مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۱ صفحه‌های ۱۰۱ تا ۱۱۸ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

تغییرهای ترکیبات فیتوشیمیایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی ساقه و برگ نژادگان‌های تمشک‌سیاه (*Rubus sanctus*) ایران در طول فصل رشد

Evaluation of Phytochemical Components and Photosynthesis Pigments Changes in Leaf and Stem of Iranian Blackberry (*Rubus sanctus*) Genotypes

زهرا شمس، سعید عشقی*، علی قرقانی
بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز
* نویسنده مسئول: (eshghi@shirazu.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۴، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۱۷

چکیده

ایران به‌دلیل شرایط آب‌وهوایی گوناگون، تنوع بالایی ازگونه‌های گیاهان باغی از جمله تمشک‌سیاه را دارا است. تمشک‌سیاه به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، یکی از مهم‌ترین منابع تامین‌کننده آنتوسیانین و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تنوع در ویژگی‌های فیتوشیمیایی و رنگدانه‌های نژادگان‌های تمشک‌سیاه ایران انجام گرفت. برای این منظور، چهار نژادگان از گونه *R. sanctus* از کلکسیون تمشک‌سیاه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انتخاب و در آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در دو سال مورد بررسی قرار گرفتند. در سه زمان مختلف نمونه‌برداری خرداد (شروع گرما)، مرداد (اوج گرما) و مهر (کاهش گرما) از هر دو بافت برگ و ساقه نژادگان‌های مورد بررسی نمونه تهیه شد و به آزمایشگاه انتقال‌یافت. در نهایت از نمونه‌های تهیه‌شده عصاره گیاهی استخراج گردید و صفات IC50، فلاونوئید، فلاونون، فنول کل، آنتوسیانین، کلروفیل (a، b و کل) کارتنوئید اندازه‌گیری شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده اختلاف معنی‌داری بین نژادگان‌های بررسی‌شده از لحاظ صفات به ترتیب در برگ و ساقه IC50 (۹۵/۱۷-۷۲/۳۳ درصد، ۱۳۹/۶۸-۱۰۱/۰۷ درصد)، فنول کل (۱۷۲/۱۷-۱۱۷/۷۷، ۱۳۸/۷۹-۷۹/۱۶ میلی‌گرم بر صد گرم ماده خشک)، فلاونوئید (۳۸۹/۷۶-۲۷۵/۷۹، ۰۳/۴۴-۱۰۰/۱۵۱ میلی‌گرم بر صد گرم ماده خشک)، فلاونون (۵۴/۰۶- ۳۵/۳۰ ، ۵۴/۱۷- ۳۰/۳۸ میلی‌گرم بر صد گرم ماده خشک)، آنتوسیانین (۷۳/۳۴- ۵۰/۳۳، ۴۸/۲۵- ۳۵/۳۴ میلی‌گرم بر صد گرم ماده تر) به‌همراه دیگر صفات وجودداشت. نتایج نشان‌داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین میزانIC50)، فنول، فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین در ماه مرداد و در ساقه و برگ به‌دست‌آمد. براساس نتایج حاصل از تجزیه همبستگی و رگرسیون یک ارتباط مثبت و معنی‌دار بین میزان آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنولی وجود داشت. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش دما در ماه مرداد، میزان IC50 کاهش پیدا کرده که می‌تواند در نتیجه افزایش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی باشد که این افزایش در ترکیبات یاد شده می‌تواند سبب افزایش تحمل گیاه به گرما شود. در همین راستا، نژادگان بابلسر به‌عنوان بهترین و متحمل‌ترین نژادگان از لحاظ صفات اندازه‌گیری شده مشخص گردید.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تمشک‌سیاه، تجزیه همبستگی.

مقدمه

تمشک‌سیاه، از تیره Rosaceae و زیر تیره Rosoideae و متعلق به جنس *Rubus* است که یکی از متنوع‌ترین گیاهان با حدود ۷۴۰ گونه است که دارای برگ‌های مرکب شانه‌ای بوده و هر برگ از ۳ تا ۵ برگچه بیضی شکل با حاشیه مضرس تشکیل شده‌است

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

که به طور متناوب بر روی گره‌های شاخه قرار می‌گیرند. تمشک از جمله گیاهان چند ساله می‌باشد که به طور معمول دارای ساقه‌های دوساله[1] است. در سال اول ساقه‌های جدید تحت عنوان Primocane شروع به رشد نموده و طول این ساقه‌ها به ۳ تا ۶ متر (در برخی موارد تا ۹ متر) می‌رسد. ساقه‌های مذکور دارای برگ‌های مرکب بزرگ حاوی پنج تا هفت برگچه بوده و قادر به تولید گل نمی‌باشند. ساقه‌های سال دوم تبدیل به ساقه گلدهنده Floricane می‌شوند که در آن‌ها رشد بیشتر صورت نمی‌گیرد. ساقه‌های دوساله دارای برگ‌های مرکب کوچکتر و حاوی سه تا پنج برگچه می‌باشند. لازم به ذکر است که جوانه‌های جانبی بر روی ساقه‌های تشکیل شده در سال دوم واقع بوده که شکفته شده و تولید گل‌های جانبی می‌نمایند. ساقه‌های یکساله و دوساله به طور معمول دارای خارهای خمیده بسیار کوتاه و همچنین بسیار تیز هستند که اصطلاحاً به آن‌ها Prickles گفته می‌شود که با Thorn متفاوت بوده و گاهاً به اشتباه Thorn نامیده می‌شوند (Zhao, 2007). گونه‌ی *R. sanctus* گونه‌ی غالب در ایران است (Khatamsaz, 1992) و به‌طور گسترده‌ای از آب‌وهوای مرطوب در شمال ایران (منطقه دریای خزر) تا سرد در غرب و حتی برخی از مناطق نیمه‌خشک و گرم در جنوب‌غرب کشور توزیع شده‌است (Kaume *et al*.., 2011). از آن‌جایی که عملکرد ارقام تجاری و نژادگان‌ها از یک منطقه به منطقه‌ی دیگر، مشابه نیست، بنابراین بهترین راهکار برای پرورش و به‌نژادی رقمی با کیفیت بالا و سازگار برای هر منطقه، استفاده از ارقام و ژرم پلاسم‌های محلی می‌باشد (Silva-Espinoza *et al*., 2001; Wang & Zheng, 2001).

آنتوسیانین و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی منابع قابل توجهی در رژیم غذایی انسان است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است و موجب کاهش تشکیل رادیکال‌های‌آزاد (ROS) می‌شود و می‌توانند تحت تاثیر رقم، نژادگان، آب‌وهوا، تنش، گیاه، مراحل رشد و سایر عوامل محیطی تغییر کند (Prior, R.L *et al*.,1998; Minoggio, *et al*., 2003; Howard, *et al*.,2003; Connor,*et al*., 2002) و تمشک‌سیاه منبع خوبی از این ترکیبات است (Wang & Lin. 2000).

با توجه به اینکه اکثر مساحت ایران در مناطقی با آب‌وهوای گرم و خشک و نیمه خشک قرار دارد و دمای هوا در ایران دارای تغییرات فراوان از منفی ۲۰ تا ۵۰ درجه سلسیوس است بنابراین وسعت زیادی از ایران را بخش‌های جنوبی و مرکزی با درجه حرارت بالا که گاهی اوقات به۵۰ می‌رسد فراگرفته است (Amiri *et al*., 2010). از آنجا که افزایش دما سبب تنش‌های مختلف محیطی از جمله تنش گرمایی می‌شود (Schellnhuber, 2008) تنش دمای بالا برای گیاه اتفاق می افتد تولید رادیکال‌های آزاد است سبب تولید میزان زیادی اکسیژن فعال می‌شود (Mittler, 2002; Almeselmani *et al*.,2006). سمیت این رایکال‌های آزاد می‌تواند سبب آسیب به لیپیدها و پروتیین و در نهایت مرگ سلول شود (Fath *et al*.,2001; Rodriguez *et al*.,2005). با این حال، سلول‌ها با مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌توانند سبب سم‌زدایی اثرات مضر رایکال‌های آزاد شوند. دفاع آنتی‌اکسیدان می‌تواند غیرآنزیمی (به‌عنوان مثال فنول، فلاونون، آنتوسیانین، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها) و یا آنزیمی (به‌عنوان مثال سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربیک‌پراکسیداز) باشد (Foyer *et al*.,1998). از آن‌جا که تغییر در میزان فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌تواند به‌عنوان فاکتوری مناسب جهت شناسایی گونه و ارقام متحمل نسبت به تنش های محیطی باشد (Yin & Yi, 2008; Du *et al*., 2013). بنابراین برای شناخت گونه‌های سازگار شناخت تغییرات بیوشیمیایی در طی فصل رشد ضروری‌است چراکه مقدار ترکیبات یادشده بسته به نژادگان، مراحل مختلف رشد، نوع اندام و هچنین شرایط آب و هوایی متغیر می‌باشد.. بنابراین با در نظر گرفتن وجود ژرم‌پلاسم غنی تمشک‌سیاه در کشور لازم است مطالعاتی در جهت شناسایی میزان این ترکیبات فیتوشیمایی در گیاه تمشک‌سیاه صورت پذیرد. در این پژوهش میزان تنوع صفات فیتوشیمایی مختلف شامل IC50، میزان فنول، فلاونوئید و سایر ترکیبات فنولی مانند آنتوسیانین در دو اندام ساقه و برگ چهار نژادگان تمشک‌سیاه از گونه‌ی غالب ایران (*R. sanctus*) در سه زمان مختلف نمونه‌برداری و مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و طرح آزمایشی

۱- Cane

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی[1] در دو سال (۱۳۹۴ و ۱۳۹۵) از چهار نژادگان مختلف متعلق به گونه‌ی *R.sanctus* از کلکسیون تمشک‌سیاه ایستگاه پژوهشی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه با مشخصات جغرافیایی ′۲۹ °۳۸ عرض جغرافیایی شمالی و ′۵۲ °۳۵ طول جغرافیایی شرقی با ارتفاع ۱۸۱۰ متر از سطح دریا،که در سال ۱۳۹۰ تاسیس شد(جدول ۱). مشخصات نژادگان‌های استفاده‌شده در این آزمایش در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱- داده‌های آب و هوایی باغ پژوهشی واقع در باجگاه.

Table 1. Meteorology data of experiment filed at Bajgah area.

Year سال	Month ماه	Temperature average/month(°C) میانگین دمای ماهیانه			Sun hours (h/day) ساعت‌های آفتابی	Evaporation (mm/day) تعرق	Rain (mm) بارش	Average relative humidity (٪) میانگین درصد رطوبت نسبی		
		Average میانگین	Max بیشترین	Min کمترین				Average میانگین	Max بیشترین	Min کمترین
First Year (2015) سال اول (۱۳۹۵)	June خرداد	23	33.54	12.5	10.67	9.08	0.0	26.37	40.58	12.16
	August مرداد	13.04	43.15	18.94	11.6	11.18	0.0	24.48	35.42	13.55
	October مهر	17.8	28.62	6.91	9.32	6.88	0.0	34.83	53.83	15.83
Second Year (2016) سال دوم (۱۳۹۶)	June خرداد	21.3	32.08	10.53	10.96	9.61	0.0	27.29	44	10.58
	August مرداد	31.27	44.37	18.17	11.93	11.16	0.0	25.05	37.3	12.81
	October مهر	16.93	30.28	5.55	9.96	7.40	0.0	35.76	54.35	17.17

جدول ۲- اطلاعات مکان‌های جمع‌آوری نمونه‌های نژادگان‌های وحشی تمشک‌سیاه.

Table 2. Information on locations investigated and sample size of the studied wild blackberry genotypes.

Species گونه‌ها	Accession نژادگان	Province استان	E (Longitude) عرض جغرافیایی	N (Latitude) طول جغرافیایی	Altitude ارتفاع از سطح دریا
R. sanctus	Naharkhoran نهارخوران	Golestan گلستان	54°27'45.60"	36°47'2.595"	413.4 m
	NamakAbroud نمک آبرود	Mazandaran مازندران	51°20'47.38"	36°38'24.21"	1625.1 m
	Babolsar بابلسر	Mazandaran مازندران	52°45'29.09"	36°38'26.80"	-22.2 m
	BandarGaz بندرگز	Golestan گلستان	53°56'13.67"	36°46'28.74"	409.0 m

ویژگی‌های اندازه‌گیری شده

صفات موردمطالعه در این آزمایش شامل اندازه‌گیری IC_{50} ، فنول کل، فلاونوئید، فلاونون و رنگیزه‌های فتوسنتزی کاروتنوئید و کلروفیل (a، b و کل) بودند. به‌منظور اندازه‌گیری از ساقه و برگ صفات مربوطه از نژادگان‌های مورد مطالعه در سه زمان خرداد، مرداد و مهر، نمونه‌بردای انجام شده و جهت اندازه‌گیری صفات ذکر شده به آزمایشگاه انتقال یافتند.

۱- Randomized Complete Block Design (RCBD)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

تهیه عصاره گیاهی

به‌منظور عصاره‌گیری از نمونه‌ها جهت سنجش IC50، فنول کل، فلاونوئید و فلاونون نمونه‌ها پس از جمع‌آوری و انتقال به آزمایشگاه به‌مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۳۰ درجه سلسیوس خشک و جهت عصاره‌گیری، ماده با آسیاب به ذرات ریز تبدیل و از الک با مش ۴۰ گذرانده شدند. سپس ۵ گرم نمونه خشک (ساقه و برگ از هر نژادگان) پودر شده به ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه‌شد و به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه (rpm) نگهداری گردید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه داخل سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرارگرفت. در ادامه قسمت فاز رویی نمونه‌ها جدا شده و به‌عنوان عصاره جهت انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (Wojdyło *et. al*, 2004).

IC50

IC50، میزان غلظت عصاره‌ای است که بتواند ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد را خنثی کند. IC50 با استفاده آزمون DPPH[1] و بر پایه کاهش رادیکال‌های آزاد انجام شد (Oke, F). جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. در پایان مقدار IC_{50} به‌دست‌آمده از عصاره‌ها با میزان IC_{50} آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT[2] به‌عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید (Hashemi, *et al.*, 2011). درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (I ٪) = (عدد جذب نمونه – عدد جذب شاهد) / عدد جذب شاهد ×۱۰۰

فنول

اندازه‌گیری میزان فنول کل با استفاده از معرف فولین[3] انجام‌شد (Wojdyło, *et al.*,2007). سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) در طول‌موج ۷۶۵ nm قرائت شد. تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف گالیک‌اسید[4] تهیه‌شده از برند تجاری Merck آلمان با رسم منحنی استاندارد گالیک‌اسید به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد. داده‌ها به‌صورت میلی‌گرم گالیک‌اسید در صد گرم وزن خشک (mg/100g DW) بیان شدند.

فلاونوئید

ابتدا ۱ ml از عصاره هر نمونه به ۳۰۰ میکرولیتر نیتریت‌سدیم[5] ۵٪ افزوده‌شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه از افزودن نیتریت‌سدیم، ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم[6] ۱۰٪ افزوده و پس از گذشت ۶ دقیقه از افزودن کلرید آلومینیوم، ml ۴ سود ۱ نرمال افزوده‌شد. محلول فوق با استفاده از آب مقطر به حجم ml ۱۰ رسانده‌شد. درنهایت میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) در طول‌موج ۵۱۰ nm قرائت‌شد. تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف کوئرستین[7] با رسم منحنی استاندارد کوئرستین تهیه‌شده از برند تجاری Sigma-Aldrich آمریکا انجام‌شد و داده‌ها به‌صورت میلی‌گرم کوئرستین در صد گرم وزن خشک (mg/100g DW) بیان‌شدند (Menichini *et. al*, 2009).

فلاونون

ابتدا ۱ ml از عصاره تهیه‌شده با ۱ ml کلریدآلومینیوم ۲٪ مخلوط و سپس محلول فوق توسط متانول به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده و چند ثانیه به‌شدت تکان داده‌شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) در طول‌موج ۴۲۵ nm قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده‌شد (Popova, *et al.*, 2004).

آنتوسیانین

۱- 2,2-diphenylpicrylhydrazyl, Sigma, Aldrich
۲- Butylated hydroxyl-toluene (BHT)
۳- Folin Ciocalteu Method
۴- Gallic acid
۵- Sodium nitrite
۶- Aluminum chloride
۷- Quercetin

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل از روش pH افتراقی (اختلاف جذب‌های متفاوت) استفاده‌شد. میزان جذب آنتوسیانین در دو طول pH (بافرهای ۱/۵ و ۴/۵) در موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده‌شد (Giusti& Wrolstad, 2001).

رنگدانه‌های فتوسنتزی و کارتنوئید

محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ‌ها با استفاده از روش دی‌متیل‌سولفوکساید[1] اندازه‌گیری‌شد (Hiscox, & Israelstam, 1979). برای این منظور ابتدا ۰/۱ گرم از تکه‌های برگ تازه و فاقد رگبرگ در داخل ارلن قرار داده و سپس ۷ میلی‌لیتر از دی‌متیل‌سولفوکساید برروی آن‌ها ریخته‌شده و در دستگاه انکوباتور به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده‌شدند. سپس عصاره صاف و برگ داخل ارلن‌ها دور ریخته‌شده و با اضافه کردن دی‌متیل‌سولفوکساید حجم عصاره به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده‌شد. درنهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) جذب عصاره‌ها در طول‌موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده‌شدند. از DMSO به‌عنوان بلانک دستگاه استفاده‌شد. محتوای کلروفیل و کاروتنوئید نمونه‌ها به‌صورت میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه برگ، با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردیدند (Gross, 2012):

$$\text{Chlorophyll a} = \frac{12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) \times \text{Volume made}}{\text{Wt of the sample}}$$ رابطه (۲)

$$\text{Chlorophyll b} = \frac{22.9(A_{645}) - 4.68\,(A_{663}) \times \text{Volume made}}{\text{Wt of the sample}}$$ رابطه (۳)

$$\text{Carotenoid} = \frac{1000\,(A_{470}) - 1.82\,C_a - 85.02\,C_b}{198}$$ رابطه (۴)

$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}$$ رابطه (۵)

که C_a، C_b، $A\lambda$، Volume made و Wt of the Sample به ترتیب میزان کلروفیل a، میزان کلروفیل b، جذب در طول‌موج λ (نانومتر)، میزان حجم DMSO مصرفی و وزن تازه نمونه می‌باشد.

واکاوی آماری داده‌ها

در ابتدا نرمال بودن توزیع خطاهای[2] آزمایشی براساس آزمون شاپیرو-ویلک[3] و همگن بودن واریانس‌های درون تیماری[4] توسط آزمون لون[5] مورد آزمون قرارگرفت. به‌منظور بررسی اختلاف بین نژادگان‌ها از نظر فروزه‌های اندازه‌گیری شده تجزیه واریانس مرکب انجام‌گردید. به‌منظور بررسی مقایسات میانگین از آزمون LSMEANS استفاده‌شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده‌شد. به‌منظور بررسی ارتباط بین فروزه‌های مختلف از تجزیه همبستگی و تجزیه رگسیون مرحله‌ای به روش گام به گام استفاده‌گردید. در نهایت ارتباط بین نژادگان‌های تمشک‌سیاه و همچنین فروزه‌های اندازه‌گیری با استفاده از روش آماری چند متغیره تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تعیین‌گردید. به‌منظور انجام تجزیه‌های ذکر شده از نرم افزارهای IBM SPSS V. 21، SAS V. 9.4 و Minitab V. 16 استفاده‌شد. نمودارهای مقایسه میانگین نیز توسط نرم‌افزار Microsoft Excel V. 2016 ترسیم گردیدند.

نتایج

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سال برای هیچ‌کدام از صفات اندازه‌گیری شده برگ و ساقه نژادگان‌های تمشک سیاه معنی‌داری نبود در حالی‌که در بین نژادگان‌ها و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری از نظر صفات مورد بررسی هر دو اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳ و ۴).

به طور کلی بیشترین میزان ضریب تغییرات به‌ترتیب در برگ و ساقه مروبط به صفات کلروفیلa و کلروفیل‌کل بود. کمترین ضریب تغییرات نیز به ترتیب مربوط به فنول و کلروفیل b بود.

۱- Dimethyl sulfoxide (DMSO) ۲- Normality Test of Residuals ۳- Shapiro-Wilk ۴- Homogeneity of variances ۵- Levene's Test

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مختلف در برگ نژادگان‌های تمشک‌سیاه مطالعه‌شده.

Table 3- Analysis of variance of different traits in leaf of blackberry genotypes.

SOV منابع تغییر	DF درجه آزادی	Mean-square میانگین مربعات								
		IC50	Phenol فنول	Flavonoid فلاونوئید	Anthocyanin آنتوسیانین	Flavanone فلاونون	Chl a کلروفیلa	Chl b کلروفیلb	Car کارتنوئید	Total Chl کلروفیل کل
Year سال	1	0.18$^{n.s}$	0.05$^{n.s}$	0.50$^{n.s}$	2.67$^{n.s}$	0.001$^{n.s}$	2.8-E7$^{n.s}$	3.3-E7$^{n.s}$	0.0157$^{n.s}$	2.646-E9$^{n.s}$
Error خطا	6	6.01	4.34	57.52	3.77	8.43	1.3-E4	2.5-E6	0.0167	1.7-E4
Genotype نژادگان	3	592.74**	6567.03**	12039.99**	124.50**	321.76**	0.0026**	3.6-E4**	70.0195**	0.0048**
Sampling date روز نمونه‌برداری	2	1021.44**	3453.99**	12849.72**	2291.90**	592.05**	0.0218**	0.0034**	15.2359**	0.0553**
Genotype*Sampling date نژادگان*تاریخ نمونه‌برداری	6	32.96**	442.86**	1841.19**	8.75$^{n.s}$	71.54**	0.0037**	5.6-E5**	4.6333**	0.00064**
Year*Genotype سال*نژادگان	3	0.08$^{n.s}$	0.01$^{n.s}$	0.28$^{n.s}$	1.10$^{n.s}$	0.02$^{n.s}$	4.7-E5$^{n.s}$	4.7-E7$^{n.s}$	0.0068$^{n.s}$	5.34-E5$^{n.s}$
Year*Sampling date سال*تاریخ نمونه‌برداری	2	0.15$^{n.s}$	0.03$^{n.s}$	0.05$^{n.s}$	5.62$^{n.s}$	0.02$^{n.s}$	3.1-E5$^{n.s}$	2.2-E7$^{n.s}$	0.0061$^{n.s}$	4.98-E6$^{n.s}$
Year*Genotype*Sampling date سال*نژادگان*تاریخ نمونه‌برداری	6	0.06$^{n.s}$	0.10$^{n.s}$	0.22$^{n.s}$	1.70$^{n.s}$	0.04$^{n.s}$	2.5-E5$^{n.s}$	1.05-E6$^{n.s}$	0.0021$^{n.s}$	3.00-E5$^{n.s}$
Error خطا	66	5.996	6.746	41.60	2.55	5.24	2.6-E4	2.07-E6	0.0184	2.76-E4
CV (%) ضریب تغییرات (٪)	-	2.99	1.82	1.88	2.47	5.25	12.68	3.88	2.78	10.05

$^{n.s}$ and ** represent non-significant and significant at level 1%, respectively.

$^{n.s}$ و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مختلف در ساقه نژادگان‌های تمشک‌سیاه مطالعه شده.

Table 4. Analysis of variance of different traits in stem of blackberry genotypes.

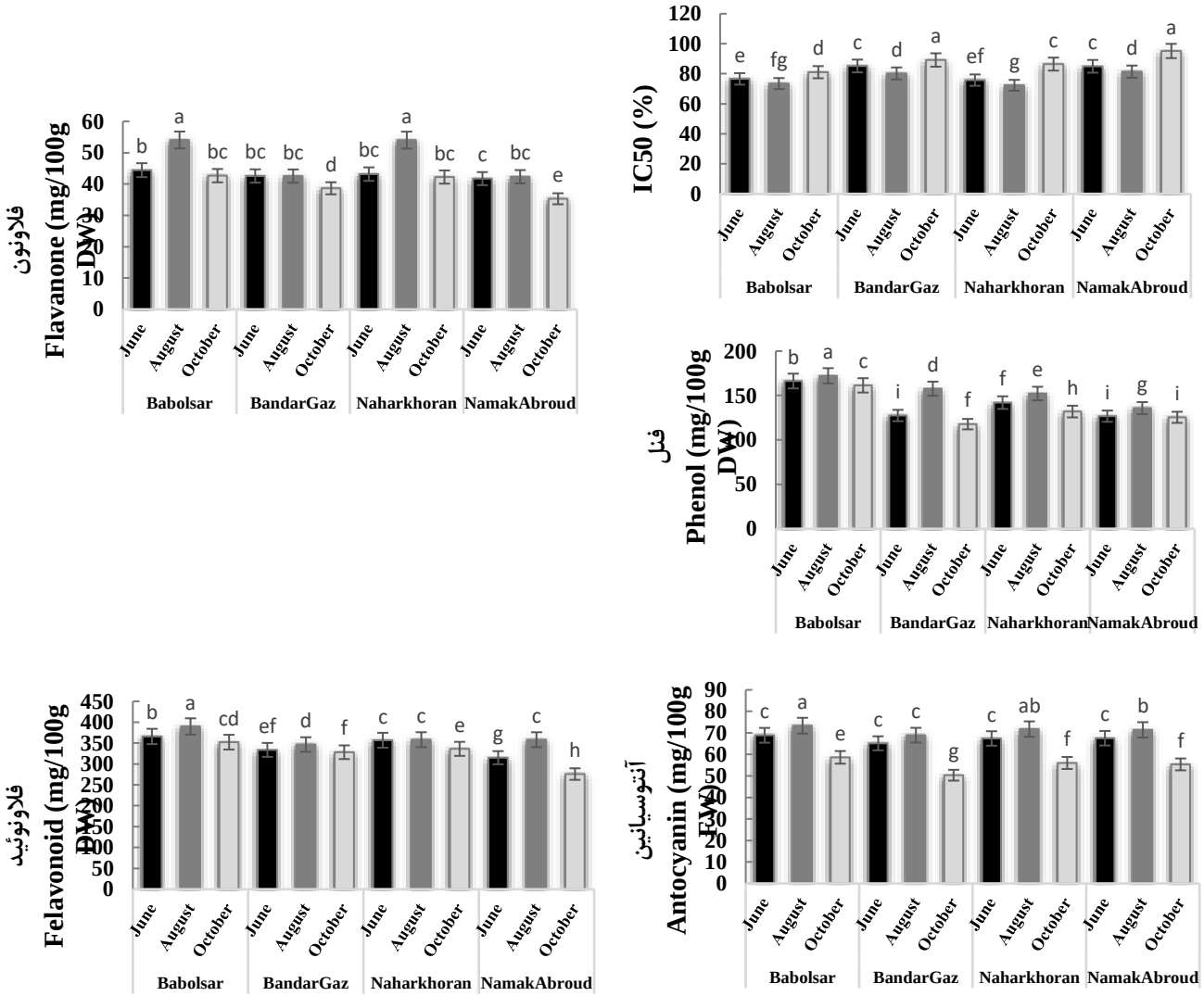
SOV منابع تغییر	DF درجه آزادی	Mean-square میانگین مربعات								
		IC50	Phenol فنول	Flavonoid فلاونوئید	Anthocyanin آنتوسیانین	Flavanone فلاونون	Chl a کلروفیلa	Chl b کلروفیلb	Car کارتنوئید	Total Chl کلروفیل کل
Year سال	1	88.39$^{n.s}$	3.13$^{n.s}$	1.10$^{n.s}$	0.28$^{n.s}$	1.6-E4$^{n.s}$	5.0-E8$^{n.s}$	2.93-E8$^{n.s}$	0.036$^{n.s}$	2.320-E9$^{n.s}$
Error خطا	6	118.11	133.28	41.76	2.96	16.68	4.6-E6	2.0-E8	0.0006	4.28-E6
Genotype نژادگان	3	1643.29	5255.17**	4578.78**	337.53**	787.96**	1.5-E4**	0.00029**	0.086**	0.00085**
Sampling date تاریخ نمونه‌برداری	2	2014.12	4299.16**	5061.79**	302.76**	717.40**	8.4-E5**	0.00044**	0.270**	0.0010**
Genotype* Sampling date نژادگان*تاریخ نمونه‌برداری	6	191.34$^{n.s}$	289.04*	268.63**	7.63$^{n.s}$	38.53*	1.5-E4$^{n.s}$	2.8-E5**	0.048**	3.20-E5**
Year*Genotype سال*نژادگان	3	99.91$^{n.s}$	2.19$^{n.s}$	2.22$^{n.s}$	0.06$^{n.s}$	4.5-E4	2.0-E8$^{n.s}$	1.0-E8$^{n.s}$	0.025$^{n.s}$	1.0-E8$^{n.s}$
Year* Sampling date سال*تاریخ نمونه‌برداری	2	37.30$^{n.s}$	0.69$^{n.s}$	0.99$^{n.s}$	3.26$^{n.s}$	6.36$^{n.s}$	8.5-E6$^{n.s}$	2.0-E8$^{n.s}$	0.019$^{n.s}$	2.12-E6$^{n.s}$
Year*Genotype* Sampling date سال*نژادگان*تاریخ نمونه‌برداری	6	43.61$^{n.s}$	2.01$^{n.s}$	0.59$^{n.s}$	2.95$^{n.s}$	6.36$^{n.s}$	3.9-E6$^{n.s}$	1.0-E8$^{n.s}$	0.020$^{n.s}$	1.50-E6$^{n.s}$
Error خطا	66	130.51	61.08	17.61	4.63	10.47	8.3-E6	2.0-E8	0.00077	8.46-E6
CV (%) ضریب تغییرات (٪)	-	9.06	7.44	3.29	5.14	7.74	21.85	1.88	7.79	13.50

$^{n.s}$, * and ** represent non-significant and significant at level 5 and 1%, respectively.

$^{n.s}$ و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

از نظر میزان IC50، در نژادگان‌های ناهارخوران و بابلسر در برگ در ماه مرداد و خرداد کمترین مقدار مشاهده‌گردید (شکل ۱) و نژادگان‌های نهارخوران و بندرگز در ماه مهر بعد از نمک‌آبرود در ماه مهر، بیشترین میزان IC50 را داشتند. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده‌می‌شود، میزان فنول، فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین در نژادگان بابلسر در ماه مرداد بیشترین مقدار می‌باشد و کمترین میزان فعالیت صفات مذکور در نژادگان‌های نمک‌آبرود و بندرگز در ماه مهر مشاهده گردید.



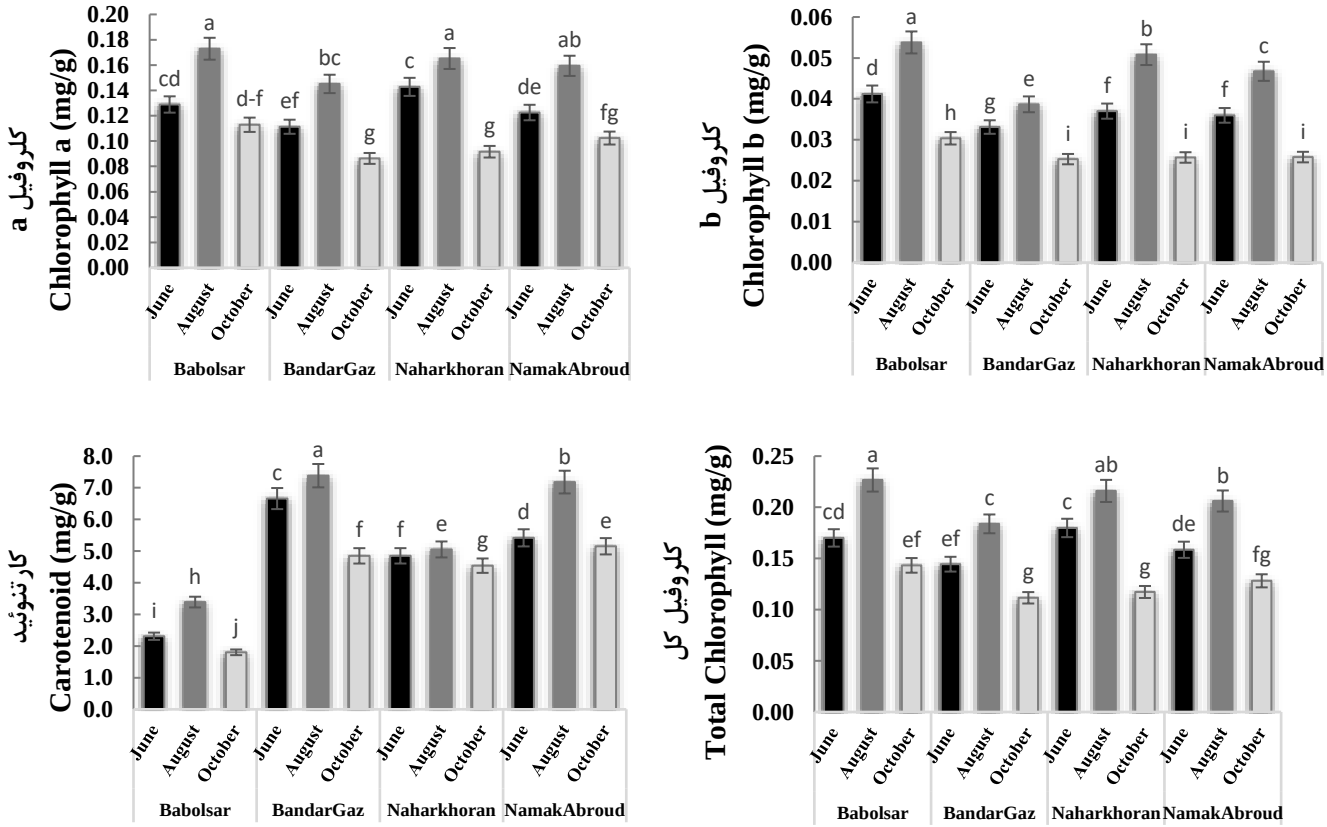
شکل ۱- تغییرات IC50، فنل، فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین در ژنوتیپ‌های تمشک‌سیاه در طی فصل رشد در برگ. نمونه‌گیری در تاریخ اول ماه خرداد، پنجم ماه مرداد و دهم ماه مهر انجام‌شد.

Fig. 1. Change of IC50, phenol, flavonoid, flavanone and anthocyanin in leaf organ of studied blackberry genotypes. Sampling date was in June 1th, August 5th and October 10th.

میزان کلروفیل a، b و کل (شکل ۲) در ماه مرداد هر چهار نژادگان نسبت به سایر ماه‌ها بیشتر بود. همچنین نژادگان بابلسر در ماه مرداد بیشترین میزان کلروفیل را داشت این در حالی است که میزان کارتنوئید به‌ترتیب در نژادگان‌های بندرگز و نمک‌آبرود در ماه مرداد بیشترین مقدار و نژادگان بابلسر در ماه مهر کمترین مقدار بود. در ساقه نژادگان بابلسر به ترتیب در ماه‌های مرداد و خرداد دارای کمترین مقدار IC50 بود (شکل ۳). نژادگان‌های بندرگز و نمک آبرود در ماه مهر نیز بیشترین میزان IC50 را داشتند. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، میزان فنول در نژادگان بایلسر در ماه مرداد بیشترین مقدار بوده و با دیگر

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

نژادگان‌ها در زمان مختلف نمونه‌برداری دارای اختلاف معنی‌داری بود. همچنین میزان فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین (شکل ۳) در نژادگان‌های بابلسر و نهارخوران در ماه مرداد بیشترین مقدار بود. کمترین میزان فنول، فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین (شکل ۳) نیز در نژادگان‌های نمک‌آبرود و بندرگز در ماه مهر مشاهده‌گردید.

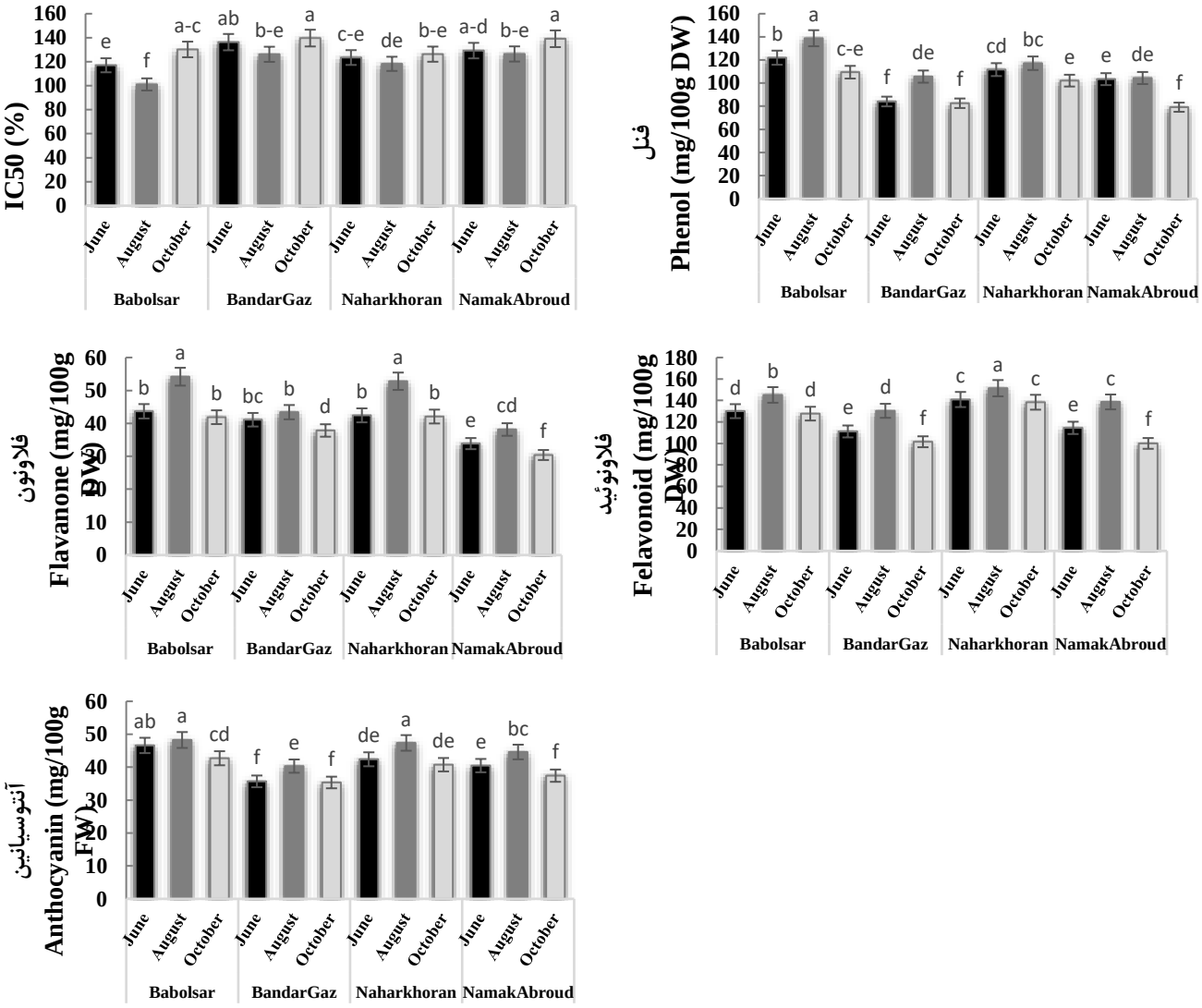


شکل ۲- تغییرات کلروفیل **a**، کلروفیل **b**، کاروتنوئید و کلروفیل کل در نژادگان‌های تمشک‌سیاه در طی فصل رشد در برگ. نمونه‌گیری در تاریخ اول ماه خرداد، پنجم ماه مرداد و دهم ماه مهر انجام شد.

Fig. 2. Change of chlorophyll a, chlorophyll b, Total chlorophyll and carotenoids in leaf organ of studied blackberry genotypes. Sampling date was in June 1th, August 5th and October 10th.

لازم به‌ذکر است که در ساقه در صفات فنول، فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین در گذر از زمان نمونه‌برداری خرداد به سمت مرداد همانند برگ روند صعودی و به هنگام گذر از ماه مرداد به سمت مهر یک روند نزولی مشاهده‌شد. بایستی توجه گردد که تنوع صفات فیتوشیمیایی در نژادگان‌های مورد مطالعه و همچنین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در ساقه در مقایسه با برگ میزان کمتری بود (شکل ۳).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

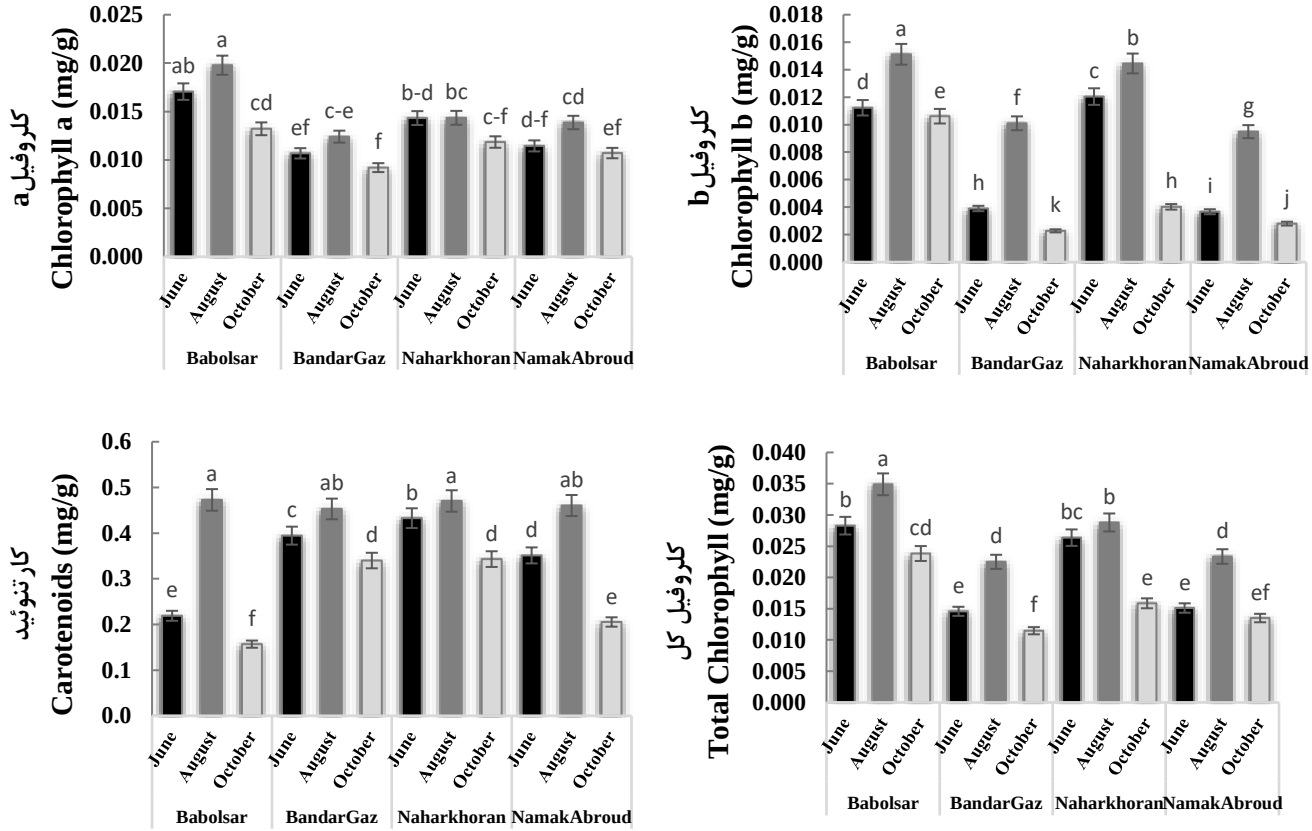


شکل ۳- تغییرات IC50، فنل، فلاونوئید، فلاونون و آنتوسیانین در ژنوتیپ‌های تمشک در طی فصل رشد در ساقه. نمونه‌گیری در تاریخ اول ماه خرداد، پنجم ماه مرداد و دهم ماه مهر انجام‌شد.

Fig. 3. Change of IC50, phenol, flavonoid, flavanone and anthocyanin in stem organ of studied blackberry genotypes. Sampling date was in June 1th, August 5th and October 10th.

در ساقه نیز همانند برگ، میزان کلروفیل a، b و کل (شکل ۴) در ماه مرداد در هر چهار نژادگان تمشک‌سیاه بررسی‌شده نسبت به‌سایر ماه‌ها بیشترین مقدار را دارا بود. همچنین نژادگان بابلسر در ماه مرداد بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل را داشت. کمترین مقدار کلروفیل a، b و کل هم به نژادگان بندرگز در ماه مهر اختصاص داشت. جالب توجه‌است که کمترین و بیشترین میزان کارتنوئید در نژادگان بابلسر به‌ترتیب در ماه‌های مرداد و مهر مشاهده‌گردید (شکل ۴).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]



شکل ۴- تغییرات کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل ساقه نژادگان‌های تمشک‌سیاه در طی فصل رشد. نمونه‌گیری در تاریخ اول ماه خرداد، پنجم ماه مرداد و دهم ماه مهر انجام‌شد.

Fig. 4. Change of chlorophyll a, chlorophyll b, Total chlorophyll and carotenoids in stem organ of studied blackberry genotypes. Sampling date was in June 1th, August 5th and October 10th.

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه همبستگی صفات اندازه‌گیری شده در برگ (جدول ۵)، صفت IC50 با صفات فنول و فلاونون دارای همبستگی معنی‌دار و منفی بود که نشان‌دهنده ارتباط معکوس بین این صفات است و با دیگر صفات دارای همبستگی غیرمعنی‌دار بود. براساس نتایج حاصل از جدول ۵، بین صفات آنتوسیانین با کلروفیل a، b و کل و همچنین مابین کلروفیل‌ها همبستگی معنی‌دار و مثبتی وجودداشت به این معنا که افزایش در یکی از این صفات باعث افزایش در دیگری می‌شود.

جدول ۵- ضرایب همبستگی صفات مختلف در برگ نژادگان‌های تمشک مطالعه‌شده

Table 5. Correlation coefficient of different traits of blackberry genotypes in leaf organ.

	1	2	3	4	5	6	7	8
IC50	1							
Phenol فنول	- 0.848**	1						
Flavonoid فلاونوئید	- 0.948n.s	0.934n.s	1					
Anthocyanin آنتوسیانین	- 0.635n.s	0.708n.s	0.537n.s	1				
Flavanone فلاونون	- 0.999**	0.833n.s	0.934n.s	0.647n.s	1			
Chl a	- 0.708n.s	0.691n.s	0.574n.s	0.986*	0.724n.s	1		

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

کلروفیل a								
Chl b کلروفیل b	- 0.764$^{n.s}$	0.845$^{n.s}$	0.708$^{n.s}$	0.975*	0.769$^{n.s}$	0.966*	1	
Total Chl کلروفیل کل	- 0.728$^{n.s}$	0.739$^{n.s}$	0.615$^{n.s}$	0.990*	0.741$^{n.s}$	0.997**	0.982**	1

$^{n.s}$, * and ** represent non-significant and significant at level 5 and 1%, respectively.

n.s، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

براساس نتایج حاصل از تجزیه همبستگی بین صفات اندازه‌گیری‌شده در گیاه تمشک در ساقه (جدول ۶)، صفت IC50 با صفات فنول، آنتوسیانین، کلروفیل a و کلروفیل کل دارای همبستگی منفی و معنی‌داری بود به این صورت که کاهش در صفات یادشده باعث افزایشIC50 می‌گردد. برای صفت فنول همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفات آنتوسیانین و رنگیزه‌های فتوسنتزی مشاهد شد. در نهایت بین رنگیزه‌های فتوسنتزی همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده‌گردید (جدول ۶).

نتایج مربوط به تجزیه واریانس مدل رگرسیونی چندگانه خطی براساس روش گام‌به‌گام به‌ترتیب برای برگ و ساقه در جدول‌های ۷-۱۰ آمده‌است. در مدل‌های رگرسیونی یادشده صفت IC50 به‌عنوان صفت وابسته و دیگر صفات بررسی‌شده به‌عنوان صفت‌های مستقل انتخاب شدند. براساس نتایج حاصل از دو جدول ۷ و ۹ یک ارتباط خطی و معنی‌دار بین صفت IC50 با دیگر صفات باقی‌مانده در مدل‌های مربوط به برگ و ساقه وجودداشت.

جدول ۶- ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده در ساقه نژادگان‌های تمشک‌سیاه مطالعه‌شده.

Table 6. Correlation coefficient of different traits of blackberry genotypes in stem organ.

	1	2	3	4	5	6	7	8
IC50	1							
Phenol فنول	-0.999**	1						
Flavonoid فلاونوئید	-0.822$^{n.s}$	0.798$^{n.s}$	1					
Anthocyanin آنتوسیانین	-0.956*	0.957*	0.810$^{n.s}$	1				
Flavanone فلاونون	-0.786$^{n.s}$	0.767$^{n.s}$	0.778$^{n.s}$	0.595$^{n.s}$	1			
Chl a کلروفیل a	-0.975*	0.984*	0.683$^{n.s}$	0.946$^{n.s}$	0.671$^{n.s}$	1		
Chl b کلروفیل b	-0.940$^{n.s}$	0.951*	0.591$^{n.s}$	0.850$^{n.s}$	0.734$^{n.s}$	0.973*	1	
Total Chl کلروفیل کل	-0.954*	0.964*	0.617$^{n.s}$	0.878$^{n.s}$	0.722$^{n.s}$	0.985*	0.998**	1

$^{n.s}$, * and ** represent non-significant and significant at level 5 and 1%, respectively.

n.s، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

براساس نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام مربوط به برگ (جدول ۸)، صفات فلاونوئید، فلاونون، آنتوسیانین و فنول در مدل باقی‌مانده و ۸۱/۱ درصد از تغییرات مربوط به صفت IC50 را توجیه کردند. در نتیجه این صفات به‌عنوان مهمترین و تأثیرگذارترین صفات روی صفت IC50 در برگ شناسایی‌شدند. لازم به ذکر است که علامت ضریب رگرسیون مربوط به تمام صفات در این مدل رگرسیونی منفی و بیانگر ارتباط منفی و معنی‌دار آن‌ها با IC50 بود.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

جدول ۷- تجزیه واریانس مدل رگرسیونی گام به گام صفات مطالعه شده برروی IC50 در برگ تمشک‌سیاه.

Table 7. Results of analysis of variance for stepwise regression model of studied traits on IC50 in leaf organ of blackberry.

Source	DF درجه آزادی	Sum of Squares مجموع مربعات	Mean Square میانگین مربعات	F Value آماره F	Pr > F
Regression Model مدل رگرسیون	4	3646.835	911.709	103.064**	<.0001
Error کل	91	804.993	8.846		
Corrected Total کل	95	4451.828			

**, represent significant difference at 1 % level.

** معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ درصد.

جدول ۸- ضرایب رگرسیون گام‌به‌گام صفات مطالعه شده برروی IC50 در برگ.

Table 8. Results of the stepwise regression of studied traits on IC50 trait, in leaf organ.

Variable متغیر	Coefficients ضرایب	Standard Error خطای استاندارد	t value آماره t	Pr > t	R^2 of model ضریب تبیین مدل
α (intercept) عرض از مبدأ	150.382	3.812	-4.940	<.0001	0.811
Flavonoid (β_1) فلانوئید (β_1)	-0.091**	0.018	-4.239	<.0001	-
Flavanone (β_2) فلاونون (β_2)	-0.356**	0.084	-3.755	<.0001	-
Anthocyanin (β_3) آنتوسیانین (β_3)	-0.214**	0.057	-2.138	<.0001	-
Phenol (β_4) فنول (β_4)	-0.056**	0.026	-4.940	0.035	-

n.s, * and **, represent non-significant and significant difference at 5% and 1 % level, respectively.

n.s، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

نتایج حاصل از رگرسیون گام‌به‌گام مربوط به ساقه (جدول ۱۰) نشان داد که تنها صفات فنول و فلاونون در مدل رگرسیونی باقی‌مانده و در مجموع ۴۴/۸ درصد از تغییرات مربوط به صفت IC50 به تنهایی توسط این دو صفت توجیه می‌شود. بنابراین براساس این مدل رگرسیونی، در ساقه فنول و فلاونون تأثیرگذارترین صفات برروی صفت IC50 می‌باشند. لازم به ذکر است که علامت ضریب رگرسیون مربوط به هر دوی این صفات در این مدل رگرسیونی منفی و بیانگر ارتباط منفی و معنی‌دار آن‌ها با صفت IC50 بود.

جدول ۹- تجزیه واریانس مدل رگرسیونی گام‌به‌گام صفات مطالعه شده برروی IC50 در ساقه تمشک‌سیاه.

Table 9. Results of analysis of variance for stepwise regression model of studied traits on IC50 in stem organ of blackberry.

Source منابع	DF	Sum of Squares مجموع مربعات	Mean Square میانگین مربعات	F Value آماره F	Pr > F

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

	درجه آزادی				
Regression Model مدل رگرسیون	2	9270.039	4635.020	39.610**	<.0001
Error کل	93	10882.570	117.017		
Corrected Total کل	95	20152.610			

**, represent significant difference at 1 % level.

** معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ درصد.

جدول ۱۰- ضرایب رگرسیون گام‌به‌گام صفات مطالعه شده برروی IC50 در برگ.

Table 10. Results of the stepwise regression of studied traits on IC50 trait, in stem organ.

Variable متغیر	Coefficients ضرایب	Standard Error خطای استاندارد	t value آماره t	Pr > t	R^2 of model ضریب تبیین مدل
α (intercept) عرض از مبدأ	189.991	7.289	26.065	<.0001	0.448
Phenol (β_1) فنول (β_1)	-0.356**	0.078	-4.575	<.0001	-
Flavanone (β_2) فلاونون (β_2)	-0.634**	0.196	-3.233	0.002	-

n.s, * and **, represent non-significant and significant difference at 5% and 1 % level, respectively.

n.s، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

با توجه به تجزیه همبستگی انجام شده بین صفات IC50 و همچنین پارامترهای هواشناسی (جدول ۱۱) مشاهده گردید که دما در برگ و ساقه با صفات فنول و فلاونون همبستگی مثبت و معنی‌دار و با IC50 دارای همبستگی منفی و معنی‌دار بود. براساس نتایج، در برگ میزان رطوبت با IC50 همبستگی معنی‌دار و مثبت و با صفات آنتوسیانین و کلروفیل کل همبستگی منفی و معنی‌داری را نشان داد. در ساقه هیچ گونه همبستگی معنی‌داری بین رطوبت با صفات بررسی‌شده در این آزمایش مشاهده نگردید. در برگ و ساقه، تعداد روزهای آفتابی با IC50 دارای همبستگی منفی معنی‌داری داشت و در ساقه، روزهای آفتابی با صفت کلروفیل a و فنول همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. در برگ همبستگی میزان تبخیر و تعداد روزهای آفتابی با کلروفیل b و فلاونوئید، معنی دار و مثبت بود. در ساقه و برگ میزان تبخیر با صفت IC50 دارای همبستگی منفی و معنی‌داری بود که این همبستگی در ساقه با فنول و کلروفیلa مثبت بود.

بحث

انواع تمشک‌سیاه منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است (Heinonen *et al.*,1998; Wang & Zheng, 2001). این آنتی‌اکسیدان‌ها شامل ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئید، فلاونون، آنتوسیانین و کارتنوئیدها است (Wang *et al.*, 1996، Wang & Lin, 2000) که به محافظت سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد (Wada & Ou, 2002) کمک می‌کند. همچنین این ترکیبات می‌توانند میزان مقاومت گیاه به تنش‌های مهم محیطی از جمله دما را مشخص نمایند.

براساس نتایج حاصل از این پژوهش، در ساقه و برگ، میزان فنول کل، آنتوسیانین، فلاونوئید و فلاونون که نقش عمده‌ای در میزان IC50 گیاه دارند (Zhao, 2007) در نژادگان‌ها و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری متفاوت بود که می‌تواند به‌دلیل ژنتیک گیاه، تغییرات فصلی، زمان برداشت، مدت و همچنین نوع نگهداری باشد. به طور کلی محتوای فنول و ترکیبات پلی‌فنولیک انواع تمشک‌سیاه می‌تواند تحت تاثیر نژادگان گیاه، دمای محیط، تنش‌های محیطی و محل رشد و زمان و مرحله برداشت باشد (de

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

et al., 2000; Ancos Kähkönen *et al.*, 2001). همچنین نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش با نتایج Rubinskiene و همکاران (Rubinskiene *et al.*, 2006) هم‌راستا بود. همان‌طور که در جدول ۱۱ مشاهده شد میزان دما و رطوبت و میزان ساعت تابش خورشید و تبخیر می‌تواند تاثیر مستقیمی بر میزان ترکیبات فنولی در برگ و ساقه داشته‌باشد (Thomas ، Nurmi *et al.*, 1996 .(*et al.*, 2006

جدول ۱۱- ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده با آماره‌های هواشناسی در در ساقه و برگ نژادگان‌های تمشک‌سیاه بررسی شده.

Table 11. Correlation coefficient of different environment and studied traits in leaf and stem organs of blackberry genotypes.

برگ Leaf					ساقه Stem			
Traits صفات	Temperature دما	Humidity رطوبت	Sun hours ساعات آفتابی	Evaporation تعرق	Temperature دما	Humidity رطوبت	Sun hours ساعات آفتابی	Evaporation تعرق
IC50	-0.937$^{n.s}$	0.988*	-0.992*	-0.992*	-0.992*	0.928$^{n.s}$	-0.995*	-0.995*
Phenol فنول	0.999*	-0.856$^{n.s}$	0.966$^{n.s}$	0.966$^{n.s}$	0.981$^{n.s}$	-0.950$^{n.s}$	0.999*	0.999*
Flavonoid فلاونوئید	0.986$^{n.s}$	-0.941$^{n.s}$	0.998*	0.998*	0.998*	-0.842$^{n.s}$	0.959$^{n.s}$	0.959$^{n.s}$
Anthocyanin آنتوسیانین	0.899$^{n.s}$	-0.998*	0.975$^{n.s}$	0.975$^{n.s}$	1.000**	-0.883$^{n.s}$	0.979$^{n.s}$	0.979$^{n.s}$
Flavanone فلاونون	0.999*	-0.891$^{n.s}$	0.982$^{n.s}$	0.982$^{n.s}$	0.994*	-0.812$^{n.s}$	0.942$^{n.s}$	0.942$^{n.s}$
Chl a کلروفیلa	0.753$^{n.s}$	-0.979$^{n.s}$	0.882$^{n.s}$	0.882$^{n.s}$	0.975$^{n.s}$	-0.959$^{n.s}$	1.000**	1.000**
Chl b کلروفیلb	0.988*	-0.938$^{n.s}$	0.997*	0.997*	0.601$^{n.s}$	-0.915$^{n.s}$	0.767$^{n.s}$	0.767$^{n.s}$
Carotenoid کارتنوئید	0.202$^{n.s}$	0.303$^{n.s}$	-0.025$^{n.s}$	-0.025$^{n.s}$	0.826$^{n.s}$	-0.444$^{n.s}$	0.677$^{n.s}$	0.677$^{n.s}$
Total Chl کلروفیل کل	0.846$^{n.s}$	-0.999*	0.945$^{n.s}$	0.945$^{n.s}$	0.727$^{n.s}$	-0.970$^{n.s}$	0.863$^{n.s}$	0.863$^{n.s}$

$^{n.s}$, * and ** represent non-significant and significant at level 5 and 1%, respectively.

n.s، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

در مطالعه حاضر مشاهده‌شد که ترکیبات فیتوشیمایی در برگ به طور چشمگیری بیشتر از ساقه است که می‌تواند به‌دلیل انباشته شدن بیشتر این ترکیبات در برگ نسبت به ساقه باشد (Hiscox & Israelstam, 1979; Johansson *et al.*,2016). به طور کلی در تمام نژادگان‌ها در برگ و ساقه بیشترین و کمترین میزان این ترکیبات به‌ترتیب در مرداد که دمای محیط برای تمشک‌سیاه بیشینه و مهر که دمامی محیط در حد بهینه است دیده‌شد. این تغییرات می‌تواند اثر شرایط محیطی و دمایی بر گیاه را نشان‌دهد. در واقع عوامل محیطی می‌توانند مسیرهای متابولیکی متابولیت‌های ثانویه را در جهت افزایش در سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت مواد پلی‌فنولیک سوق دهند چراکه، سنتز بیشتر ترکیبات فنولی، یک مکانیسم دفاعی است که با قرار گرفتن گیاهان وحشی در معرض دماهای بالاتر، آفات و دیگر شرایط نامساعد محیطی فعال می‌گردد (Lillo *et al.*, 2008). در نتیجه، این موضوع

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

می‌تواند دلیل افزایش این ترکیبات در مرداد ماه نسبت به زمان‌های دیگر نمونه‌برداری باشد. در این راستا، نتایج مشابهی در تمشک‌سیاه و زغال اخته گزارش شده‌است (Kalt *et al.*, 1998).

همان‌طور که در نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه همبستگی و به خصوص رگرسیون دیده می‌شود، هر چقدر میزان فنول کل، فلاونوئید و دیگر صفات فیتوشیمیایی بیشتر می‌شود، IC50 برگ کمتر خواهدشد (غلظت و مقدار کمتری از عصاره توانایی خنثی کردن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد را خواهد داشت که نشان‌دهنده خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتر آن می‌باشد.). میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، فلاونونی می‌تواند با فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه رابطه معنی‌دار و مثبتی داشته باشد (Vagiri *et al.*, 2015). همچنین Prior و Cao (1997) گزارش کرده‌است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انواع تمشک‌سیاه‌ها به احتمال زیاد به اسیدهای فنولیک، آنتوسیانین و سایر ترکیبات فلاونوئیدی بستگی دارد.

ارتباط بین میزان فنول‌ها و آنتوسیانین نیز مهم است چراکه آنتوسیانین از مهم‌ترین ترکیبات فنولی موجود در تمشک‌سیاه است (Macheix *et al.*, 1990). همان‌گونه که در نتایج حاصل از تجزیه همبستگی به‌دست‌آمد، صفت آنتوسیانین با فلاونون و فلاونوئید در برگ و با فنول در ساقه ارتباط مثبت دارد به این صورت که افزایش آنتوسیانین در برگ و ساقه باعث افزایش صفات یادشده و بالعکس می‌شود (Revilla *et al.*, 1998, Brouillard, 1982). به طور کلی براساس تجزیه رگرسیون در برگ و ساقه صفت فنول در مدل رگرسیونی باقی مانده و توجیه کننده تغییرات مربوط به صفت IC50 بود و در نتیجه می‌توان براساس این صفت، روند تغییرات مربوط به صفت IC50 را پیش‌بینی نمود که این نتیجه با یافته‌های حاصل از پژوهش Kalt و همکاران (Kalt *et al.*, 1998) در یک راستا است.

جالب توجه است که روند رنگدانه‌های فتوسنتزی نیز به این صورت بود که در ماه مرداد بیشترین مقدار و در ماه مهر کمترین مقدار را در نژادگان‌های بررسی‌شده در ساقه و برگ نشان دادند. لذا نتیجه به‌دست‌آمده می‌تواند گواهی بر این مهم باشد که ممکن است پروفایل رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه نقشی مهم در مقاومت گیان در برابر شرایط نامساعد محیطی داشته‌باشد. به عبارتی نژادگان‌هایی با میزان بالای رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط نامساعد محیطی شانس بالاتری را در زنده ماندن و مقاومت دارا باشند. علاوه بر این مشخص شده است که کارتنوئید علاوه بر اینکه یک رنگیزه گیاهی است، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشد. بنابراین تغییرات کارتنوئید می‌تواند نشان‌دهنده یک واکنش دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی نیز باشد (Mayne, 1996; Oliver & Palou. 2000; Kanofsky & Sima. 2007).

نتیجه‌گیری

با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای تمشک‌سیاه و همبستگی مثبت بین میزان ترکیبات فنولی همانند فلاونون و فلاونوئید با میزان فنول کل می توان نتیجه گرفت هر چه میزان فنول کل بیشتر باشد غلطت کمتری از عصاره می‌تواند ۵۰ درصد رادیکالهای آزاد را خنثی نماید یا به عبارتی محتوای آنتی‌اکسیدانی بیشتر است. همان طور که در این پژوهش نشان داده شد، میزان ترکیبات فیتوشیمیایی و تا حدی رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌توانند تحت تاثیر شرایط نامساعد محیطی همانند دمای بالا (در زمان نمونه‌برداری در ماه مرداد) در گیاه تمشک‌سیاه در دو ساقه و بخصوص برگ افزایش یابند و در نتیجه به‌عنوان یک مکانیسم مقاومت در برابر تنش گرما عمل نمایند. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از میزان تغییرات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف رشد و دماها و شرایط محیطی متفاوت و همچنین با توجه به این نکته که میزان تغییرات ترکیبات بیوشیمیایی و اقزایش این ترکیبات می‌تواند دلیلی بر میزان مقاومت گیاه در برابر تنش های محیطی باشد، نژادگان بابلسر را که دارای بیشترین میزان این ترکیبات بود را می‌توان به‌عنوان یک نژادگان سازگار با شرایط آب‌وهوایی گرم و خشک شیراز معرفی کرد.

منابع

References

Almeselmani, M., Deshmukh,P. S., Sairam, R. K., Kushwaha, S. R. and Singh, T. P., (2006). Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Science, 171*(3), 382-388.

Amiri, M. J., and Eslamian, S. S. (2010). Investigation of climate change in Iran. *Journal of Environmental Science and Technology, 3*(4), 208-216.

Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins (Vol. 1). Academic Press: New York.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

Cho, M.J., Howard, L.R., Prior, R.L. and Clark, J.R. (2004). Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal Science Food Agriculture, 84*(13), 1771-1782.

Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B., Finn, C.E., and Hancock, J.F. (2002). Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of American Society for Horticultural Science, 127*(1), 89-97.

de Ancos, B., González, E.M., and Cano, M.P. (2000). Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *Journal of Agriculture Science and Chemical, 48*(10), 4565-4570.

Du, H., Zhou, P. and Huang, B. (2013). Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in a cool-season perennial grass species. *Environmental and Experimental Botany 87*, 159-166.

Fath, A., Bethke, P.C. and Jones, R.L. (2001). Enzymes that scavenge reactive oxygen species are down-regulated prior to gibberellic acid-induced programmed cell death in barley aleurone. *Plant Physiology, 126*(1), 156-166.

Foyer, C.H., Kingston-Smith, A.H., Harbinson, J., Arisi, A.C.M., Jouanin, L. and Noctor, G. (1998). The use of transformed plants in the assessment of physiological stress responses. In: Kok L.J. and Stulen I. (eds), Responses of Plant Metabolism to Air Pollution and Global Change. Backhuys Publishers, The Netherlands, 251–261.

Giusti, M.M. and Wrolstad. R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocol in Food Analytical Chemistry, 1*, F1-2.

Gross, J. (2012). Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. Springer Science & Business Media.

Hashemi, M.B., Niakousari, M. and Saharkhiz, M.J. (2011). Antioxidant activity of Satureja bachtiarica Bunge essential oil in rapeseed oil irradiated with UV rays. *Europian Journal of Lipid Science and Technology 113*(9), 1132-1137.

Heinonen, I.M., Meyer, A.S., and Frankel, E.N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 46*(10), 4107-4112.

Hiscox, J.D. and Israelstam, G.F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany, 57*(12), 1332-1334.

Howard, L.R., Clark, J.R. and Brownmiller, C. (2003). Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of Science Food and Agriculture, 83*(12), 1238-1247.

Johansson, E., Hussain, A., Kuktaite, R., Andersson, S., and Olsson. M. (2014). Contribution of organically grown crops to human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 11*(4), 3870-3893.

Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., and Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49*(8), 4076-4082.

Kalt, W., Forney, C.F., and McDonald, J. (1998). Changes in fruit phenolic composition and antioxidant capacity during storage. *HortScience, 33*(3), 469b-469.

Kanofsky, J.R., and Sima, P.D. (2007). Activity of a cationic carotenoid derivative in a mouse model of protoporphyria. *Journal of Photochemistry and Photobiology, 87*(2), 124-129.

Kaume, L., L.R. Howard, and L. Devareddy. (2011). The blackberry fruit: a review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 60*(23), 5716-5727.

Khatamsaz, M. (1992). Flora of Iran (family Rosaceae). Research Instructure for Rangelands Press, *6*, 274-315.

Lillo, C., Lea, U.S. and Ruoff, P. (2008). Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant Cell Environmental, 31*(5), 587-601.

Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Billot, J. (1990). Phenolic compounds in fruit processing. *Fruit Phenolics, 1*, 295-358.

Mayne, S.T. (1996). Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal, 10*(7), 690-701.

Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M.R., Conforti, F., Statti, G., De Cindio, B. P, Houghton, J. and Menichini. F. (2009). The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of Capsicum chinense Jacq. cv Habanero. *Food Chemistry. 114*(2), 553-560.

Minoggio, M., Bramati, L., Simonetti, P., Gardana, C., Iemoli, L., Santangelo, E., Mauri, P.L., Spigno, P., Soressi, G.P., and Pietta. P.G. (2003). Polyphenol pattern and antioxidant activity of different tomato lines and cultivars. *Annual Nutrition and Metabolism, 47*(2), 64-69.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science, 7*(9), 405-410.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

Nurmi, K., Ossipov, V. E., Haukioja, and Pihlaja, K. (1996). Variation of total phenolic content and individual low-molecular-weight phenolics in foliage of mountain birch trees (ssp.). *Journal of Chemistry Ecology, 22*(11), 2023-2040.

Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. *Food Chemistry, 112*(4), 874-879.

Oliver, J. and Palou, A. (2000). Chromatographic determination of carotenoids in foods. *Journal of Chromatography, 881*(1-2), 543-555.

Pérez-Tello, G.O., Silva-Espinoza, B.A., Vargas-Arispuro, I., Briceño-Torres, B.O., and Martinez-Tellez, M.A. (2001). Effect of temperature on enzymatic and physiological factors related to chilling injury in carambola fruit (*Averrhoa carambola* L.). *Biochemical and Biophysical Research Communications, 287*(4), 846-851.

Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L. and Bogdanov, S. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis, 15*(4), 235-240.

Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., and Mainland, C.M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of Vaccinium species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry. 46*(7), 2686-2693.

Revilla, E., J.M. Ryan, and Martín-Ortega, G. (1998). Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 46*(11), 4592-4597.

Rodriguez, R.J., Redman, R.S. and Henson, J.M. (2005). Symbiotic lifestyle expression by fungal endophytes and the adaptation of plants to stress: unraveling the complexities of intimacy. *Mycology Series, 23*, 683.

Rubinskiene, M., P. Viskelis, I. Jasutiene, P. Duchovskis, and C. Bobinas. (2006). Changes in biologically active constituents during ripening in black currants. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 14*, 237.

Schellnhuber, H.J. (2008). Global warming: Stop worrying, start panicking. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 105*(38), 14239-14240.

Thomas, A.L., Byers, P.L., Finn, C.E., Chen, Y.C., Rottinghaus, G.E., Malone, A.M. and Applequist, W.L. (2006). August. Occurrence of rutin and chlorogenic acid in elderberry leaf, flower, and stem in response to genotype, environment, and season. *Acta Horticulturae, 765*, (197-206).

Vagiri, M., Ekholm, A., Johansson, E., Andersson, S.C., and Rumpunen, K. (2015). Major phenolic compounds in black currant (*Ribes nigrum* L.) buds: Variation due to genotype, ontogenetic stage and location. *LWT-Food Science and Technology, 63*(2), 1274-1280.

Wada, L. and Ou, B. (2002). Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50*(12), 3495-3500.

Wang, H., Cao, G., and Prior, R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal Agriculture Food Chemistry, 44*(3), 701-705.

Wang, S.Y. and Lin, H.S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48*(2), 140-146.

Wang, S.Y. and Zheng, W. (2001). Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *Journal Agriculture and Food Chemistry. 49*(10), 4977-4982.

Wojdyło, A., Oszmiański, J. and Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Journal of Agriculture Food Chemistry, 105*(3), 940-949.

Yin, H., Chen, Q. and Yi, M., (2008). Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*. *Plant Growth Regulation. 54*(1), 45-54.

Zhao, Y. (2007). Berry fruit: value-added products for health promotion. CRC press. New York. USA. plant. 430.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (1):101-118 (2024)
Research article

Evaluation of Phytochemical Components and Photosynthesis Pigments Changes in Leaf and Stem of Iranian Blackberry (*Rubus sanctus*) Genotypes

Zahra Shams, Saeid Eshghi*, Ali Gharaghani

Department of Horticultural Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

*Corresponding Author, Email: (eshghi@shirazu.ac.ir)

Due to climate situation of Iran, there is a high diversity of garden species such as Blackberries. Blackberry is one of the most important sources of anthocyanin, antioxidant, phenolic and flavonoid compounds. The present study was conducted to investigate the variation of phytochemicals and photosynthesis pigments traits in Iranian blackberry genotypes. For this purpose, four genotypes of *R. sanctus* were selected from the blackberry collections of the faculty of agriculture of Shiraz University and examined in a randomized complete block design in two-years. Then, at three different sampling dates (June (Khordad), August (Mordad) and October (Mehr)), the samples were harvested from both leaves and stem organs and transferred to laboratory. Finally, samples extracts used for measurement of traits including, IC50, flavonoid, total phenol, anthocyanin, flavanone, chlorophyll (a, b and total) and carotenoids. Based on the results, there was a significant variation between the studied individuals for IC50 (33.17-72.95 (leaf), 101.07-139.68 (stem), total phenol (117.77-172.17 (leaf), 79.16-138.79 (stems), flavonoid (275.79-389.76 (leaf), 100.03-151.44 (stem), flavanone (35.30-54.06 (leaf), 30.38-54.17 (stem), anthocyanin (50.33-73.34 (leaf), 35.34-48.25 (stem), along with other traits. The highest antioxidant activity (minimum IC50), phenol, Flavonoid, flavanone and anthocyanin were observed in August sampling date and both stem and leaf organ. According to correlation and regression analysis, there was a significant and positive correlation between the amount of antioxidant and phenolic compounds. Over all, with increasing the temperature especially in August, the IC50 was decreased, which it could be due to an increase of other phytochemical traits. So, the increase of phytochemical composition could be a criterion of tolerance to the harsh environmental condition such heat stress in August. In this regard, Babolsar were selected as bets genotype in terms of studied traits and tolerant genotype to heat stress as well.

Keywords: Antioxidant activity, Blackberry, Correlation Analysis.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]