فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۷، آذر و دی‌ماه ۱۴۰۲ صفحه: ۳۷-۴۹
https://doi.org/10.22034/12.57.37

مقاله پژوهشی

اثر زمان برداشت بر میزان برخی متابولیت‌های ثانوی و عناصر فلزی یونجه (*Medicago sativa* L.)

حمیدرضا وحیدی‌پور، منیره چنیانی*، مهرداد لاهوتی، علی گنجعلی و مریم مقدم متین

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۲/۱۸)

چکیده

گیاهان علوفه‌ای به دلیل داشتن ترکیبات زیست‌فعال که تغذیه دام‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند و نیز قابلیت درمانی آن‌ها برای انسان‌ها، مورد توجه قرار گرفته‌اند. امروزه در سامانه‌های کشت گیاهان علوفه‌ای، زمان مناسب برداشت برای دستیابی به عملکرد بهینه بسیار اهمیت دارد. به منظور بررسی اثر زمان برداشت (یک الی هشت هفته پس از برداشت اولیه) بر محتوای برخی متابولیت‌های ثانوی (فنل، فلاونوئید، ایزوفلاونوئید و آلکالوئید) و عناصر فلزی (روی، آهن، منیزیم و منگنز) یونجه، آزمایشی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت این متابولیت‌ها و عناصر به طور قابل توجهی در زمان‌های مختلف برداشت محصول تغییر کرد. به‌طوری‌که محتوای فنل کل در هفته‌های پنجم، ششم و هفتم (به ترتیب، افزایش ۲/۳۷، ۲/۲۹ و ۲/۲۴ برابری نسبت به هفته دوم)، محتوای تام فلاونوئید در هفته ششم (افزایش ۱/۸۹ برابری نسبت به هفته دوم)، محتوای ایزوفلاونوئید کل در هفته ششم (افزایش ۱/۷۵ برابری نسبت به هفته اول) و محتوای آلکالوئید کل در هفته‌های هفتم و هشتم (به ترتیب، افزایش ۱۰/۵۸ و ۱۱/۷۵ برابری نسبت به هفته اول) بیشترین مقدار بودند. همچنین میزان بیشینه عنصر آهن در هفته‌های پنجم و ششم و میزان بیشینه عناصر منیزیم و منگنز در هفته ششم مشاهده شدند. وجود بیشینه میزان این فیتواستروژن‌ها و عناصر در مراحل اواسط و اواخر گلدهی (به ترتیب، هفته‌های پنجم و ششم) احتمالاً می‌تواند عامل مهمی در تعیین کیفیت علوفه و میزان بازده محصول باشد و با توجه به خواص دارویی آن‌ها برای انسان، این مراحل مناسب‌ترین زمان برداشت محصول است.

کلمات کلیدی: ایزوفلاونوئید، خواص دارویی، فلاونوئید، فنل، فیتواستروژن‌های یونجه

مقدمه

جنس یونجه یکی از گسترده‌ترین جنس‌های تیره حبوبات (Fabaceae) است که حدود ۸۷ گونه متنوع در جهان را به خود اختصاص داده است (Gholami *et al.*, 2014). این جنس در ایران دارای ۱۵ گونه علفی یکساله و چندساله است که همگی آن‌ها علوفه‌ای و خوش‌خوراک هستند (Mozaffarian, 1996). گونه یونجه معمولی (*Medicago sativa* L.)، یک گیاه علفی چندساله است که خواستگاه آن از آسیاست (Bora and Sharma, 2011).

یونجه به لحاظ داشتن ویتامین‌ها و املاح معدنی و درصد بالای پروتئین خام، ارزش زیادی از نظر تغذیه و تولید محصولات دامی دارد و به‌عنوان «پادشاه علوفه‌ها» از آن نام

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: cheniany@um.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

می‌برند (Atumo and Jones, 2021; Katoch, 2022; Zhao *et al.*, 2021). همچنین به دلیل سرشار بودن از منابع ویتامین‌ها و آهن، این گیاه ارزش دارویی و تغذیه‌ای فراوان برای انسان دارد و لذا یونجه عموماً به نام «آل‌فال‌فا» یعنی «پدر همه غذاها» شناخته می‌شود. یونجه قدیمی‌ترین گیاه کشت‌شده در سراسر جهان است و از گذشته‌های دور به منظور بهبود خاک، تغذیه دام و استفاده‌های دارویی کشت شده است (Bora and Sharma, 2011). این گیاه به جهت داشتن سامانه ریشه‌ای خاص و تثبیت نیتروژن از طریق همزیستی با باکتری‌های گره‌زای ریشه نقش مهمی در حاصلخیزی خاک و تناوب زراعی دارد. یکی دیگر از ویژگی‌های مهم گونه‌های مختلف یونجه، توانایی رشد مجدد پس از برداشت علوفه یا چرا در مراحل مختلف فنولوژی است که با ذخیره‌کردن انرژی در طوقه برای رشد مجدد پس از برداشت، می‌توانند برداشت‌های مکرر (حدوداً هر ۴۰–۳۵ روز) را تحمل کنند (Tabatabaei *et al.*, 2017; Atumo and Jones, 2021).

یونجه به‌عنوان منبع مهم فیتواستروژن‌ها شناخته می‌شود. وجود مقادیر فراوان فنل‌ها، فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها، این گیاه را یک منبع غنی از این استروژن‌های گیاهی ساخته است. مشخص شده فیتواستروژن‌ها به دلیل شباهت ساختار شیمیایی و وزن مولکولی‌شان به ۱۷– بتا– استرادیول و رفتار به عنوان تعدیل‌کننده‌های انتخابی گیرنده استروژن، اثرات استروژنی و/یا ضداستروژنی روی انسان و حیوانات و همچنین اثرات آندروژن و پروژسترون دارند. این استروژن‌های گیاهی اثرات مفیدی بر سلامت انسان و پیشگیری از بیماری‌های متعدد نظیر پوکی استخوان، سرطان، دیابت و مشکلات قلبی عروقی دارند. آن‌ها بازدارنده قوی سلول‌های سرطانی مثانه، رحم، پروستات، پستان و کلیه هستند. کشت یونجه به عنوان یک منبع غنی فیتواستروژن برای اهداف دارویی، فرصت‌هایی را برای استفاده جایگزین از این علوفه فراهم کرده است (Seguin and Zheng, 2006; Moore *et al.*, 2020; Soto-Zarazua *et al.*, 2016).

اثرات مثبت فیتواستروژن‌ها بر مراحل مختلف بلوغ و رسیدگی یونجه، کیفیت تغذیه‌ای و قابلیت هضم‌پذیری علوفه گزارش شده است (Atumo and Jones, 2021). علی‌رغم اثرات مثبت، این ترکیبات اغلب در غلظت‌های زیاد باعث مشکلات تولیدمثلی در دام‌ها، نظیر ناباروری موقت در هر دو جنس نر و ماده، بی‌نظمی در رفتارهای جنسی، کاهش نرخ تخمک‌گذاری و آبستنی، تأخیر در زادآوری، کاهش درصد دوقلوزایی، اختلال در عملکرد تخمدان، بیماری کیست تخمدان و افزایش سقط جنین می‌شوند. در صورت حذف علوفه‌های استروژنی از جیره غذایی دام، ناباروری موقت بهبود می‌یابد. با این وجود اگر فیتواستروژن‌ها در مدت زمان طولانی به مصرف دام برسند، ناباروری دائمی خواهد شد. گوسفندان به فیتواستروژن نسبت به گاوها آسیب‌پذیرتر هستند. ولی فیتواستروژن‌ها روی گوسفندان نر اثر تولیدمثلی ندارد و همچنین اثرات مثبت این ترکیبات بر دام‌های گوشتی و کیفیت گوشت آن‌ها تأیید شده است و باعث افزایش نسبت گوشت به چربی می‌شود (Seguin and Zheng, 2006; Collins *et al.*, 2018; Moore *et al.*, 2020; Katoch, 2022).

یکی دیگر از عوامل تعیین‌کننده میزان کیفیت و دلپذیری علوفه‌های پایای نواحی معتدله، محتوای آلکالوئیدهای آن‌ها است. به‌طورکلی این ترکیبات به عنوان عوامل ضدکیفیت و ضدتغذیه‌ای شناخته می‌شوند و غلظت آن‌ها بستگی به مرحله رشدونموی گیاه دارد (Stone, 2010). آلکالوئیدها علاوه بر متأثر ساختن مزه علوفه، میزان هضم آن را نیز کاهش می‌دهند. برخی آلکالوئیدها از هضم سلولز در معده دام ممانعت می‌کنند. به‌طور مشخص اگر علوفه‌های حاوی مقادیر فراوان این عوامل ضدتغذیه‌ای در حجم زیاد مصرف شوند، باعث کاهش انرژی و مواد غذایی دریافتی حیوان شده، عملکرد و بهره‌وری دام را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در ادامه حتی با ایجاد سمیت و اختلالات عصبی، گوارشی و مشکلات قلبی باعث مرگ دام می‌شوند. بالابودن کیفیت علوفه‌ای یونجه نسبت به دیگر علوفه‌ها به دلیل محتوای اندک آلکالوئیدهای این گیاه است که باعث افزایش قابلیت جذب و هضم‌پذیری بالای آن می‌شود (Collins *et al.*, 2018; Burns, 2009; Moore *et al.*, 2020; Katoch, 2022).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

برخی مطالعات تغییرات محتوای فیتواستروژن‌های یونجه را با توجه به زمان برداشت محصول گزارش کرده‌اند (Soto-Zarazua *et al.*, 2016; Seguin and Zheng, 2006). در تحقیقی در کانادا روی چندین رقم زراعی گونه یونجه معمولی مشخص شد عموماً غلظت و بازده فیتواستروژن‌ها در برداشت‌های بهاره در سال بعد از کاشت افزایش یافت (Seguin and Zheng, 2006). در پژوهشی روی گونه یونجه معمولی میزان برخی فیتواستروژن‌ها در ماه‌های متوالی بررسی و بیان شد که میزان فیتواستروژن‌ها در مراحل اولیه رویشی گیاه کم است (Soto-Zarazua *et al.*, 2016).

از بین عوامل مؤثر بر عملکرد علوفه، مرحله رشد و زمان و چگونگی برداشت به‌عنوان عامل مهمی در کیفیت علوفه مطرح است (Tabatabaei *et al.*, 2017). زمان‌های برداشت متفاوت، توانایی گیاه را در رویش مجدد تحت تأثیر قرار می‌دهد. فواصل زمانی برداشت محصول یونجه با الگوهای گلدهی تعیین می‌شود. معمولاً مرحله ۵۰ درصد گلدهی به‌عنوان زمان برداشت محصول یونجه تعیین می‌شود. برداشت زودهنگام یا دیرهنگام اثر نامطلوب بر کمیت، کیفیت و ماندگاری محصول و علوفه تولیدی دارد. در یک پژوهش تفاوت‌های بازده و کیفیت تغذیه‌ای یونجه معمولی در طول ۲۰ ماه بعد از کاشت بررسی شد و بازده ماده خشک، بازده بذر، غلظت پروتئین خام و مقادیر فیبر، لیگنین، سلولز و همی‌سلولز و در نتیجه قابلیت هضم‌پذیری علوفه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مرحله ۵۰ درصد گلدهی بیشترین کیفیت علوفه تولیدی را داشت (Atumo and Jones, 2021). در تحقیقی دیگر روی رقم‌های مختلف یونجه معمولی در ایران، مشخص شد که رقم زراعی یونجه یزدی در اکثر شاخص‌ها از جمله نسبت برگ به ساقه، درصد ماده خشک و عملکرد علوفه خشک نسبت به سایر رقم‌های زراعی برتری دارد (Tabatabaei *et al.*, 2017).

تاکنون پژوهش‌های اندکی در زمینه تأثیر زمان‌های مختلف برداشت بر میزان متابولیت‌ها و عناصر فلزی یونجه در ایران انجام شده است، که این موضوع با توجه به پتانسیل بالای تولید این گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک نیز بیش از پیش اهمیت می‌یابد، لذا این پژوهش به منظور شناسایی مناسب‌ترین زمان برداشت این گیاه جهت حصول حداکثر عملکرد علوفه و بهترین میزان متابولیت‌های ثانوی و عناصر فلزی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی: این آزمایش به صورت گلدانی-هیدروپونیک روی گونه یونجه معمولی رقم یزدی (*M. sativa* L. cv. Yazdi) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. بذر این رقم از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. هر واحد آزمایش برابر با یک گلدان استوانه‌ای به قطر و ارتفاع ۲۵ سانتیمتر بود که یک بوته یونجه در آن استقرار پیدا کرده بود. این آزمایش به صورت کشت هیدروپونیک در بستر فشرده پرلیت-کوکوپیت با نسبت حجمی/حجمی ۱:۱ اجرا شد. گلدان‌ها تا زمان جوانه‌زنی بذرها با آب‌مقطر و پس از آن با محلول غذایی هوگلند یک دوم تعدیل‌شده آبیاری شدند. گیاهان در محیط گلخانه با رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نوری ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و هشت ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند (Ghelich and Zarinkamar, 2013; Bai *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2021). برداشت اولیه از گیاهان در مرحله ۵۰ درصد گلدهی صورت گرفت و مراحل نمونه‌برداری به صورت هفته‌ای تا هشت هفته متوالی پس از آن انجام شده و نمونه‌ها در آون (Oven model 5-1486, Memmert Co., Germany) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. عصاره‌گیری نمونه‌های گیاهی به روش تغییر یافته Karimi و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. به این صورت که ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خشک بخش هوایی یونجه در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (حجمی/حجمی) درون شیکر انکوباتور (WiseCube model WIS-20, Daihan Scientific Co., Korea) (دما ۴۵ درجه سلسیوس و سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه) و سپس درون سونیکیت (Sonicate model

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

2600S, Parsonic Co., Japan) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و با فرکانس ۴۰ کیلو هرتز به مدت ۴۴ دقیقه انکوبه شد. سپس عصاره‌ها با کاغذ صافی (واتمن شماره یک) صاف شده و در زیر هود شیمیایی در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت حدود چهار ساعت تغلیظ و خشک شد و برای سنجش‌های بعدی در فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سنجش‌ها با عصاره رقیق‌شده انجام شد. بدین منظور ۲ میلی‌گرم عصاره کاملاً خشک‌شده در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (حجمی/حجمی) درون سونیکیت (دما ۵۰ درجه سلسیوس و با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز به مدت ۴۰ دقیقه) حل شد. به این صورت که بعد از هر ۲۰ دقیقه سونیکاسیون، دو دقیقه در دمای ۷۰ درجه ورتکس (WiseMix model VM-10, Daihan Scientific Co., Korea) شد.

سنجش محتوای فنل کل (TPC): محتوای فنل کل براساس روش رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتو (Folin-ciocaltue) و با استفاده از گالیک اسید (Gallic Acid) به‌عنوان استاندارد و به روش تغییریافته Karimi و همکاران (۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره رقیق‌شده ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو (۱۰ درصد حجمی/حجمی با آب‌مقطر) و ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷/۵ درصد وزنی/حجمی با آب‌مقطر) اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۴۰ درجه سلسیوس، جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از طیف‌سنج نوری UV-Vis (Jasco (LCD type) model 7800, Japan Spectroscopic Co., Japan) در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر و در مقابل محلول بلانک (آب‌مقطر) بررسی و مقدار فنل کل از روی منحنی استاندارد برحسب میکروگرم معادل گالیک اسید بر میلی‌گرم عصاره خشک بیان شد.

سنجش محتوای فلاونوئید کل (TFC): محتوای فلاونوئید کل براساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید و با استفاده از کوئرستین (Quercetin) به‌عنوان استاندارد و به روش تغییریافته Chang و همکاران (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره رقیق‌شده ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حجمی/حجمی و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم تری کلراید (۱۰ درصد وزنی/حجمی با آب‌مقطر) و ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات (۱ مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط، جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از طیف‌سنج نوری UV-Vis در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل محلول بلانک (مشابه محلول واکنش بدون عصاره و آلومینیوم تری‌کلراید) بررسی و مقدار فلاونوئید کل از روی منحنی استاندارد برحسب میکروگرم معادل کوئرستین بر میلی‌گرم عصاره خشک بیان شد.

سنجش محتوای ایزوفلاونوئید کل (TIC): محتوای ایزوفلاونوئید کل براساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید و با استفاده از جنیستین (Genistin) به‌عنوان استاندارد و به روش تغییریافته Cesar و همکاران (۲۰۰۸) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که به ۰/۶۲۵ میلی‌لیتر عصاره رقیق‌شده ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر آلومینیوم تری‌کلراید (۲ درصد وزنی/حجمی با متانول) و ۲/۳۷۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حجمی/حجمی اضافه شد. بعد از واکنش نمونه‌ها با آلومینیوم تری‌کلراید جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از طیف‌سنج نوری UV-Vis در طول‌موج ۳۸۲ نانومتر در مقابل محلول بلانک (متانول) بررسی و مقدار ایزوفلاونوئید کل از روی منحنی استاندارد برحسب میکروگرم معادل جنیستین بر میلی‌گرم عصاره خشک بیان شد.

سنجش محتوای آلکالوئید کل: محتوای آلکالوئید کل به روش تغییریافته Ahmad Dar و همکاران (۲۰۱۵) و بر حسب درصد از وزن اولیه نمونه سنجش شد. در این روش ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خشک‌شده بخش هوایی گیاهان یونجه در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حجمی/حجمی و ۵۰ میلی‌گرم منیزیم اکسید درون شیکر انکوباتور (به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه) انکوبه شد. سپس عصاره با کاغذ صافی (واتمن شماره یک) صاف شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Centrifuge model 1-14, Sigma, Germany) شد و روشناور آن جمع‌آوری و در زیر هود شیمیایی در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت چهار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

ساعت تغلیظ و خشک شد و محتوای آلکالوئید کل طبق رابطه (۱) به صورت درصد از وزن اولیه نمونه خشک بیان شد.

رابطه (۱)

محتوای آلکالوئید کل (٪) = (WA−WE)/WR×100

که در آن (WA) وزن ظرف حاوی باقی‌مانده، (WE) وزن ظرف خالی و (WR) وزن اولیه نمونه خشک است.

اندازه‌گیری میزان عناصر فلزی: میزان عناصر روی، آهن، منیزیم و منگنز در هر یک از نمونه‌های اندام هوایی یونجه به روش طیف‌سنجی انتشار نوری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES) سنجش شد (Liu *et al.*, 2014). برای هضم بافت‌های گیاهی به ۲۰۰ میلی‌گرم پودر نمونه‌های خشک‌شده ۳ میلی‌لیتر نیتریک اسید و ۱ میلی‌لیتر پرکلریک اسید افزوده و ۴۸ ساعت در زیر هود شیمیایی و در دمای محیط قرار داده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید اضافه و بعد از ۲۴ ساعت با کاغذ صافی (واتمن شماره یک) صاف شده و با آب دیونیزه به حجم ۵ میلی‌لیتر رسید و غلظت عناصر مذکور در نمونه‌ها با دستگاه ICP-OES (Inductivity Coupled Plasma - Optic Emission Spectroscopy, model 76004555, SPECTRO ARCOS System, Germany) بررسی شده و بر حسب میکروگرم بر گرم ماده خشک بیان شد.

آنالیز داده‌ها و بررسی‌های آماری به کمک نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 20 انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و در سطوح احتمال خطا یک و پنج درصد صورت گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد.

نتایج و بحث

محتوای متابولیت‌های ثانویه: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زمان برداشت بر محتوای کل متابولیت‌های ثانوی فنل، فلاونوئید، ایزوفلاونوئید و آلکالوئید در سطوح احتمال خطا یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

مقایسه میانگین محتوای متابولیت‌های ثانویه در هفته‌های اول الی هشتم پس از برداشت اولیه نشان داد که با افزایش زمان برداشت از برداشت اولیه محتوای متابولیت‌های ثانویه مورد بررسی افزایش یافت. به‌طوری‌که میانگین محتوای فنل کل در هفته‌های پنجم، ششم و هفتم بیشترین مقدار (به ترتیب ۳۸۵/۶۳، ۳۷۱/۵۸ و ۳۶۳/۴۹ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) و در هفته دوم کمترین مقدار (۱۶۲/۴۵ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) بود. به‌طورکلی محتوای فنل کل در هفته‌های پنجم، ششم، هفتم و هشتم نسبت به هفته دوم، به ترتیب، ۲/۳۷، ۲/۲۹، ۲/۲۴ و ۲/۰۲ برابر افزایش نشان داد. همچنین افزایش معنی‌دار حدود ۱/۹ برابری ترکیبات فنلی در هفته سوم (۳۰۱/۷۳ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) نسبت به هفته دوم مشاهده شد (شکل ۱).

میانگین محتوای فلاونوئید کل در هفته ششم بیشترین مقدار (۶۵/۶۲ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) و در هفته دوم کمترین مقدار (۳۴/۶۵ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) بود. بین هفته‌های پنجم و هفتم (به ترتیب ۵۷/۴۳ و ۶۱/۹۸ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) و بین هفته‌های سوم، چهارم و هشتم (به ترتیب ۴۸/۰۵، ۴۶ و ۵۲/۸۸ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) تفاوت آماری معنی‌داری از لحاظ محتوای فلاونوئید کل مشاهده نشد. به‌طورکلی محتوای فلاونوئید کل در هفته‌های پنجم، ششم، هفتم و هشتم نسبت به هفته دوم، به ترتیب، ۱/۶۶، ۱/۸۹، ۱/۷۹ و ۱/۵۳ برابر افزایش نشان داد (شکل ۱).

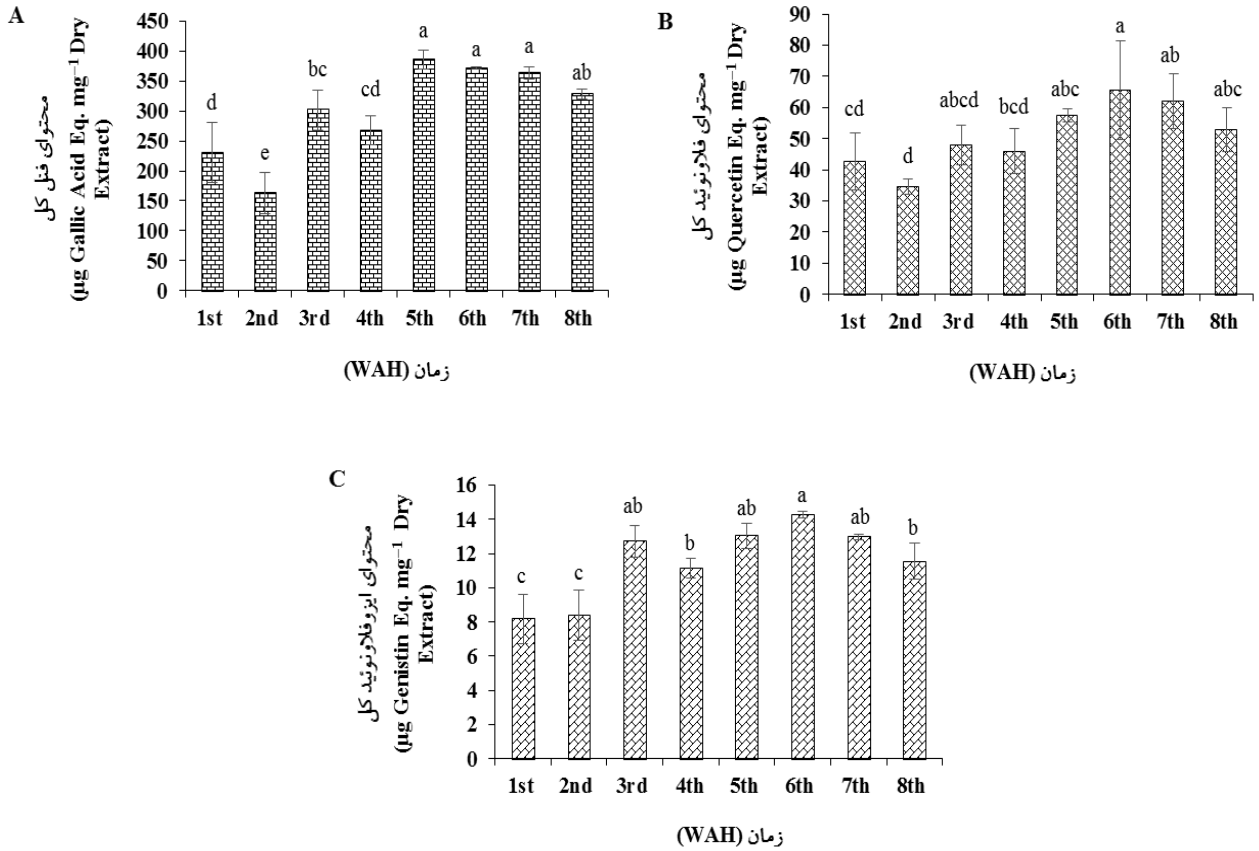
میانگین محتوای ایزوفلاونوئید کل در هفته ششم بیشترین مقدار (۱۴/۲۷ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) و در هفته اول کمترین مقدار (۸/۱۶ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) بود. به‌طوری‌که محتوای ایزوفلاونوئیدها در هفته‌های پنجم، ششم، هفتم و هشتم نسبت به هفته اول، به ترتیب، ۱/۶، ۱/۷۵، ۱/۵۹ و ۱/۴۱ برابر افزایش یافت. همچنین بین هفته‌های اول و دوم (به ترتیب ۸/۱۶ و ۸/۳۹ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) و بین هفته‌های سوم، پنجم و هفتم (به ترتیب ۱۲/۷، ۱۳/۰۳ و ۱۲/۹۸ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره خشک) تفاوت معنی‌داری از لحاظ محتوای ایزوفلاونوئید کل مشاهده نشد (شکل ۱).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر زمان برداشت بر محتوای متابولیت‌های ثانویه یونجه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فنل کل	فلاونوئید کل	ایزوفلاونوئید کل	آلکالوئید کل
زمان برداشت	۷	۱۸۰۳۴/۷۹**	۳۲۰/۱۱*	۱۴/۸۳**	۱۵/۰۳**
خطا	۱۶	۱۱۰۴/۱۹	۱۰۵/۷۴	۱/۳۶	۰/۲۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۱۱/۰۲	۲۰/۰۹	۱۰/۱۳	۱۶/۲۷

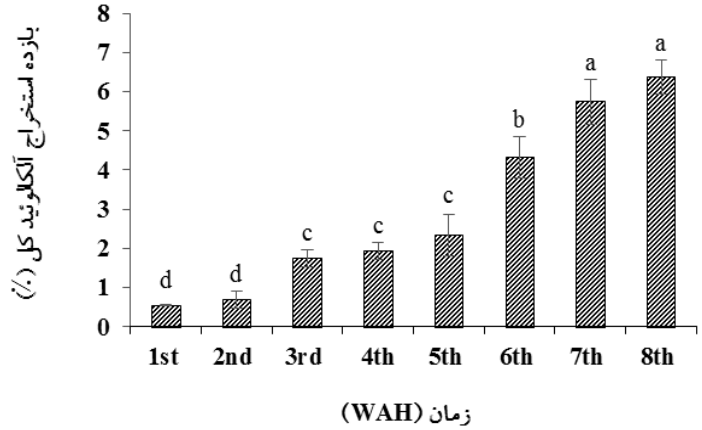
**** و * به‌ترتیب، معنی‌داری در سطوح احتمال یک و پنج درصد هستند.**



شکل ۱- مقایسه میانگین محتوای ترکیبات فنل کل (A)، فلاونوئید کل (B) و ایزوفلاونوئید کل (C) بخش هوایی یونجه، در زمان‌های مختلف برداشت (یک الی هشت هفته پس از برداشت اولیه) بر حسب میکروگرم معادل استاندارد (به ترتیب گالیک اسید، کوئرستین و جنیستین) بر میلی‌گرم عصاره خشک (Error bars = ±SD).

میانگین محتوای آلکالوئید کل در هفته‌های هشتم و هفتم بیشترین مقدار (به ترتیب ۶/۳۷ و ۵/۷۴ درصد از وزن اولیه نمونه خشک) و در هفته‌های اول و دوم کمترین مقدار (به ترتیب ۰/۵۴ و ۰/۷ درصد از وزن اولیه نمونه خشک) بود. ضمن اینکه بین هفته‌های سوم، چهارم و پنجم (به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۹۳ و ۲/۳۲ درصد از وزن اولیه نمونه خشک) تفاوت معنی‌داری از لحاظ محتوای آلکالوئید کل مشاهده نشد. به‌طورکلی میزان آلکالوئیدها در هفته‌های سوم، چهارم، پنجم، ششم، هفتم و هشتم نسبت به هفته اول، به ترتیب، ۳/۲۲،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای آلکالوئید کل بخش هوایی یونجه در زمان‌های مختلف برداشت (یک الی هشت هفته پس از برداشت اولیه) به صورت درصد از وزن اولیه نمونه خشک (Error bars = ±SD).

۳/۵۷، ۴/۲۹، ۷/۹۸، ۱۰/۵۸ و ۱۱/۷۵ برابر افزایش نشان داد (شکل ۲).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ایزوفلاونوئیدی در هفته‌های پنجم و ششم (به ترتیب، روزهای ۳۵م و ۴۲م) پس از برداشت اولیه به بیشترین میزان خود رسید و در هفته چهارم (روز ۲۸م) کاهش چشمگیری در میزان متابولیت‌های فوق‌الذکر نسبت به هفته سوم دیده شد. همچنین میزان آلکالوئیدها در هفته‌های چهارم، پنجم، ششم، هفتم و هشتم نسبت به هفته اول، به ترتیب، ۳/۵۷، ۴/۲۹، ۷/۹۸، ۱۰/۵۸ و ۱۱/۷۵ برابر افزایش نشان داد. تاکنون پژوهش‌های اندکی در زمینه بررسی مقایسه‌ای میزان متابولیت‌های ثانویه در زمان‌های مختلف برداشت یونجه انجام شده است. اکثر تحقیقات در زمینه استخراج، شناسایی و تعیین میزان متابولیت‌ها در زمان، مرحله نموی و اندام خاصی و بعضاً به منظور بررسی اثرات زیستی انجام شده‌اند و بخش هوایی یونجه در مراحل نموی مختلف کاملاً مورد بررسی مقایسه‌ای قرار نگرفته است. برخی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ایزوفلاونوئیدی عصاره متانولی- اسیدی برگ‌های تازه یونجه معمولی به منظور بررسی برخی اثرات زیستی استخراج شده است (Karimi *et al.*, 2013). در یک مطالعه دیگر عصاره آبی جوانه‌های یونجه معمولی به منظور استخراج برخی ترکیبات فنلی و ایزوفلاونوئیدی و بررسی میزان متابولیت‌ها و برخی اثرات زیستی استفاده شده است (Silva *et al.*, 2013). بررسی مقایسه‌ای محتوای ایزوفلاونوئیدی عصاره‌های مختلف آبی، آبی- الکلی و الکلی برگ هفت گونه یونجه (از جمله یونجه معمولی) انجام شد ولی اشاره‌ای به زمان و کیفیت برداشت نشده است (Rodrigues *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای گزارش شد که محتوای فنل‌ها شدیداً به شرایط رشد، میزان بلوغ و رسیدگی یونجه وابسته است و زمان برداشت روی تنوع و ترکیب شیمیایی و محتوای ایزوفلاونوئید کل تأثیر می‌گذارد. در بررسی آن‌ها میزان برخی فیتواستروژن‌های یونجه معمولی در ماه‌های متوالی برداشت و در مراحل اولیه رویشی گیاه کم بود (Soto-Zarazua *et al.*, 2016).

میزان عناصر فلزی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زمان برداشت بر میزان عناصر آهن، منیزیم و منگنز در سطوح احتمال خطا یک و پنج درصد معنی‌دار بود. درحالی‌که زمان برداشت بر میزان عنصر روی تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

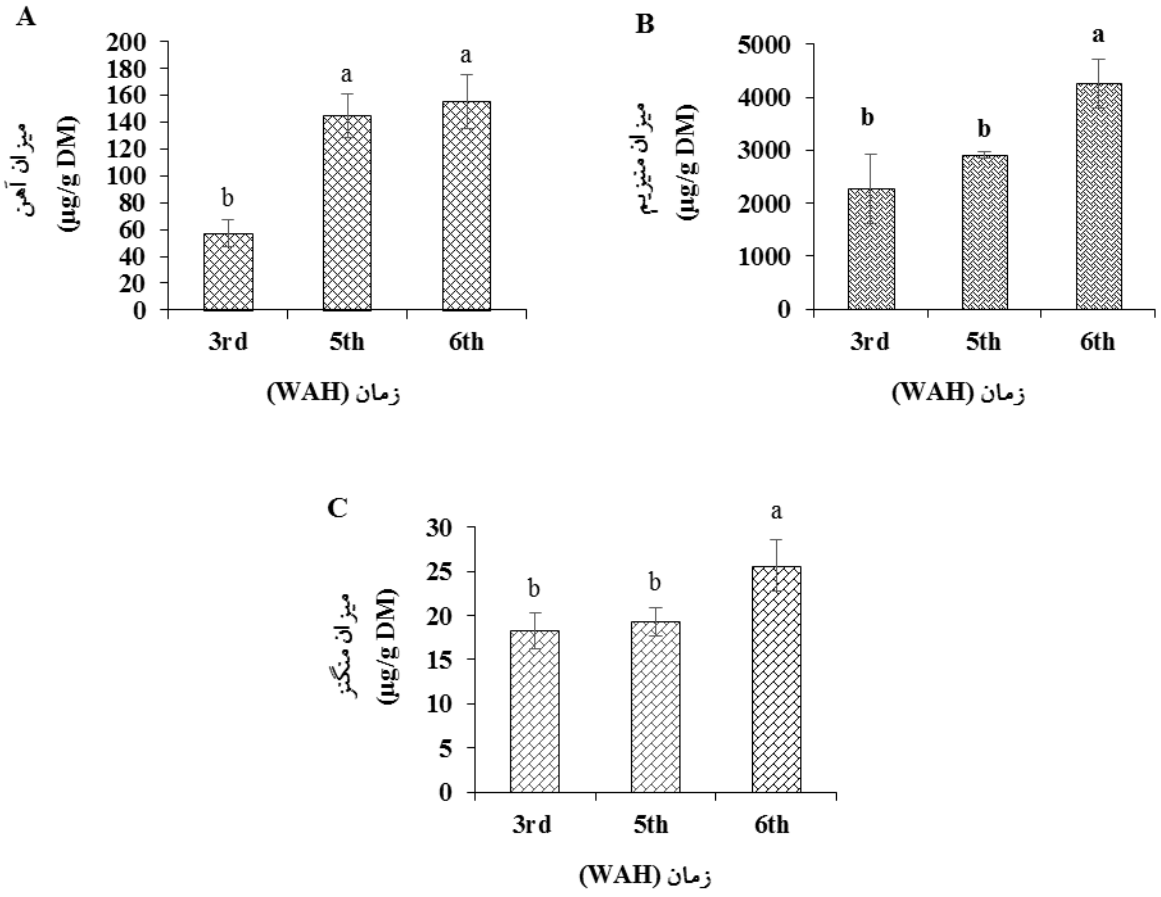
مقایسه میانگین میزان عناصر آهن، منیزیم و منگنز در هفته‌های سوم، پنجم و ششم پس از برداشت اولیه نشان داد که با افزایش زمان برداشت از هنگام برداشت اولیه میزان عناصر آهن، منیزیم و منگنز افزایش یافت. به‌طوری‌که مقادیر بیشینه عناصر آهن، منیزیم و منگنز در هفته ششم (به ترتیب ۱۵۵/۱۳، ۴۲۴۹/۸۵ و ۲۵/۶۳ میکروگرم بر گرم ماده خشک) و مقادیر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر زمان برداشت بر میزان عناصر فلزی بخش هوایی یونجه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		آهن	منیزیم	روی	منگنز
زمان برداشت	۲	۸۶۰۵/۳۴**	۳۰۶۵۹۰۵*	۲۷/۶۱ns	۴۷/۵*
خطا	۶	۳۸۰/۸۵	۳۲۲۱۲۲/۸	۸/۱۲	۷/۶۲
ضریب تغییرات (٪)	-	۱۶/۳۸	۱۸/۰۶	۱۸/۴	۱۳/۱

ns، ** و * به ترتیب، عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطوح احتمال یک و پنج درصد هستند.



شکل ۳- مقایسه میانگین میزان عناصر آهن (A)، منیزیم (B) و منگنز (C) بخش هوایی یونجه در هفته‌های سوم، پنجم و ششم پس از برداشت اولیه، برحسب میکروگرم بر گرم ماده خشک (Error bars = ±SD).

کمینه آن‌ها در هفته سوم (به ترتیب ۵۷/۵۷، ۲۲۶۸/۸۹ و ۱۸/۲۹ میکروگرم بر گرم ماده خشک) بود. بررسی‌ها نشان داد مقدار آهن در هفته‌های پنجم و ششم نسبت به هفته سوم، به ترتیب، ۱۵۱/۲۶ و ۱۶۹/۴۵ درصد افزایش یافت؛ عنصر منیزیم در هفته‌های پنجم و ششم، به ترتیب، ۲۸/۲۱ و ۸۷/۳۱ درصد نسبت به هفته سوم افزایش نشان داد و میزان افزایش منگنز در هفته‌های پنجم و ششم نسبت به هفته سوم، به ترتیب، ۵/۵۲ و ۴۰/۱۳ درصد بود (شکل ۳).

در پژوهش حاضر میزان بیشینه عناصر آهن، منیزیم و منگنز در هفته ششم (روز ۴۲م) پس از برداشت اولیه و عنصر روی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

در هفته سوم (روز ۲۱م) بود. تاکنون بررسی‌های اندکی در زمینه تأثیر زمان‌های مختلف برداشت بر میزان عناصر فلزی یونجه صورت گرفته است. اکثر مطالعات به تعیین میزان عناصر در مرحله نموی و اندام خاصی پرداخته‌اند و بررسی مقایسه‌ای بین زمان‌های مختلف برداشت انجام نشده است. میزان برخی عناصر فلزی دانه‌های یونجه معمولی جمع‌آوری شده از هشت ناحیه چین بررسی شده است که میزان عناصر آهن، منیزیم، روی و منگنز به ترتیب، در محدوده ۵۲۸/۸۱–۱۲۵/۹۴، ۲۱۴۸/۷۵–۱۸۸۶/۲۵، ۵۷/۰۱–۲۷/۴۴ و ۲۸/۳۴–۱۹/۶۸ میکروگرم بر گرم ماده خشک بوده است (Liu *et al.*, 2014). درحالی‌که در تحقیق حاضر مقادیر عناصر آهن، منیزیم، روی و منگنز به ترتیب، در محدوده ۱۵۵/۱۳–۵۷/۵۷، ۴۲۴۹/۸۵–۲۲۶۸/۸۹، ۱۸/۸۵–۱۲/۹۵ و ۲۵/۶۳–۱۸/۲۹ میکروگرم بر گرم ماده خشک بود.

در این مطالعه گیاهان یونجه در هفته سوم (روز ۲۱م) پس از برداشت اولیه شروع به گلدهی کرده و در هفته پنجم (روز ۳۵م) به مرحله ۵۰ درصد گلدهی رسیدند و در هفته ششم (روز ۴۲م) میوه‌ها و نیام‌ها روی گیاهان شروع به تشکیل شدن کردند. نتایج حاکی از ارتباط بیشینه میزان متابولیت‌های ثانوی و عناصر مورد بررسی با مراحل زایشی یونجه است که گزارشات زیر مؤید این موضوع هستند. در تحقیقی در کانادا روی چندین رقم زراعی گونه یونجه معمولی در مرحله ابتدای گلدهی مشخص شد که عموماً غلظت و بازده فیتواستروژن‌ها در برداشت‌های بهاره در سال بعد از کاشت افزایش می‌یابد (Seguin and Zheng, 2006). در پژوهشی دیگر از بین اندام‌های مختلف گونه یونجه معمولی و مراحل مختلف بلوغ، بیشترین میزان فیتواستروژن‌ها در گل‌ها مشاهده شد (Seguin *et al.*, 2004). بیشترین عملکرد و کیفیت علوفه یونجه در مرحله زایشی گزارش شده و الگوی (۵۰ درصد) گلدهی برای زمان برداشت محصول پیشنهاد شده است (Atumo and Jones, 2021; Tabatabaei *et al.*, 2017). مشخص شده کیفیت علوفه‌ای شبدر قرمز در مرحله میانه گلدهی بیشتر از مرحله ابتدای گلدهی است (Dordevic *et al.*, 2021) و همچنین به نظر می‌رسد رسیدگی یونجه بیشترین تأثیر را روی تنوع پارامترهای شیمیایی علوفه دارد (Mielmann, 2013).

با توجه به ارتباط تنگاتنگ متابولیسم ثانوی با متابولیسم اولیه در گیاهان، وجود متابولیت‌های ثانوی تحت تأثیر متابولیسم اولیه گیاه است. پیش‌ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثانوی از متابولیت‌های اولیه حاصل می‌شوند. مسیرهای اصلی متابولیت‌های ثانوی در گیاه و ارتباط آن‌ها با متابولیسم اولیه مشخص شده است. مثلاً فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) آنزیم حدواسط بین متابولیسم اولیه و ثانوی در گیاهان است. آنزیم PAL اولین آنزیم کلیدی و تعیین‌کننده در ابتدای مسیر تولید فنیل پروپانوئیدها است (Esmaeilzadeh Bahabadi and Sharifi, 2013). میزان و چگونگی رشد یونجه و ارتباط آن با بازده و کیفیت علوفه و ذخایر کربوهیدرات ریشه برای تولید علوفه با کیفیت بالا ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه یونجه یک گیاه پاياست؛ کربوهیدارت‌ها (قند و نشاسته) را در طوقه و ریشه ذخیره می‌کند و در هنگام فصل بهار و نیز پس از هر برداشت این ذخایر کربوهیدرات را برای رشد مجدد استفاده می‌کند. سطوح بالای ذخایر کربوهیدرات رشد مجدد بعد از برداشت را تسریع می‌بخشد (Undersander *et al.*, 2011, 2021). گونه‌های مختلف یونجه، با ذخیره‌کردن انرژی در طوقه خود برای رشد مجدد پس از برداشت، می‌توانند برداشت‌های مکرر (حدوداً هر ۴۰–۳۵ روز) را تحمل کنند (Atumo and Jones, 2021). لذا کیفیت رشد گیاه پس از سربرداری و ذخایر کربوهیدرات‌های آن با میزان سنتز متابولیت‌های ثانوی و تجمع عناصر مورد بررسی در این پژوهش ارتباط داشته و تحت تأثیر فاصله دوره‌های سربرداری از یکدیگر است. از طرف دیگر در صورت انجام برداشت‌های بسیار و مکرر، دوره زندگی یونجه می‌تواند به علت ناتوانی در تجمع مقادیر کافی کربوهیدرات‌های محلول در آب، کوتاه شود. به همین علت دوره‌های برداشت حداقل ۳۰ روزه برای حصول بازدهی کافی و نیز کیفیت قابل قبول پیشنهاد شده است (Ibrahim *et al.*, 2019). مشخص شده است که برداشت زودهنگام باعث کاهش بازده ماده خشک می‌شود (Tabacco *et*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

al., 2002). نتایج مشابهی برای افزایش ارتفاع بوته‌های یونجه در برداشت گزارش شده است. به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع بوته‌ها پروتئین علوفه و قابلیت هضم آن به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Borreani *et al.*, 2006). همچنین ارتفاع محصول برداشت شده روی غلظت فیتواستروژن‌های آن تأثیر می‌گذارد (Seguin *et al.*, 2004).

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر تأیید می‌کند که غلظت متابولیت‌های ثانویه فنل، فلاونوئید، ایزوفلاونوئید، آلکالوئید و عناصر فلزی آهن، منیزیم و منگنز به‌طور قابل توجهی در زمان‌های مختلف برداشت محصول تغییر می‌کند و وجود بیشینه میزان آن‌ها در مراحل ابتدایی تا انتهایی گلدهی یونجه دلیلی بر ارتباط محتوای متابولیت‌های ثانویه و عناصر مذکور با گذار از مرحله رویشی به مرحله زایشی در این گیاهان است و احتمالاً می‌تواند عامل مهمی در تعیین کیفیت علوفه و تعیین میزان بازده محصول باشد و پیشنهاد می‌شود با توجه به اثرات ضد تغذیه‌ای متابولیت‌های فوق (برای علوفه دام‌های مولد) مخصوصاً در مراحل انتهای زایشی حتی‌المقدور زمان‌های برداشت را به اوایل دوره گلدهی و تا قبل از رسیدن به مرحله ۵۰ درصد گلدهی موکول کرد تا ضمن دستیابی به علوفه با کیفیت تغذیه‌ای مناسب و قابل‌قبول، گیاه بتواند برای برداشت‌های بعدی انرژی لازم را در خود ذخیره کند و نیز از خطرات انباشت برخی از ترکیبات ضدتغذیه‌ای در علوفه دام‌های مولد جلوگیری شود. لذا با توجه نتایج تحقیق حاضر، برداشت علوفه یونجه برای دام‌های مولد در پایان هفته چهارم (روز ۲۸م) بعد از برداشت اولیه پیشنهاد می‌شود.

از طرف دیگر، وجود فیتواستروژن‌های یونجه از لحاظ خواص دارویی آن‌ها برای انسان و نیز در تولید علوفه برای دام‌های گوشتی، بسیار حائز اهمیت و سودمند است و با بررسی نتایج این مطالعه، بهترین مرحله فنولوژی و مناسب‌ترین زمان برداشت محصول برای این کاربردهای دارویی، هفته‌های پنجم و ششم (روزهای ۳۵م و ۴۲م) پس از برداشت اولیه پیشنهاد می‌شود که گیاه به ترتیب، در مرحله‌های اواسط گلدهی و اواخر گلدهی است و دارای بیشترین مقدار ترکیبات فیتواستروژنی است.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد بابت تأمین هزینه‌های پژوهش حاضر از محل اعتبارات پژوهشی آن معاونت (با کد طرح پژوهشی رساله دکتری به شماره ۳/۴۳۵۲۰) سپاسگزاری می‌کنند.

منابع

Ahmad Dar, T., Uddin, M., Khan, M. M. A., Ali, A., Hashmi, N., & Idrees, M. (2015). Cumulative effect of gibberellic acid and phosphorus on crop productivity, biochemical activities and trigonelline production in *Trigonella foenum-graecum* L. *Cogent Food and Agriculture*, *1*, 995950. https://doi.org/10.1080/23311932.2014.995950

Atumo, T. & Jones, C. S. (2021). Varietal differences in yield and nutritional quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.) accessions during 20 months after planting in Ethiopia. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, *9*, 89-96. https://doi.org/10.17138/tgft(9)89-96

Bai, X., Liu, J., Tang, L., Cai, H., Chen, M., Ji, W., Liu, Y., & Zhu, Y. (2013). Overexpression of GsCBRLK from *Glycine soja* enhances tolerance to salt stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Functional Plant Biology*, *40*, 1048-1056. https://doi.org/10.1071/fp12377

Bora, K. S. & Sharma, A. (2011). Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: A review. *Pharmaceutical Biology*, *49*, 211-220. https://doi.org/10.3109/13880209.2010.504732

Borreani, G., Odoardi, M., Reyneri, A., & Tabacco, E. (2006). Effect of cutting height and stage of development on lucerne quality in the Po plain. *Italian Journal of Agronomy*, *1*, 37-44. https://doi.org/10.4081/ija.2006.37

Burns, J. C. (2009). Nutritive value. *Tall Fescue for the Twenty-first Century*, *53*, 157-20. https://doi.org/10.2134/agronmonogr53.c11

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

Cesar, I. D. C., Braga, F. C., Vianna-Soares, C. D., Nunan, E. d. A., Pianetti, G. A., & Moreira-Campos, L. M. (2008). Quantitation of genistein and genistin in soy dry extracts by UV-Visible spectrophotometric method. *Quimica Nova*, *31*, 1933-1936. https://doi.org/10.1590/s0100-40422008000800003

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*, 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

Collins, M., Nelson, C. J., Moore, K. J., & Barnes, R. F. (2018). Forages: An Introduction to Grassland Agriculture. John Wiley and Sons, Hoboken.

Dordevic, S., Mandic, V., & Dordevic, N. (2021). Effects of cutting stage and bacterial inoculant on quality of the red clover silage. *Biotechnology in Animal Husbandry*, *37*, 65-73. https://doi.org/10.2298/BAH2101065D

Esmaeilzadeh Bahabadi, S. & Sharifi, M. (2013). Increasing the Production of Plant Secondary Metabolites Using Biotic Elicitors. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, *4*, 119-128. (In Persian with English abstract)

Ghelich, S. & Zarinkamar, F. (2013). Histological and ultrastructure changes in *Medicago sativa* response to lead stress. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *2*, 20-29.

Gholami, A., De Geyter, N., Pollier, J., Goormachtig, S., & Goossens, A. (2014). Natural product biosynthesis in *Medicago* species. *Natural Product Reports*, *31*, 356-380. https://doi.org/10.1039/c3np70104b

Ibrahim, A., Celiktas, N., Ersin, C., & Yilmaz, S. (2019). The effects of cutting intervals and seeding rates on forage yield and quality of alfalfa. *Turkish Journal of Field Crops*, *24*, 12-20. https://doi.org/10.17557/tjfc.562632

Karimi, E., Oskoueian, E., Oskoueian, A., Omidvar, V., Hendra, R., & Nazeran, H. (2013). Insight into the functional and medicinal properties of *Medicago sativa* (Alfalfa) leaves extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 290-297.

Katoch, R. (2022). Nutritional Quality Management of Forages in the Himalayan Region. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-5437-4_9

Liu, F., Liu, W., Ding, W., Lv, G., & Zhou, X. (2014). Trace elements analysis by ICP-OES after microwave digestion of *Medicago sativa* L. seeds from different locations in Xinjiang, China. *Asian Journal of Chemistry*, *26*, 3522-3526. https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.16163

Mielmann, A. (2013). The utilisation of lucerne (*Medicago sativa*): A review. *British Food Journal*, 115, 590-600. https://doi.org/10.1108/00070701311317865

Moore, K. J., Collins, M., Nelson, C. J., & Redfearn, D. D. (2020). Forages: The Science of Grassland Agriculture. John Wiley and Sons, Hoboken. https://doi.org/10.1002/9781119436669

Mozaffarian, V. (1996). A dictionary of Iranian Plant Names: Latin, English, Persian. Farhang Mo'aser, Tehran.

Rodrigues, F., Almeida, I., Sarmento, B., Amaral, M. H., & Oliveira, M. B. P. (2014). Study of the isoflavone content of different extracts of *Medicago* spp. as potential active ingredient. *Industrial Crops and Products*, *57*, 110-115. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.014

Seguin, P. & Zheng, W. (2006). Phytoestrogen content of alfalfa cultivars grown in eastern Canada. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *86*, 765-771. https://doi.org/10.1002/jsfa.2412

Seguin, P., Zheng, W., & Souleimanov, A. (2004). Alfalfa phytoestrogen content: Impact of plant maturity and herbage components. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *190*, 211-217. https://doi.org/10.1111/j.1439-037x.2004.00100.x

Silva, L. R., Pereira, M. J., Azevedo, J., Gonçalves, R. F., Valentao, P., de Pinho, P. G., & Andrade, P. B. (2013). *Glycine max* (L.) Merr., *Vigna radiata* L. and *Medicago sativa* L. sprouts: A natural source of bioactive compounds. *Food Research International*, *50*, 167-175. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.025

Soto-Zarazua, M. G., Rodrigues, F., Pimentel, F. B., Bah, M., & Oliveira, M. B. P. (2016). The isoflavone content of two new alfalfa-derived products for instant beverage preparation. *Food and Function*, *7*, 364-371. https://doi.org/10.1039/c5fo01115a

Stone, B. (2010). Prospects for improving the nutritive value of temperate, perennial pasture grasses. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, *37*, 349-363. (Published online: 17 Mar 2010) https://doi.org/10.1080/00288233.1994.9513073

Tabacco, E., Borreani, G., Odoardi, M., & Reyneri, A. (2002). Effect of cutting frequency on dry matter yield and quality of lucerne (*Medicago sativa* L.) in the Po Valley. *Italian Journal of Agronomy*, *6*, 27-34. https://doi.org/10.4081/ija.2006.37

Tabatabaei, S. A., Shakeri, E., & Alinia, M. (2017). Effect of harvesting time on forage yield and protein content of different alfalfa cultivars in Yazd region. *Plant Ecophysiology (Arsanjan Branch)*, *9*, 146-156. (In Persian with English abstract)

Undersander, D., Cosgrove, D., Cullen, E., Grau, C., Rice, M. E., Renz, M., Sheaffer, C., Shewmaker, G., & Sulc, M. (2011). Alfalfa management guide. American Society of Agronomy, Madison. https://doi.org/10.2134/2011.alfalfamanagementguide

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

Undersander, D., Cosgrove, D., Cullen, E., Grau, C., Rice, M. E., Renz, M., Sheaffer, C., Shewmaker, G., & Sulc, M. (2021). Alfalfa Management Guide. American Society of Agronomy, Madison.

Wang, Z., Ke, Q., Kim, M. D., Kim, S. H., Ji, C. Y., Jeong, J. C., Lee, H. S., Park, W. S., Ahn ,M. J., & Li, H. (2015). Transgenic alfalfa plants expressing the sweetpotato Orange gene exhibit enhanced abiotic stress tolerance. *Plos One*, *10*, 1-17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126050

Zhao, Z., Zhang, W., Liu, Y., Li, S., Yao, W., Sun, X., Li, S., Ma, L., Sun, J., & Yang, Q. (2021). De novo hydroponics system efficiency for the cuttings of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *27*, 1413-1421. https://doi.org/10.1007/s12298-021-00995-3.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]

The effect of harvesting time on some secondary metabolites and metal elements of Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Hamid Reza Vahidipour, Monireh Cheniany*, Mehrdad Lahouti, Ali Ganjeali[1], Maryam Moghaddam Matin

Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(Received: 2023/01/06, Accepted: 2023/05/08)

Abstract

Fodder plants have been considered due to their bioactive compounds that affect livestock nutrition and their therapeutic potential for humans. Nowadays, in fodder cropping systems, the proper time of harvesting is very important to obtain optimal performance. In order to investigate the effect of different harvesting times (one to eight weeks after initial harvesting) on the content of some secondary metabolites (phenols, flavonoids, isoflavonoids and alkaloids) and metal elements (zinc, iron, magnesium and manganese) of alfalfa, a study was carried out based on a completely randomized design with three replications. The results showed that the concentration of these metabolites and metal elements changed significantly at different harvest times. So that the amount of total phenols increased by 2.37, 2.29, and 2.24 times in the fifth, sixth, and seventh weeks, respectively, compared to the second week. Also, the amount of total flavonoids increased by 1.89 times in the sixth week compared to the second week. The amount of total isoflavonoids in the sixth week increased by 1.75 times compared to the first week. The amount of total alkaloids in the seventh and eighth weeks compared to the first week was 10.58 and 11.75 times, respectively. Also, the maximum amount of iron element was observed in the fifth and sixth weeks, and the maximum amount of magnesium and manganese elements were observed in the sixth week. The presence of the maximum amount of these phytoestrogens and metal elements in the middle and the end stages (fifth and sixth weeks, respectively) of alfalfa flowering can be an important factor in determining the quality of fodder and determining the yield of the product, and considering their medicinal properties for humans, these stages are the most suitable harvesting times.

Keywords: Alfalfa phytoestrogens, Flavonoids, Isoflavonoids, Medicinal properties, Phenols

Corresponding author, Email: cheniany@um.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-06]