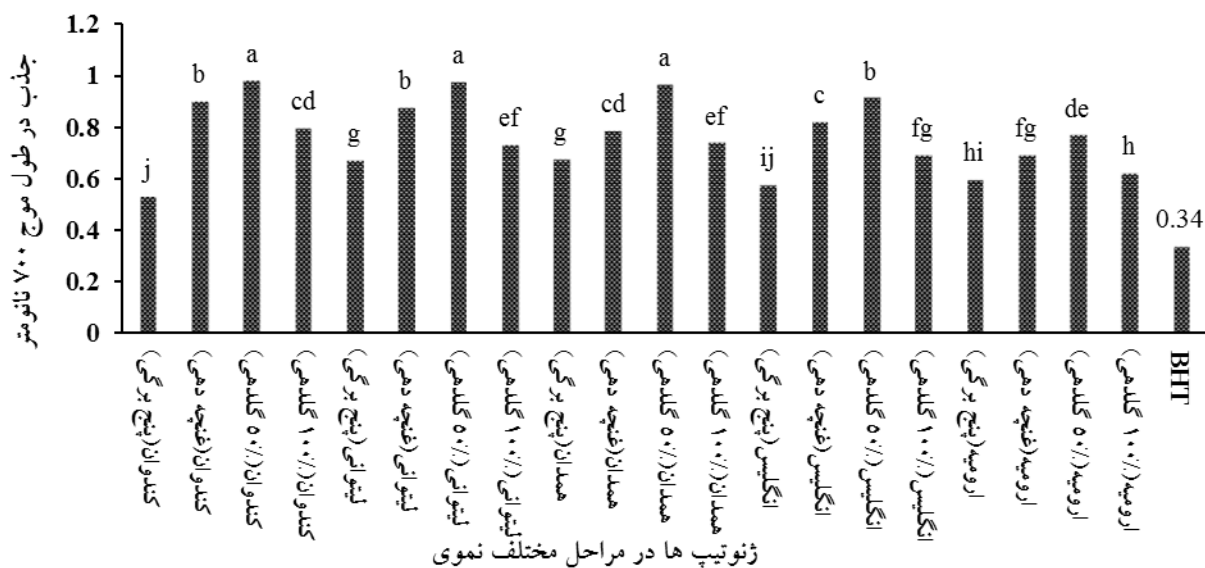
شکل ۲- نمودارمقایسه تأثیر مراحل مختلف نموی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش (FTC) در غلظت ۵۰ ppm در پنج ژنوتیپ مختلف گونه‌ی بومادران هزاربرگ.. در هر ستون حروف معنی داری بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.



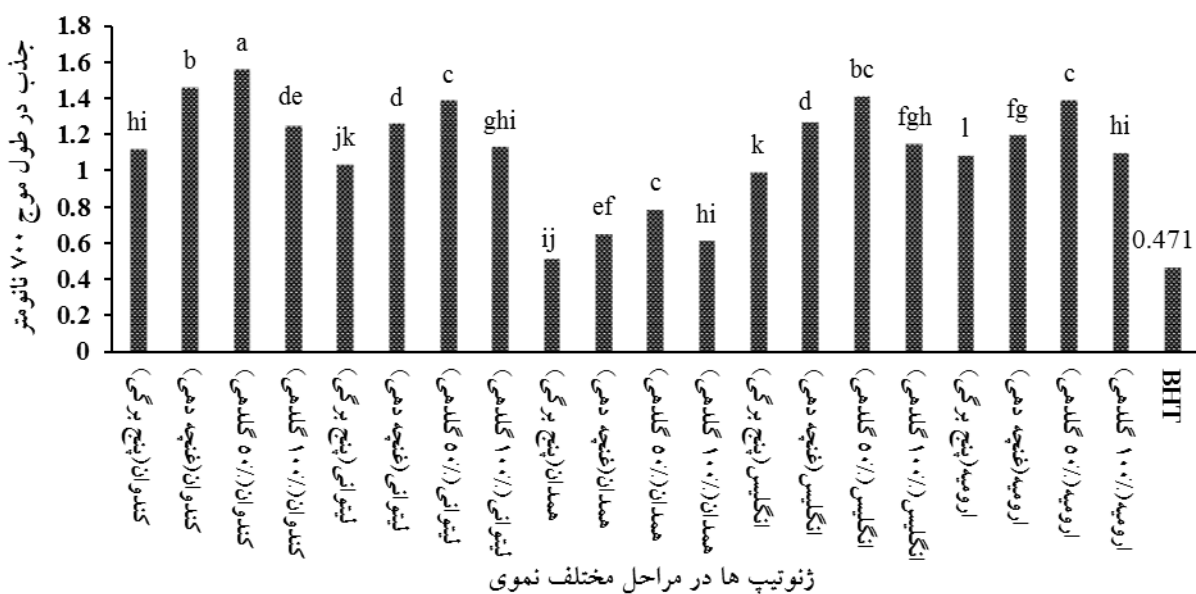
شکل ۳- نمودارمقایسه تأثیر مراحل مختلف نموی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش (FTC) در غلظت ۱۰۰ ppm در پنج ژنوتیپ مختلف گونه‌ی بومادران هزاربرگ.. در هر ستون حروف معنی داری بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

مختلف نموی انجام گرفته است. طبق مطالعات انجام شده توسط امیری (۱۳۸۶) میزان تجمع اسانس در مراحل مختلف رشدی در گیاه *Prangos ferulacea* Lindl. متفاوت است و در مرحله بلوغ کامل گیاه میزان آن در گیاه کاهش می‌یابد.

روی گونه *Achillea wilhelmsii* نیز همین نتایج را درباره نحوه تجمع اسانس در بومادران ارائه داد. بررسی‌هایی نیز توسط سفیدکن و همکاران (۱۳۸۳) روی تغییرات کمی اسانس *Diplotaenia cachrydifolia* Boiss. در مراحل



شکل ۴- نمودار مقایسه تأثیر مراحل مختلف نموی بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش (FTC) در غلظت ۳۰۰ ppm در پنج ژنوتیپ مختلف گونه‌ی بومادران هزاربرگ. در هر ستون حروف معنی داری بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.



شکل ۵- نمودار مقایسه تأثیر مراحل مختلف نموی بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش (FTC) در غلظت ۵۰۰ ppm در پنج ژنوتیپ مختلف گونه‌ی بومادران هزاربرگ. در هر ستون حروف معنی داری بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

معنی داری (در سطح ۱ درصد) دارد. همچنین، سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FTC با میزان فنول همبستگی مثبت و با میزان فلاونوئید کل همبستگی مثبت معنی داری دارد. بررسی همبستگی شاخص IC_{50} نیز حاکی از همبستگی منفی معنی دار

بررسی همبستگی بین مقادیر سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با دیگر فاکتورهای اندازه‌گیری شده نشانی‌دهد که سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH، با محتوای فنول و فلاونوئید کل همبستگی مثبت و

جدول ۴- جدول مقایسه تأثیر مراحل مختلف رشدی بر درصد اسانس در پنج ژنوتیپ مختلف بومادران هزاربرگ (*A. millefolim*).

نام ژنوتیپ	مراحل نموی	میزان اسانس (%)	نام ژنوتیپ	مراحل نموی	میزان اسانس (%)
	پنج برگگی	۰/۳۳		پنج برگگی	۰/۴
AmlitR	غنچه دهی	۰/۴۵	Amo	غنچه دهی	۰/۰۶
(لیتوانی)	۵۰٪ گلدهی	۰/۶۰	(ارومیه)	۵۰٪ گلدهی	۰/۱۰
	۱۰۰٪ گلدهی	۰/۷۹		۱۰۰٪ گلدهی	۰/۱۳
	پنج برگگی	۰/۱۳		پنج برگگی	۰/۰۱
AmUK	غنچه دهی	۰/۲	Amh	غنچه دهی	۰/۰۵
(انگلیس)	۵۰٪ گلدهی	۰/۲۶	(همدان)	۵۰٪ گلدهی	۰/۰۶
	۱۰۰٪ گلدهی	۰/۲۹		۱۰۰٪ گلدهی	۰/۰۷
	پنج برگگی	۰/۰۸			
	غنچه دهی	۰/۱۲			
Amk	۵۰٪ گلدهی	۰/۱۵			
(کندوان)	۱۰۰٪ گلدهی	۰/۱۸			

احیاکنندگی آهن در مرحله ۵۰٪ گلدهی مشاهده شد. همچنین خصوصیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد در این مرحله کمترین مقدار خود را نشان می‌دهد. بیشترین میزان اسانس هم در زمان ۱۰۰٪ گلدهی ارزیابی شد. ژنوتیپ کندوان بیشترین میزان فنول تام و خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد و ژنوتیپ لیتوانی بیشترین میزان اسانس را دارا بود. با توجه به این که گیاهان دارویی از جمله گیاه بومادران در صنعت داروسازی بسیار مورد توجه است؛ زمان برداشت مناسب برای بهره‌وری از بیشترین متابولیت‌های آن بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

با محتوای فنول می‌باشد. میزان اسانس هم با میزان فنول همبستگی مثبت و معنی‌دار و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH بر اساس IC50 همبستگی منفی و معنی‌داری را نشان داد (جدول ۴).

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه، نشان داد که عصاره متانولی ژنوتیپ‌های مختلف بومادران هزاربرگ در طی مراحل نموی حاوی غلظت‌های مختلفی از ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. به طوری که بیشترین میزان فنول، فلاونوئید و خاصیت

منابع:

- امیری، ا. (۱۳۸۶) مقایسه تغییرات کمی و کیفی روغن اسانسی گیاه *Prangos ferulacea* Lindl. در مراحل مختلف رشد. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۱: ۱۲۷-۱۲۱.
- پوربزرگی، ن.، شریفی، م. و بهمنش، م. (۱۳۸۵) بررسی تغییرات فنلی و اسانس ریحان سبز و بنفش در مراحل مختلف دوره رویش. مجموعه خلاصه مقالات چهاردهمین کنفرانس سراسری و دومین کنفرانس بین‌المللی زیست‌شناسی ایران، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- تایز، ل. و زایگر، ا. (۱۳۷۹) فیزیولوژی گیاهی. ترجمه کافی، م. و زند، ا. انتشارات جهاد دانشگاهی. مشهد.
- زمان، س. (۱۳۷۰) گیاهان دارویی، چاپ صنوبر، ص ۹۸-۱۰۵.

زینلی بادی، ح. (۱۳۸۲) بررسی تنوع صفات زراعی، سیتوژنتیک و فیتوشیمیایی در نعنایهای ایرانی، رساله دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان.

سفیدکن، ف. علیها، م. و مشکى زاده، س. (۱۳۸۳) بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس *Diplotaenia cachrydifolia* Boiss. در مراحل مختلف رشد. فصلنامه گیاهان دارویی ۱۱: ۳۷-۳۱.

صمصام شریعت، ه. (۱۳۷۲) عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها، انتشاراتمانی، اصفهان.

گلی موحد، ا. (۱۳۸۲) بررسی اثر استخراج و نوع ماده اولیه بر قدرت آنتی اکسیدانی عصاره استحصالی از برگ گیاه چای. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

میرحیدر، ح. (۱۳۸۲) معارف گیاهی. جلد پنجم، انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی، تهران.

میرزایی، ع. و اکبر تبارطوری، م. (۱۳۸۹) ارزیابی میزان فنول تام و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه، مجله ارمغان دانش ۱۵: ۲۵۳-۲۴۳.

Abdalla, M. M. and El-Khoshiban, N. H. (2007) The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Science Research 3: 2062-2074.

Aghjani, Z., Masoudi, S. W. and Rustaiyan, A. (2000) Composition of the essential oil from flowers of *Achillea tenuifolia* Lam. Journal of Essential Oil Research 12: 723-724.

Asgarirad, H., Pourmorad, F. Hosseinimehr, S. Saeidnia, J. Ebrahimzadeh S. and Lotfi, F. (2010) In vitro antioxidant analysis of *Achillea tenuifolia*. American Journal of Botany 9: 3536-3541.

Braca, A., Sortino, C. Politi, M. Morelli I. and Mendez, J. (2002) Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. Journal of Ethnopharmacology 79: 379-381.

Castrejón, A. D. R., Eichholz, I. Rohn, S. Kroh L. W. and Huyskens-Keil, S. (2008) Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vacciniumcor ymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. Food Chemistry 109: 564-572.

Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., Baraniak, B. (2005) The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). Journal of LWT-Food Science and Technology 39: 308-315.

Dokhani, S., Cottrell, T. Khajedin J. and Mazza, G. (2005) Analysis of aroma And phenolic components of selected *Achillea sp.* Plant Foods for Human Nutrition 60: 55-62.

Eghdami, A. and Sadeghi, F. (2010) Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea millefolium*. Journal of Organic Chemistry 2: 81-84.

Ehrendorfer, F. (1973) New chromosome numbers and remarks on the *Achillea millefolium* polyploid complex in North America. Plant Systematics and Evolution 122: 133-143.

Ghasemi Pirbalouti, A., Firoznezhad, M. Craker, L. and Akbarzadeh, M. (2013) Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. Revista Brasileira Farmacognosia 23:861-869.

Jordan, M. J., Lax, V. Rota, M. C. Loran, S. and Sotomayor, J. A. (2013) Effect of the phenological stage on the chemical composition, and antimicrobial and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* Lessential oil and its polyphenolic extract. Industrial Crops and Products 48:144-152.

Kim, D. O., Padilla-Zakour O. I. and Griffiths, P. D. (2004) Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. Journal of Food Science 69: 685-689.

Kulisc, T., Radonic, A. Katalinic V. and Milos, M. (2004) Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chemistry 85: 633- 640.

Marin, A., Ferreres, F. Tomas-Barberan, F. and Gil, M. I. (2004) Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 52: 3861-3869.

Marotti, M. and Piccaglia, R. (1994) Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of Fennel. Journal of Essential Oil Research 6: 57-62.

Mejia, L. A., Hudson, E. Gonzalez-deMejia E. and Vasquez, F. (1988) Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annuum*) as determined by HPLC. Journal of Food Science 53: 1448-1451.

- Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523-530.
- Mirahmadi, S. F., Sefidkon, F. Hassandokht, M. R and Hassani, M. E. (2012) Essential oil content and composition of *Achillea biebersteinii* Afan. in different plant parts and phenological stages. Journal of Essential Oil Research 24: 25-29.
- Nejad-Ebrahimi, S., Hadian, J. Mirjalili, M. H. Sonboli, A. and Yousefzadi, M. (2008) Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food Chemistry 110: 927-931.
- Omidbeigi, R., Hassani, A., and Sefidkon, F. (2003) Essential oil content and composition of sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) at different irrigation regimes. Journal of Essential Oil Bearing Plants 6: 104-108.
- Pellotte, J. P., Maria A. and Martinez, D. P. (1993) Flavonoid variation with the plant age in zzyphus mistol leaves. Biochemical Systematics and Ecology 2: 645-646.
- Porres-Martinez, M., Gonzalez-Burgos E. Carretero M. E. and Gomez-Serranillos, M. P. (2014) Influence of phenological stage on chemical composition and antioxidant activity of *Salvia lavandulifolia* Vahl. essential oils. Industrial Crops and Products 53:71-77.
- Slinkard, K. and V. L. Singleton. (1977) Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.
- Sawdogo, W.R., Meda, A., Lamien, C.E., Kiendrebeogo, M., Guissou, I. and Nacoulma, O.G. (2006) Phenolic content and antioxidant activity of six Acanthaceae from Burkina Faso. Journal of Biological Sciences 6: 249-252.
- Torki, M. and Amjad, L. (2015) Comparative analysis of chemical composition of *Achillea wilhelmsii* flowers in phenological different stages. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences 5: 90-93.
- Valentine, I. K., Kalevitch, M. V. and Borsari, B. (2003) Phenolic cycle in plants and environment. Journal of Cell and Molecular Biology 2: 13-18.
- Witzell, G., Gref, R. and Nasholm, T. (2003) Plant-Part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtills*) plants. Biochemical Systematics and Ecology 31: 115-127.

