

## برخی خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی، و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بولاغ اوتی (*Nasturtium officinale* L.)

### Some Biochemical and Morphological Characteristics, and Antioxidant Activities in Watercress (*Nasturtium officinale* L.)

حمید حسن پور<sup>۱\*</sup> و محمد فتاحی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۰۱

#### چکیده

در این پژوهش تنوع بین و درون پنج جمعیت بولاغ اوتی (*Nasturtium officinale* L.) بومی ایران (کلیبر، آذرشهر، ارومیه، نقده و دورود) براساس خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، محتوی فنل کل، فلاونوئید کل و مقدار ویتامین ث مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که به جز صفت قطر ساقه، از نظر سایر صفات تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به جمعیت کلیبر و ارومیه بود. نتایج همبستگی نشان داد که طول برگ با برخی ویژگی‌ها از قبیل طول برگچه، فاصله میان‌گره، قطر ساقه، فنل کل و فلاونوئید کل همبستگی مثبت معنی‌داری داشت و ویتامین ث، فنل کل و فلاونوئید کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبت معنی‌داری داشتند. نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز نشان داد که چهار مؤلفه اول ۸۴/۶۹ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص دادند. نتایج خوشه‌بندی نیز نشان داد که نمونه‌های مورد مطالعه در سه خوشه قرار گرفته‌اند و نمونه‌های کلیبر و آذرشهر اختلاف زیادی با هم داشتند که این نشان‌دهنده وجود تنوع زیاد در بین نمونه‌ها است. نتایج حاصل نشان داد که تنوع بین جمعیتی بالایی از لحاظ صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در نمونه‌های بولاغ اوتی وجود دارد. همچنین می‌توان بیان نمود که گیاه بولاغ اوتی دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است و نمونه‌های کلیبر را می‌توان به‌عنوان بهترین نمونه‌ها در این مطالعه از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: تنوع، فنل کل، فلاونوئید کل، همبستگی، واریانس

۱ و ۲. استادیاران گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه  
\*: نویسنده مسئول Email: ha.hassanpour@urmia.ac.ir

مقدمه

امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد (یونگ و وودساید<sup>۹</sup>، 2001). در مطالعات مختلف مشخص گردیده است که بولاغ اوتی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است و می‌تواند در پیشگیری بیماری مختلف از جمله سرطان‌ها موثر واقع شود (رز و همکاران، 2000؛ /وزن، 2009؛ /مازندرانی و همکاران، 2012). در پژوهشی دیگر مشخص گردید که بولاغ اوتی می‌تواند در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد به خصوص سوپراکسید در محیط درون شیشه‌ای مؤثر باشد (وزن، 2009). هم‌چنین در این پژوهش مشاهده شد که عصاره آبی و الکلی بولاغ اوتی دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و می‌تواند از پراکسیداسون لیپیدها جلوگیری نماید (وزن، 2009). بررسی آنتی‌اکسیدانی بولاغ اوتی در استان مازندران توسط /مازندرانی و همکاران (2012) نشان داد که این گیاه دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است (مازندرانی و همکاران، 2012). بنابراین بولاغ اوتی جزء منابع گیاهی می‌باشد که اثرات محافظتی و سودمندی زیادی برای سلامتی بشر دارد. هم‌چنین این گیاه می‌تواند در تهیه داروهای مختلف به کار گرفته شود (وزن، 2009). آیرس<sup>۱۰</sup> و همکاران (2013) با مطالعه روی ترکیبات فنلی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بولاغ اوتی مشاهده کردند که فنل کل در این گیاه ۱۴۰۰۰ میلی‌گرم بر یک کیلوگرم وزن خشک بر حسب اسید گالیک و محتوی فلاونوئید کل، ۵۶۰۰ میلی‌گرم بر یک کیلوگرم وزن خشک بر حسب کاتچین است. هم‌چنین در این مطالعه مشخص گردید که اسید گالیک، اسید کلروژنیک، اسید کافئیک و کوئرستین-۳- روتینوزاید ترکیبات فنلی غالب در این گیاه می‌باشند. براساس این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش DPPH در بولاغ اوتی ۸۱/۴ درصد برآورد شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بولاغ اوتی در مطالعه مارتینز چانجز<sup>۱۱</sup> و همکاران (2008) براساس روش DPPH، ۲۴۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر و براساس روش FRAP، ۲۰۹ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم براساس وزن تر و در مطالعه وجسیکووسکی<sup>۱۲</sup> و همکاران (2007) براساس روش FRAP، ۶۷۲/۴۰ میکرومول بر گرم وزن خشک بر حسب معادل ترولوکس<sup>۱۳</sup> به دست آمد.

با توجه به این‌که امروزه مواد غذایی با قابلیت دارویی<sup>۱۴</sup> مورد توجه جهانیان است، گیاهانی همچون بولاغ اوتی که خاصیت دارویی داشته و هم به صورت سالادی مصرف می‌شوند، می‌تواند مورد توجه قرار گیرند. نظر به اینکه در ایران مطالعات اندکی در رابطه با خصوصیات مورفولوژیکی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این

بولاغ اوتی یا علف چشمه (*Nasturtium officinale* L.)، گیاهی دارویی از تیره شب‌بو<sup>۱</sup> می‌باشد. این گیاه دارای ارتفاع ۱۰ تا ۶۰ سانتی‌متر با برگ‌های کوچک به رنگ سبز تیره و گل‌های خوشه‌ای کوچک سفید و ساقه‌های خزنده است که از نقاط مختلف آن ریشه‌های کوچک و سفید خارج می‌شود. بولاغ اوتی معمولاً در کنار جوی‌ها و باتلاق‌ها می‌روید (مازندرانی<sup>۲</sup> و همکاران، 2012). در نقاط مختلف کشور ایران این گیاه به صورت وحشی می‌روید و اهالی آن مناطق به عنوان گیاه دارویی و سالادی به همراه غذا از آن استفاده می‌کنند. بولاغ اوتی به صورت وحشی در بسیاری از نقاط آسیا و اروپا می‌روید و انسان‌ها از دوران باستان با آن آشنا بوده و خاصیت‌های درمانی گوناگونی را به آن نسبت می‌دادند. این گیاه هم به لحاظ خاصیت‌های دارویی و هم مزه تند خوش‌گوار آن مورد علاقه بسیاری بوده است. در این گیاه مقدار قابل توجهی ویتامین‌های ث و آ، آهن، ید، اسید فولیک، پروتئین، ترکیبات کلسیمی و گوگردی (می‌توانند روی خصوصیات طعم تأثیرگذار باشد) وجود دارد (آلکوفی و آتا<sup>۳</sup>، 1999). آهن قابل جذب بولاغ اوتی از اسفناج هم بیشتر است و به همین جهت می‌تواند در بهبود کم‌خونی مؤثر باشد. کلسیم آن نیز بیشتر از شیر و ویتامین ث آن از پرتقال بیشتر است (رز<sup>۴</sup> و همکاران، 2000). هم‌چنین مقدار بالای ید در این گیاه آن را برای بهبود فعالیت غده تیروئید و درمان بیماران مبتلا به کم‌کاری تیروئید سودمند ساخته است (وزن<sup>۵</sup>، 2009).

ترکیبات فنلی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم گیاهان محسوب می‌شوند که نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تبدیل هیدروپراکسیدها به رادیکال‌های آزاد دارند (نایک<sup>۶</sup> و همکاران، 2003؛ جیمو<sup>۷</sup> و همکاران، 2008). یکی از روش‌های ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان استفاده از رادیکال‌های آزاد DPPH است و با حذف این رادیکال می‌توان با روشی آسان، سریع و دقیق توانایی آنتی‌اکسیدانی را ارزیابی نمود (یو<sup>۸</sup> و همکاران، 2002). علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد شده در بدن نیست، در نتیجه تأمین نیاز آنتی‌اکسیدانی بدن از منابع گیاهی

1. Brassicaceae
2. Mazandarani
3. Alkofahi and Atta
4. Rose
5. Ozen
6. Naik
7. Jimoh
8. Yu

9. Young and Woodside
10. Aires
11. Martinez-Sanchez
12. Wojcikowski
13. Trolox
14. Nutraceutical

به ترتیب به ۱۷۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰ درصد، ۷۵ میکرولیتر نیتريت سدیم (NaNO<sub>2</sub>) ۰/۵ مولار و ۷۵ میکرولیتر کلرید آلومینیوم (AlCl<sub>3</sub>) ۰/۳ مولار مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم (NaOH) یک مولار در لیتر اضافه شد و ورتکس گردید، پس از ۱۵-۱۰ دقیقه میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر طول موج ۵۰۶ نانومتر قرائت گردید. غلظت فلاونوئید کل برحسب میلی گرم کاتچین در یک گرم وزن خشک محاسبه گردید.

#### ظرفیت آنتی اکسیدانی

ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها از طریق خاصیت خنثی کنندگی رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل<sup>۴</sup> (DPPH) مطابق روش دو و همکاران (2009) با کمی تغییر تعیین گردید. برای این منظور ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده را در لوله های فالکون کوچک ریخته شد و به آن ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه گردید. محلول حاصل به سرعت هم زده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در شرایط تاریکی نگهداری گردید. میزان جذب استاندارد و نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH مطابق فرمول زیر (فرمول شماره ۱) محاسبه گردید.

$$\text{فرمول شماره ۱} \quad \% \text{ DPPH}_{sc} = (A_{cont} - A_{samp}) / A_{cont} \times 100$$

$$\% \text{ DPPH}_{sc} = \text{درصد بازدارندگی} = A_{cont} = \text{میزان جذب DPPH}$$

$$A_{samp} = \text{میزان جذب (نمونه + DPPH)}$$

#### ویتامین ث

برای اندازه گیری ویتامین ث از روش دی نیترو فنیل هیدرازین<sup>۵</sup> (DNPH) استفاده گردید (تر/د<sup>۶</sup> و همکاران، 1978). ۱۰۰ میلی لیتر اسید متاسفریک ۶ درصد به ۵ گرم بافت برگ هموژنیزه شده اضافه کرده و در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی را برداشته و از کاغذ صافی واتمن عبور داده و یک میلی لیتر از آن را با ۰/۵ میلی لیتر ۲-۶ دی کلرو ایندو فنل<sup>۷</sup> (DCIP) ۰/۲٪ مخلوط کرده و در دمای اتاق به مدت یک ساعت انکوبه گردید. سپس، یک میلی لیتر از محلولی که با حل کردن

گیاه انجام شده است، بنابراین بررسی خصوصیات مذکور در مناطق پراکنش این گیاه در ایران ضروری به نظر می رسد.

#### مواد و روش ها

##### مواد گیاهی

برای انجام این پژوهش چهار رویشگاه طبیعی بولاغ اوتی از شمال غربی ایران و یک رویشگاه نیز از غرب کشور انتخاب گردید (جدول ۱). از هر کدام از رویشگاه ها تعداد ۱۰ نمونه در فروردین ماه و در مرحله رویشی و قبل از آغاز گل دهی انتخاب و جمع آوری گردید. نمونه ها از چشمه های مختلف و در فواصل مختلف برداشت شدند. نمونه های گیاهی پس از اندازه گیری پارامترهای مورفولوژیکی در آزمایشگاه (جدول ۲)، سایه خشک شدند.

##### تهیه عصاره

برای به دست آوردن عصاره هیدروالکلی، مقدار یک گرم برگ خشک پودر شده را وزن نموده و با پنج میلی لیتر از محلول متانول و آب مخلوط شد. پس از هموژنیزه کردن، به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و سپس از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد (دو<sup>۱</sup> و همکاران، 2009). جهت سنجش میزان فنل کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و ویتامین ث از عصاره استفاده گردید.

##### فنل کل

میزان فنل کل در عصاره های برگي مطابق روش فولین سیکالتنو<sup>۲</sup> (دو و همکاران، 2009) اندازه گیری شد. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر عصاره برگي با آب مقطر به حجم هشت میلی لیتر رسانیده شد و سپس به آن ۵۰۰ میکرولیتر واکنش گر فولین<sup>۳</sup> (۱:۱ با آب) اضافه شد، پس از یک دقیقه ۱۵۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد افزوده شد. پس از دو ساعت نگهداری در دمای اتاق و شرایط تاریکی میزان جذب عصاره در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت فنل کل نیز بر حسب میلی گرم اسید گالیک در یک گرم وزن خشک محاسبه گردید.

##### فلاونوئید کل

اندازه گیری فلاونوئید کل مطابق روش دو و همکاران (2009) صورت گرفت. ابتدا ۱۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده را

4. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

5. 2,4-Dinitrophenylhydrazine

6. Terada

7. 2,6-Dichloroindophenol

1. Du

2. Folin-ciocalteu

3. Folin's reagent

میلی گرم اسید آسکوربیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه محاسبه گردید.

### آنالیز آماری

آنالیز داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی چند مشاهده‌ای (طرح آشیانه‌ای) و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و هم‌چنین تجزیه به مؤلفه‌های اصلی<sup>۲</sup> (PCA) و تجزیه خوشه‌ای (به روش وارد<sup>۳</sup>) از نرم‌افزارهای آماری SPSS و SAS استفاده گردید.

تیوره<sup>۱</sup> دو درصد در اسید متافسفوریک پنج درصد به دست آمده و ۰/۵ میلی لیتر از محلولی که با حل کردن DNPH دو درصد را در اسید سولفوریک ۴/۵ مولار به دست آمده بود، را به محلول فوق اضافه کرده و دوباره در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت انکوبه شد. سپس محلول را در داخل یخ قرار داده و به آرامی به آن ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۰٪ اضافه گردید. بعد از آن میزان جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. میزان ویتامین ث از روی میزان جذب نمونه و نمونه‌های استاندارد بر حسب

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی رویشگاه‌های مطالعه شده  
Table 1: Geographical characteristics of studied habitats

میانگین دمای سالیانه (متوسط ۱۰ سال) بر حسب درجه سانتی‌گراد Mean annual temperature (average of 10 years) in °C	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا (متر) Altitude (m)	رویشگاه Habitat	استان Province
12.4	47° 05' 527"	38° 51' 779"	1219	کلیر Kaleybar	آذربایجان شرقی East Azerbaijan
12.3	45° 85' 123"	37° 46' 057"	1423	آذرشهر Azarshahr	آذربایجان شرقی East Azerbaijan
11.9	45° 04' 423"	37° 33' 564"	1286	ارومیه Urmia	آذربایجان غربی West Azerbaijan
13.4	45° 38' 881"	36° 95' 006"	1255	نقده Naghadeh	آذربایجان غربی West Azerbaijan
15.9	49° 04' 765"	29° 33' 344"	1150	دورود Doroud	لرستان Lorestan

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس صفات مطالعه شده در جمعیت‌های مختلف  
 Table 2: Analysis of variance of studied traits in different populations

صفات Traits													درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of variations
ویتامین ث Vitamin C	فلاونوئید کل Total flavnoid	فنل کل Total phenol	آنتی‌اکسیدان کل Total antioxidant	وزن خشک Dry weight	وزن تر Fresh weight	قطر ساقه Stem diameter	فاصله میان‌گره Inter node distance	طول دمبرگ Petiole length	نسبت طول به عرض برگچه Leaflet length/leaflet width	عرض برگچه Leaflet width	طول برگچه Leaflet length	طول برگ Leaf length		
7.62**	4.02*	4.18*	5.47*	124.88**	65.13**	1.27 <sup>ns</sup>	35.11**	31.08**	11.18**	4.66*	8.6**	11.96**	4	جمعیت Population
0.22*	0.47*	0.16 <sup>ns</sup>	1.7 <sup>ns</sup>	2.25 <sup>ns</sup>	2.25 <sup>ns</sup>	4.67*	1.5 <sup>ns</sup>	4.3*	3.8*	0.04 <sup>ns</sup>	4.77*	4.65*	9	نمونه داخل جمعیت Accession within population
17.10	25.58	14.74	5.59	4.38	3.98	4.43	14.86	12.27	12.18	8.73	9.24	11.43		ضریب تغییرات CV

\* و \*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد  
 \* and \*\*: Significant at 5% and 1% levels, respectively

جدول ۳: دسته‌بندی میانگین صفات مطالعه شده در جمعیت‌های مختلف بولاغ اوتی

Table 3: The average values of studied traits in different populations of *Nasturtium officinale*

نقده Naghadeh	دورود Doroud	آذرشهر Azarshahr	ارومیه Urmia	کلیبر Kaleybar	صفات Traits
5.22 <sup>ab</sup>	6.05 <sup>ab</sup>	4.21 <sup>b</sup>	5.25 <sup>ab</sup>	7.67 <sup>a</sup>	طول برگ (میلی‌متر) Leaf length (mm)
1.41 <sup>b</sup>	1.86 <sup>a</sup>	1.37 <sup>b</sup>	1.74 <sup>a</sup>	1.94 <sup>a</sup>	طول برگچه (میلی‌متر) Leaflet length (mm)
1.01 <sup>a</sup>	1.17 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>	1.06 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	عرض برگچه (میلی‌متر) Leaflet width (mm)
1.41 <sup>b</sup>	1.61 <sup>ab</sup>	1.2 <sup>b</sup>	1.64 <sup>ab</sup>	2.22 <sup>a</sup>	نسبت طول به عرض برگچه Leaflet length/leaflet width
1.73 <sup>b</sup>	2.66 <sup>a</sup>	1.83 <sup>b</sup>	1.42 <sup>bc</sup>	0.82 <sup>c</sup>	طول دم‌برگ (میلی‌متر) Petiole length (mm)
1.09 <sup>bc</sup>	1.05 <sup>bc</sup>	0.47 <sup>c</sup>	1.55 <sup>ab</sup>	2.21 <sup>a</sup>	فاصله میان‌گره (میلی‌متر) Internode distance (mm)
3.86 <sup>b</sup>	4.51 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>	4.15 <sup>b</sup>	4.54 <sup>a</sup>	قطر ساقه (میلی‌متر) Stem diameter (mm)
280 <sup>a</sup>	170 <sup>d</sup>	232 <sup>bc</sup>	240 <sup>b</sup>	200 <sup>cd</sup>	وزن تر (گرم) Fresh weight (g)
30 <sup>a</sup>	17 <sup>bc</sup>	20 <sup>b</sup>	15 <sup>c</sup>	20 <sup>b</sup>	وزن خشک (گرم) Dry weight (g)
54.01 <sup>ab</sup>	60.3 <sup>ab</sup>	54.97 <sup>ab</sup>	52.51 <sup>b</sup>	61.25 <sup>a</sup>	آنتی‌اکسیدان کل (درصد) Total antioxidant (%)
29.85 <sup>a</sup>	26.8 <sup>a</sup>	34.29 <sup>a</sup>	27.59 <sup>a</sup>	32.07 <sup>a</sup>	فنل کل (میلی‌گرم در گرم) Total phenol (mg/g)
19.28 <sup>ab</sup>	24.12 <sup>ab</sup>	29.03 <sup>a</sup>	23.24 <sup>ab</sup>	11.95 <sup>b</sup>	فلاونوئید کل (میلی‌گرم در گرم) Total flavonoid (mg/g)
17 <sup>b</sup>	16.33 <sup>b</sup>	24 <sup>ab</sup>	23 <sup>ab</sup>	31.33 <sup>a</sup>	ویتامین C (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) Vitamin C (mg/100g)

حروف مشابه در هر ردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد هستند  
Means followed by similar letters in each row are not significantly different according to the Duncan test at 1% level

جدول ۴: نتایج آزمون ضریب همبستگی ساده بین صفات مطالعه شده در نمونه‌های مختلف بولاج اوتی

Table 4: Test results of simple correlation coefficients among studied traits in *Nasturtium officinale* accessions

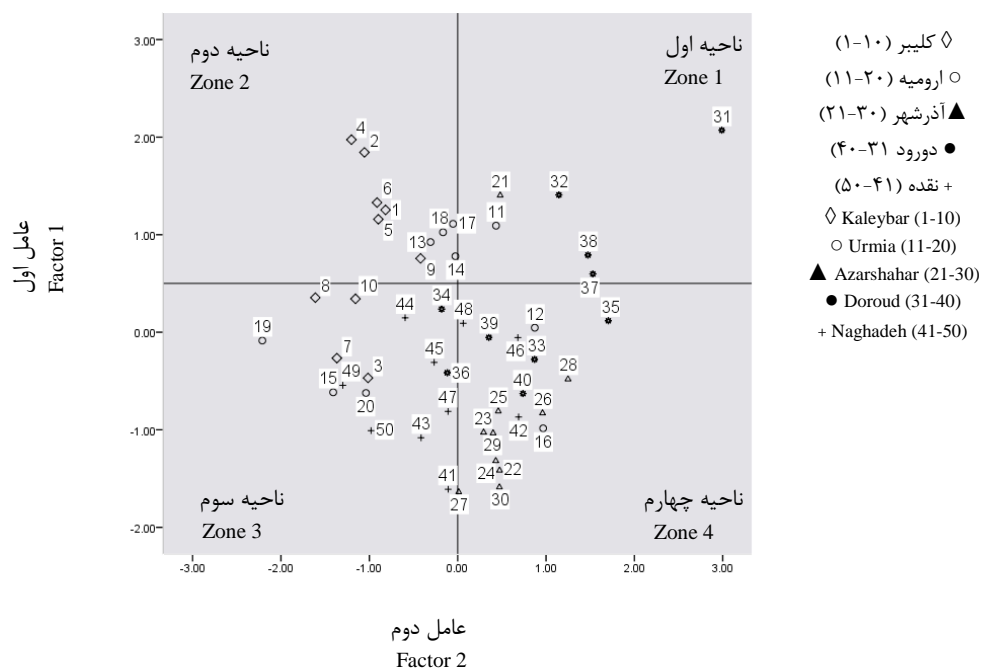
ویتامین ث Vitamin C	فلاونوئید کل Total flavonoid	فنل کل Total phenol	آنتی‌اکسیدان کل Total antioxidant	وزن خشک Dry weight	وزن تر Fresh weight	قطر ساقه Stem diameter	فاصله میان‌گره Internode distanc	طول دم‌برگ Petiole length	نسبت طول به عرض Length/width	عرض برگچه width	طول برگچه Leaflet length	طول برگ Leaf length	صفات Traits
												1	1
											1	0.81**	2
										1	-0.22	-0.45	3
									1	-0.69*	0.85**	0.84**	4
								1	-0.43	0.76**	-0.01	-0.22	5
							1	-0.6*	0.79**	-0.6*	0.64**	0.76**	6
						1	0.26	0.28	0.48	0.08	0.7**	0.66**	7
					1	-0.44	-0.17	-0.25	-0.35	-0.17	0.46	-0.41	8
				1	0.68**	-0.29	-0.14	-0.06	-0.19	-0.26	-0.44	-0.08	9
			1	0.17	0.14	-0.01	-0.11	-0.2	-0.31	0.03	-0.46	-0.12	10
		1	0.71**	-0.16	-0.67**	0.35	0.22	0.16	0.56*	-0.23	0.59*	0.55*	11
	1	-0.19	0.51*	-0.21	0.05	-0.07	-0.74**	0.5	-0.61*	0.55*	-0.4	-0.52*	12
1	-0.32	0.07	0.61*	-0.19	-0.08	0.19	0.51	-0.68**	0.49	-0.41	0.29	0.37	13

\* و \*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد  
\* and \*\*: Significant at 5% and 1% levels, respectively

جدول ۵: نتایج تجزیه به عامل‌ها برای کلیه صفات مطالعه شده در نمونه‌های بولاغ اوتی

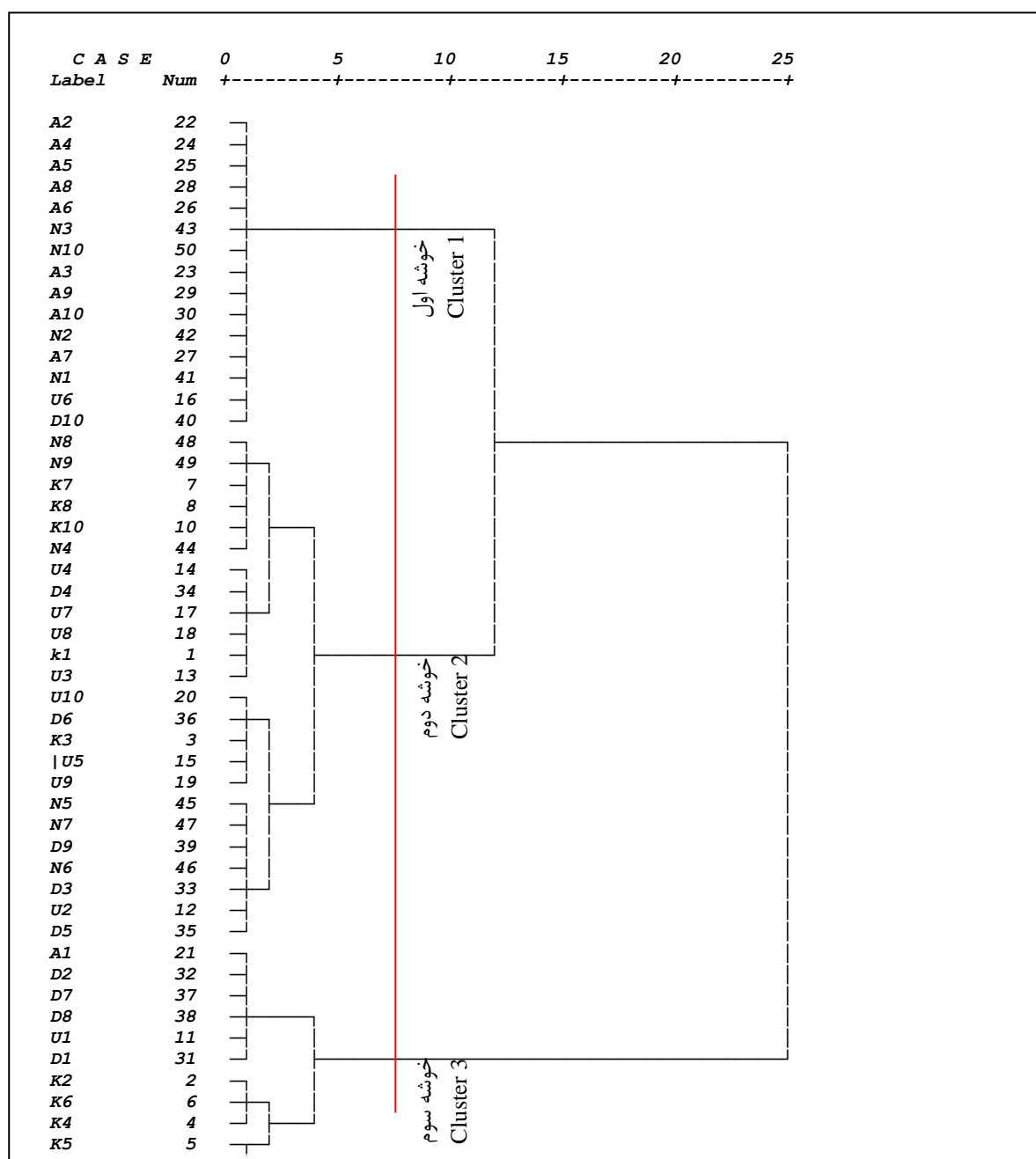
Table 5: The results of principal component analysis for all of the studied traits in *Nasturtium officinale* accessions

مولفه چهارم Factor 4	مولفه سوم Factor 3	مولفه دوم Factor 2	مولفه اول Factor 1	صفات Traits
0.01	-0.01	<u>0.83</u>	0.48	طول برگ (میلی‌متر) Leaf length (mm)
-0.25	-0.36	<u>0.79</u>	0.33	طول برگچه (میلی‌متر) Leaflet length (mm)
0.04	-0.23	-0.06	<u>-0.86</u>	عرض برگچه (میلی‌متر) Leaflet width (mm)
-0.17	-0.16	0.62	<u>0.72</u>	نسبت طول به عرض برگچه Leaflet length/leaflet width
-0.27	0.04	0.28	<u>0.9</u>	طول دمبرگ (میلی‌متر) Petiole length (mm)
0.01	-0.2	0.38	<u>0.82</u>	فاصله میان‌گره (میلی‌متر) Internode distance (mm)
0.2	-0.12	<u>0.89</u>	-0.11	قطر ساقه (میلی‌متر) Stem diameter (mm)
0.13	<u>0.69</u>	-0.53	0.11	وزن تر (گرم) Fresh weight (g)
0.01	<u>0.96</u>	-0.12	0.06	وزن خشک (گرم) Dry weight (g)
<u>0.92</u>	0.13	-0.11	-0.07	آنتی‌اکسیدان کل (درصد) Total antioxidant (%)
-0.38	-0.2	<u>0.64</u>	0.11	فنل کل (میلی‌گرم در گرم) Total phenol (mg/g)
<u>0.51</u>	-0.17	-0.23	-0.45	فلاونوئید کل (میلی‌گرم در گرم) Total flavonoid (mg/g)
<u>0.61</u>	-0.28	0.14	0.6	ویتامین ث (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) Vitamin C (mg/100g)
12.52	13.94	26.97	31.26	میزان واریانس (درصد) Variance (%)
84.69	72.17	58.24	31.26	میزان واریانس تجمعی (درصد) Cumulative variance (%)
1.63	1.81	3.51	4.06	ریشه مشخصه Eigen value



شکل ۱: نمودار پراکنش نمونه‌های بولاغ اوتی در فضای محور مختصات براساس دو مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی  
Fig. 1: Factor analysis plot of the first two factors depicting relationship among *Nasturtium officinale* accessions





شکل ۲: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های بولاغ اوتی به روش وارد بر مبنای میانگین صفات مورد مطالعه  
 Fig. 2: Dendrogram of grouping *Nasturtium officinale* accessions based on studied traits and Ward's method

## نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. در هر صفت ضریب تغییرات بالاتر بیانگر دامنه وسیع‌تر آن است و بنابراین امکان گزینش را افزایش می‌دهد. نتایج حاصل نشان داد که بین جمعیت‌ها تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد. همچنین به جز صفت قطر ساقه، از نظر سایر صفات مورد بررسی، تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها مشاهده شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که صفات طول برگ، طول برگچه، نسبت طول به عرض برگچه، فاصله میان‌گره، قطر

ساقه، آنتی‌اکسیدان کل و ویتامین ث در نمونه‌های جمعیت کلیبر از مقادیر بیشتری برخوردار بودند. در حالی که صفات فنل کل و فلاونوئید کل در نمونه‌های جمعیت آذرشهر مقادیر بیشتری را به خود اختصاص دادند. صفات عرض برگچه، طول میان‌گره در نمونه‌های جمعیت دورود دارای مقادیر بالاتری بودند. همچنین در نمونه‌های جمعیت نرده صفات وزن تر و خشک دارای بالاترین مقدار بودند (جدول ۳). از لحاظ خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، نمونه‌های جمعیت کلیبر دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بودند و پایین‌ترین آن مربوط به نمونه‌های جمعیت ارومیه بود. همچنین نمونه‌های جمعیت

نمودار پراکنش نمونه‌ها در فضای محور مختصات براساس دو عامل اول حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی تنها توانست نمونه‌های کلیبر (ناحیه دوم) و آذرشهر (ناحیه چهارم) را از سه جمعیت دیگر متمایز نماید. درحالی‌که نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های دیگر دارای هم‌پوشانی زیادی بودند (شکل ۱).

نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس کلیه صفات مورد مطالعه نشان داد که با برش دندروگرام در ناحیه ۷/۲ براساس تجزیه تابع تشخیص، سه خوشه ایجاد گردید که در خوشه اول ۱۵ نمونه وجود دارند که صفات طول دم‌برگ، وزن تر و خشک در تفکیک این گروه نقش مهمی داشتند. نمونه‌های موجود در خوشه دوم (۲۴ نمونه) دارای عرض برگچه و فلاونوئید کل بیشتری بودند. هم‌چنین در خوشه سوم ۱۱ نمونه قرار گرفته‌اند که دارای طول برگ و برگچه، فاصله میان‌گره، محتوی ویتامین ث و آنتی‌اکسیدان کل بیشتری بودند. بیشتر نمونه‌های حاصل از رویشگاه آذرشهر در خوشه اول جای گرفته‌اند. هم‌چنین بیشتر نمونه‌های کلیبر نیز در خوشه سوم قرار گرفته‌اند. درحالی‌که بیشتر نمونه‌های جمعیت‌های دیگر در خوشه دوم جای گرفته‌اند. نمونه‌های جمعیت درود علی‌رغم فاصله جغرافیایی زیاد با جمعیت‌های دیگر در هر سه خوشه پخش گردیدند. احتمالاً زیاد بودن تعداد افراد و تنوع بیشتر در جمعیت درود در مقایسه با سایر جمعیت‌ها باعث شده است که نمونه‌های این جمعیت تفکیک نشوند و در هر سه خوشه پخش گردند. هم‌چنین با توجه به اینکه دو عامل اول نزدیک به ۶۰ درصد واریانس کل را به خود اختصاص می‌دهند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و دی پلات تا حد زیادی هم‌خوانی داشتند.

#### بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که منبع تنوع تا حد زیادی ناشی از تنوع بین جمعیتی بولاغ اوتی بود (جدول ۲). به‌طوری‌که تمامی صفات مورد بررسی به‌جز قطر ساقه در بین جمعیت‌ها تفاوت‌هایی را از خود نشان دادند. در بین صفات مورد بررسی فلاونوئید کل بیش‌ترین ضریب تغییرات و تنوع را داشت و کم‌ترین تنوع هم مربوط به صفت وزن تر می‌باشد. محققان قسمتی از تنوع در صفات مورفولوژیک را ناشی از تفاوت در شرایط اقلیمی و رویشگاهی از جمله میانگین رطوبت، دمای سالیانه، طول فصل خشک و میزان حاصلخیزی خاک (اشمیت و لویز، ۱۹۸۵؛ کویک<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۳؛ چایدومایو<sup>۴</sup>، ۲۰۰۶) و قسمتی دیگر را ناشی از وجود تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌دانند. با توجه به تجزیه خوشه‌ای و

کلیبر دارای بالاترین مقدار ویتامین ث بود، درحالی‌که پایین‌ترین میزان ویتامین ث نیز مربوط به نمونه‌های جمعیت نقده بود. از نظر میزان فنل کل، نمونه‌های جمعیت آذرشهر دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی بودند، ولی بین جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.

نتایج همبستگی بین صفات (جدول ۴) نشان داد که طول برگ با طول برگچه، نسبت طول به عرض برگچه، فاصله میان‌گره، قطر ساقه، فنل کل و فلاونوئید کل همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. هم‌چنین ویتامین ث، فنل کل و فلاونوئید کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبت معنی‌داری داشتند. طول برگچه با نسبت طول به عرض برگچه، فاصله میان‌گره و فنل کل همبستگی معنی‌دار مثبتی دارد. عرض برگچه نیز با نسبت طول به عرض برگچه، طول دم‌برگ و فلاونوئید کل همبستگی مثبت ولی با فاصله میان‌گره همبستگی منفی معنی‌داری دارد. فاصله میان‌گره با طول دم‌برگ همبستگی منفی و وزن خشک با وزن تر همبستگی مثبت معنی‌داری نشان دادند.

به‌منظور تعیین مهم‌ترین صفات مورفولوژیک در ایجاد تمایز بین جمعیت‌ها از تجزیه به مولفه‌های اصلی استفاده گردید. میزان واریانس توجیهی هر عامل، واریانس تجمعی توجیه شده و مقادیر ویژه ۱ حاصل از تجزیه به عامل‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. چهار عامل اصلی و مستقل با مقادیر ویژه بیش از یک استخراج شدند. این عامل‌ها پس از چرخش و ریماکس توانستند ۸۴/۶۹ درصد از تنوع کل داده‌ها را توجیه نمایند. دو عامل اصلی اول ۵۸/۲۴ درصد از کل واریانس را به خود اختصاص دادند. به‌طورکلی در این ارزیابی، صفات با ضرایب عاملی بالای ۰/۵ به‌عنوان ضرایب معنی‌دار و مؤثر در مدل در نظر گرفته شده‌اند. در عامل اول که ۳۱/۲۶ درصد از تنوع کل را توجیه می‌کند، صفات عرض برگچه، نسبت طول به عرض برگچه، فاصله میان‌گره و طول دم‌برگ اهمیت بیشتری را در مقایسه با سایر صفات از خود نشان دادند. ضرایب بالای صفات مذکور نشان می‌دهد که این صفات در این عامل دارای بالاترین میزان تنوع بوده و سایر صفات دارای تنوع کمتری هستند. در عامل دوم که ۲۶/۹۷ درصد از تنوع کل را توجیه می‌کند، طول برگ، طول برگچه، قطر ساقه و فنل کل در مقایسه با سایر صفات مورد مطالعه دارای اهمیت بیشتری بودند. در تبیین عامل سوم وزن تر و خشک و عامل چهارم نیز آنتی‌اکسیدان کل، فلاونوئید کل و ویتامین ث نقش مهمتری را ایفا نمودند (جدول ۵). از آنجائی‌که عامل اول و دوم بیش از ۵۸ درصد واریانس را تشکیل می‌دهند، لذا اقدام به رسم نمودار دی پلات گردید.

2. Schmidt and Levin  
3. Koik  
4. Chidumayo

1. Eigen value

همچنین تنوع زیاد در نمونه‌های درود باعث پراکنش و تشابه برخی از نمونه‌های آن با جمعیت‌های شمال غرب می‌باشد. تاکنون گزارشات بسیار محدودی در مورد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بولاغ اوتی‌های ایران گزارش شده‌است که نمونه‌ی آن مطالعه یزدان پرست<sup>۳</sup> و همکاران (2008) است که با استفاده از روش DPPH ظرفیت آنتی‌اکسیدانی علف چشمه در جنوب شرق ایران را گزارش نمودند (۱۱۴/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بولاغ اوتی در مطالعه آیرس و همکاران (2013) براساس روش DPPH، ۸۱/۴ درصد، در مطالعه مارتینز چانجز و همکاران (2008) براساس روش DPPH، ۲۴۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر و در مطالعه وجسیکووسکی و همکاران (2007) براساس روش FRAP، ۶۷۲/۴۰ میکرومول بر گرم وزن خشک برحسب معادل ترلوکس به‌دست آمد. متفاوت بودن نتایج مطالعه حاضر با نتایج این مطالعات می‌تواند شرایط آب و هوایی و حلال استخراج متفاوت باشد به نظر می‌رسد بالا بودن فنل و فلاونوئید کل، ویتامین ث و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های جمعیت کلیبر نسبت به سایر جمعیت‌های مورد مطالعه، این جمعیت را به لحاظ ارزش تغذیه‌ای از سایر جمعیت‌های مورد مطالعه متمایز می‌نماید. همچنین با توجه به این‌که وجود تنوع یکی از مهم‌ترین شاخص‌های اصلاحی هر گیاهی می‌باشد، پیش‌بینی می‌شود، نمونه‌های رویشگاه درود قابلیت سازگاری بهتری به‌منظور اهداف اهلی‌سازی و اصلاحی نسبت به سایر جمعیت‌های مورد مطالعه باشد.

پراکنش نمونه‌ها در خوشه‌های مختلف به نظر می‌رسد که منشاء تنوع بیشتر ناشی از ژنتیک باشد تا محیط. به‌طور کلی از نتایج این پژوهش می‌توان به وجود تنوع به‌ویژه تنوع بین جمعیتی در صفات مورفولوژیک پی برد. همچنین از لحاظ صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بین جمعیت‌ها و درون جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در مطالعه حاضر صفاتی همچون فنل کل، فلاونوئید کل و ویتامین ث با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل همبستگی مثبت معنی‌داری داشتند. همچنان‌که در مطالعات دیگر نیز چنین همبستگی‌هایی مشاهده گردیده است (سارا<sup>۱</sup> و همکاران، 2008؛ حسن‌پور<sup>۲</sup> و همکاران، 2011). نتایج حاصل از خوشه‌بندی نمونه‌های مختلف جمع‌آوری شده از مناطق مختلف نشان داد که بیشتر نمونه‌های کلیبر و آذرشهر در دو خوشه متفاوت (خوشه اول و سوم) قرار گرفتند، بنابراین می‌توان گفت که نمونه‌های این دو رویشگاه از لحاظ صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی تفاوت زیادی دارند، به‌طوری‌که اختلاف حداکثر بین نمونه‌های K9 و A2 وجود دارد. شاید در کارهای اصلاحی از طریق تلاقی بین این دو نمونه یا به عبارتی نمونه‌های موجود در رویشگاه کلیبر و آذرشهر به نتایج بهتری دست پیدا نمود. همچنین بیشتر نمونه‌های ارومیه و نقده نیز در خوشه دوم قرار گرفتند و نمونه‌های درود در هر سه خوشه پخش شده‌اند. قرار گرفتن نمونه‌های ارومیه و نقده را در یک خوشه می‌توان به نزدیکی محل جغرافیایی آن‌ها نسبت داد.

## منابع

- Aires, A., Carvalho, R., Rosa, E. A. S. and Saavedra, M. J. 2013. Phytochemical characterization and antioxidant properties of baby-leaf watercress produced under organic production system. *Journal of Food*, 11 (4): 343-351.
- Alkofahi, A. and Atta, A. H. 1999. Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 341-345.
- Chidumayo, E. N. 2006. Fitness implications of clonal integration and leaf dynamics in a stoloniferous herb, *Nelsonia canescens* (Lam.). Spreng (Nelsoniaceae). *Evolutionary Ecology*, 20: 59-73.
- Du, G., Li, m., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113: 557-562.
- Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J. and Adlipour, M. 2011. Antioxidant capacity and phytochemical properties of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*, 129: 459-463.
- Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., Aliero, A. A. and Afolayan, J. 2008. Polyphenolic contents and biological activities of *Rumex ecklonianus*. *Pharmaceutical Biology*. 46: 333-40.
- Koike, T., Kiato, M., Quoreshi, A. M. and Matsuura, Y. 2003. Growth characteristics of root-shoot relations of three birch seedlings raised under different water regimes. *Journal of Plant Soil*, 255: 303-310.
- Martinez-Sanchez, A., Gil-Iaquiedo, A., I.Gil, M. and Ferreres, F. 2008. A comparative study of flavonoid compounds, vitamin C, and antioxidant properties of baby leaf Brassicaceae species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2330-2340.
- Mazandarani, M., Momeji, A. and Zarghami Moghaddam, P. 2012. Evaluation of phytochemical and antioxidant activities from different parts of *Nasturtium officinale* R. Br. in Mazandaran. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3 (2): 659-664.
- Naik, G. H., Priyadarsini, K. I., Satav, J. G., Banavalikar, M. M., Sohoni, D. P., Biyani, M. K. and Mohan, H. 2003. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Phytochemistry*, 63: 97-104.
- Ozen, T. 2009. Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts, *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 66 (2): 187-193.
- Rose, P., Faulkner, K., Williamson, G. and Mithen, R. 2000. 7-Methylsulfinylheptyl and 8-methylsulfinyloctyl isothiocyanates from watercress are potent inducers of phase II enzymes. *Carcinogenesis*, 21 (11): 1983-1988.
- Sara, T., Bruno, M., Franco, C., Stefano, B., Jules, B., Chris, D., Ezra, C., Arnaud, B. and Maurizio, B. 2008. Antioxidants phenol compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56: 696-704.
- Schmidt, K. P. and Levin, D. A. 1985. The comparative demography of reciprocally sown populations of *Phlox drummondii* Hook. I. Survivorships, fecundities, and finite rates of increase. *Journal of Plant Evolution*, 39: 396-404.
- Terada, M., Watanabe, Y., Kunitomo, M. and Hayashi, E. 1978. Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic-acid-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. *Analytical Biochemistry*, 84: 604-608.
- Wojcikowski, K., Stevenson, L., Leach, D., Wohlmuth, H. and Gobe, G. 2007. Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 13 (1): 103-109.
- Yazdanparast, R., Bahramikia, S. and Ardestani, A. 2008. *Nasturtium officinale* reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 172: 176-184.
- Young, I. S. and Woodside, J. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54: 176-186.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50 (16): 19-24.

## Some Biochemical and Morphological Characteristics, and Antioxidant Activities in Watercress (*Nasturtium officinale* L.)

Hassanpour<sup>1\*</sup>, H. and Fattahi<sup>2</sup>, M.

### Abstract

In this study, the variation between five populations (Kaleybar, Azarshahr, Urmia, Naghadeh and Doroud) of Iranian Watercress were investigated based on morphological traits and biochemical characteristics such as total antioxidant capacity, total phenol, total flavonoid and vitamin C. The results showed that there was significant difference among populations for all traits except stem diameter. According to the results, Kaleyber (East Azerbaijan) and Urmia (West Azerbaijan) accessions exhibited the highest and the lowest antioxidant capacity, respectively. The results of the correlation coefficient indicated that, leaf length had significantly positive correlation with some characteristics such as leaflet length, internode distance, stem diameter, total phenol and total flavonoid, and total phenol and total flavonoid with antioxidant capacity. Factor analysis showed that the first forth principle components explained 84.69% of the variation. The results of cluster analysis showed, studied accessions were divided into three sub-clusters, which indicates the diversity among accessions is high. There was a great difference between Kaleybar and Azarshahr accessions based on cluster analysis. The obtained results showed that there was high diversity between watercress populations based on morphological and biochemical traits. Also, watercress has a high level of antioxidant activity and Kaleybar population may be considered as the population with the highest antioxidant activity among tested populations.

**Keywords:** Correlation, Diversity, Total phenol, Total flavonoid, Variance

---

1 and 2. Assistant Professors, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia  
\*: Corresponding author      Email: ha.hassanpour@urmia.ac.ir