مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/IJMAPR.2022.356973.3102
جلد ۳۸، شماره ۲، صفحه ۲۵۲-۲۴۰ (۱۴۰۱) | شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1401.38.2.4.4

اندازه‌گیری میزان فلاونوییدهای روتین و کوئرستین در برگ ژنوتیپ‌های مختلف انبه (*Mangifera indica* L.) در جنوب ایران

علی‌اصغر تلافی[۱]، فرزین عبدالهی[۲*] و علیرضا یاوری[۳]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

پست الکترونیک: farzin.abdollahi@yahoo.com؛ fabdollahi@hormozgan.ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۰ | تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۴۰۱ | تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۱

چکیده

درخت انبه با نام علمی *Mangifera indica* L. به تیره پسته (Anacardiaceae) تعلق دارد. اندام‌های مختلف این گیاه، به‌ویژه برگ، دارای ترکیب‌های ارزشمند فلاونوئیدی است که در درمان دیابت کاربرد دارد. در این پژوهش، برای ارزیابی میزان روتین و کوئرستین در برگ ژنوتیپ‌های مختلف انبه در رویشگاه‌های جنوب ایران، چهار رویشگاه عمده شامل منوجان، رودان، میناب و بوشهر انتخاب گردید. از هر رویشگاه تعداد ۱۰ درخت بالغ و سالم انتخاب و از هر درخت سه دسته نمونه برگ از ارتفاع ۲ متری برداشت شد. عصاره‌گیری از برگ خشک انبه توسط حلال متانول- اسید استیک انجام و برای تجزیه به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) تزریق شد. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند و برای گروه‌بندی جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌ها، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward انجام شد. در بین چهار جمعیت انبه از نظر هر دو ترکیب روتین و کوئرستین، اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) وجود داشت. بیشترین میزان روتین و کوئرستین به‌ترتیب در جمعیت‌های منوجان (۱۲۴/۰۳ ppm) و بوشهر (۶/۰۵ ppm) حاصل شد. تجزیه خوشه‌ای، چهار جمعیت را به سه گروه مستقل تقسیم کرد؛ به‌طوری که دو جمعیت رودان و میناب در گروه یک، جمعیت بوشهر در گروه دو و جمعیت منوجان در گروه سه قرار گرفتند. ارزیابی تنوع فیتوشیمیایی موجود، می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در مدیریت ژرم‌پلاسم انبه فراهم کند و در شناسایی جمعیت‌های مطلوب برای اهداف اصلاحی مختلف در این گونه مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: انبه (*Mangifera indica* L.)، فلاونوئید، روتین، کوئرستین، کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC).

مقدمه

انبه با نام علمی *Mangifera indica* L. از خانواده پسته (Anacardiaceae) یکی از مهمترین میوه‌های اقتصادی تولیدی در مناطق گرمسیری دنیاست. از نظر ویژگی ظاهری، انبه درختی همیشه سبز با برگ‌های درشت و چرمی‌مانند، گل‌های ریز و میوه‌ای درشت حاوی یک هسته بزرگ است که تا ۲۵ متر قد می‌کشد (Fazeli-Nasab & Fahmideh, 2020). این گیاه بومی مناطق جنوبی و جنوب‌شرق آسیا

است و در ایران در نواحی جنوبی به‌ویژه استان‌های هرمزگان، جنوب سیستان و بلوچستان، بوشهر و جنوب کرمان پرورش داده می‌شود. انبه شامل دو نژاد، یکی هندی و دیگری فیلیپینی است که نوع هندی دارای جوانه‌های قرمز روشن و نوع فیلیپینی دارای جوانه‌های سبز کم‌رنگ و یا قرمز است (Bagheri *et al*., 2019). علاوه‌بر بخش مهم اقتصادی آن (میوه)، مقادیر زیادی بقایای گیاهی مانند برگ، گل، ساقه و پوست درخت در هنگام هرس تولید می‌شود که حذف آنها در باغ‌ها، برای کشاورزان به‌عنوان چالشی هزینه‌بر محسوب می‌گردد. برگ‌های انبه منبع بالقوه مواد معدنی مانند نیتروژن، پتاسیم، فسفر، آهن، سدیم، کلسیم، منیزیم و انواع ویتامین‌ها مانند A، B، E و C هستند. از این گذشته، برگ‌های انبه غنی از پروتئین است که می‌تواند به‌عنوان منبع جایگزین تغذیه دام در کشورهای در حال توسعه برای کاهش کمبود غذا، برای دام‌ها استفاده گردد (Quintana *et al*., 2021).

از عصاره برگ انبه در طب سنتی برای درمان دیابت، برونشیت، اسهال، آسم، درد کلیه، مشکلات تنفسی، سیفلیس و ناراحتی‌های مجاری ادراری استفاده می‌شود (Fazeli-Nasab & Fahmideh, 2020؛ Ediriweera *et al*., 2017؛ Bhowmik *et al*., 2009). فعال‌ترین ترکیب بیولوژیکی برگ‌های گونه *M. indica*، مَنگی‌فرین است که برای درمان انواع بیماری‌های تنفسی و دیابت نوع ۱ و ۲ مورد استفاده قرار می‌گیرد. با گسترش و تداوم تحقیقات، طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های فیزیولوژیکی و دارویی برگ انبه آشکار شد؛ به‌طوری که نتایج پژوهش‌های مختلف روی برگ انبه نشان داد که برگ انبه غنی از ترکیب‌های فنولی شامل اسیدهای فنولی، بنزوفنون‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد (Pan *et al*., 2018a). این طیف گسترده از ترکیب‌های فنولی موجود در برگ انبه، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، بهبود وضعیت بیماری دیابت، ضد میکروبی، تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن، تب‌بر، ضدالتهابی و ضد درد است (Lauricella *et al*., 2017؛ Masud Parvez, 2016).

فلاونوئیدها ترکیب‌های پلی‌فنولی هستند که در همه غذاها با منشأ گیاهی وجود دارند. انواع مختلف آن شامل فلاون‌ها، ایزوفلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها دارای ۱۵ کربن هستند که از سه حلقه A (۶ کربن)، B (۶ کربن) و C (۳ کربن) تشکیل شده‌اند (Dias *et al*., 2021). این ترکیب‌ها دارای اثرهای مختلفی روی سیستم سلولی پستانداران هستند و در این رابطه، اهمیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در جایگاه‌های ۵ و ۷ حلقه A هسته فلاون ثابت شده است. اخیراً فلاونوئیدها به‌عنوان ضدویروس، ضدرماتیسم، ترمیم زخم، ضد التهاب و سیتوتوکسیک مورد استفاده قرار می‌گیرند (Mirza *et al*., 2021؛ Jaimand *et al*., 2013). فلاونوئیدها دارای اثرهای بازدارنده روی عملکرد پلاکت‌ها و لوکوسیت‌ها بوده و نیز دارای اثر محافظتی روی سلول‌های اندوتلیال هستند و به این ترتیب از اثر متقابل بین دیواره رگ‌ها و خون که باعث شروع ترومبوز می‌شوند، ممانعت بعمل می‌آورند. این عمل را از طریق تأثیر بر فاکتور بافتی مونوسیت‌های انسان که خود از عوامل شروع‌کننده انقعاد خون است، انجام می‌دهند (Jia *et al*., 2020؛ Lin *et al*., 2020).

از مهمترین اثرهایی که در پژوهش‌های امروزی برای فلاونوئیدها ذکر شده می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی آنها اشاره کرد (Parcheta *et al*., 2021؛ Chen *et al*., 2018؛ D'Amelia *et al*., 2018). به این ترتیب فلاونوئیدها می‌توانند دارای آثار درمانی در رابطه با بیماری‌هایی که در اثر استرس‌های اکسیداتیو تولید می‌شوند مانند آترواسکلروز کرونری، صدمات ایسکمی، دیابت ملیتوس، فرایندهای پیری و سرطان باشند. این ترکیب‌های ارزشمند، با جلوگیری از اکسیداسیون LDL، باعث کاهش خطرات ابتلا به بیماری‌های ایسکمی قلبی (IHD) و آرترواسکلروز کرونری می‌شوند (Hussain *et al*., 2020؛ Li *et al*., 2020a؛ Ayaz *et al*., 2019؛ Jucá *et al*., 2018).

کوئرستین یک فلاونول است، فلاونوئیدی مشتق شده از گیاهان که از آن به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای استفاده می‌شود. این ماده برای جلوگیری از آزادسازی هیستامین (یک ماده شیمیایی التهابی که در علائم آلرژی مانند عطسه و خارش نقش دارد) در

برخی از سلول‌های ایمنی بدن مؤثر است (Saeed *et al.*, 2017). در پژوهشی روی ۴۲ بزرگسال مبتلا به بیماری ویروسی COVID-19 که دستگاه تنفسی فرد را درگیر می‌کند، مشخص شد افرادی که علاوه‌بر روش استاندارد درمان این بیماری از ترکیب زیستی حاوی کوئرستین (Quercetin Phytosome) به‌مدت ۱۴ روز استفاده کرده‌اند، کوئرستین از نظر آماری زمان تبدیل آزمایش مولکولی را از مثبت به منفی کوتاه می‌کند و در عین حال شدت علائم و پیش‌بینی‌کننده‌های منفی COVID-19 را کاهش می‌دهد (Di Pierro *et al.*, 2021). در تحقیقی دیگر، میزان کوئرستین در اندام‌های مختلف گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) شامل گل، برگ، ساقه و بذر با استفاده از حلال‌های مختلف توسط دستگاه HPLC ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر کوئرستین بدست آمده مربوط به گل (۲۹۹۰ ppm)، برگ (۱۲۲۳ ppm) و بذر تازه (۱۷۷۹ ppm) در روش استخراج با متانول و در ساقه (۱۳۱۶ ppm) به روش خیس کردن با متانول– اسیداستیک بدست آمد (Jaimand *et al.*, 2013).

روتین، یک ترکیب فلاونوئیدی است که در بسیاری از گیاهان موجود می‌باشد؛ به‌طوری که بیشترین مقدار آن در گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) گزارش شده است (Rauf *et al.*, 2020). در مورد روتین خواص بیولوژیکی بسیار زیادی گزارش شده که برای سلامت انسان مفید است؛ این خواص شامل آنتی‌اکسیدانی، محافظت کبدی و ضدالتهابی می‌باشد (Gullón *et al.*, 2017). تخریب غشای سلولی، به‌دلیل فعالیت لیپید پراکسیداز روی لیپید موجود در غشای سلولی رخ می‌دهد. روتین با غیرفعال کردن لیپید پراکسیداز، قادر به پیشگیری از تخریب سلولی است. همچنین روتین از اکسیداسیون LDL جلوگیری کرده، بنابراین در پیشگیری از روند آترواسکلروز مفید می‌باشد (Patel & Patel, 2019).

از آنجا که انبه از لحاظ اقتصادی یکی از باارزش‌ترین میوه‌های مناطق جنوب ایران است و تولید آن محدود به مصارف شخصی و محلی بوده و تاکنون مطالعه جامعی در مورد ترکیب‌های فنولی ارزشمند آن شامل کوئرستین و روتین انجام نشده است؛ این پژوهش با هدف ارزیابی قابلیت برگ جمعیت‌های انبه در جنوب ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری مواد گیاهی و خشک کردن

برای نیل به اهداف این پژوهش، مناطق پراکنش درختان انبه از طریق منابع علمی و مصاحبه با کارشناسان جهاد کشاورزی شناسایی و انتخاب شد که عبارت است از: میناب و رودان در استان هرمزگان، منوجان در استان کرمان و شهر بوشهر در استان بوشهر. از اواسط اردیبهشت تا اواسط خرداد سال ۱۴۰۰ با مراجعه و پیمایش در مناطق مورد نظر، از هر رویشگاه تعداد ۱۰ درخت بالغ انتخاب و از هر درخت سه دسته نمونه برگ از ارتفاع ۲ متری برداشت شد. در مجموع از ۴۰ درخت بالغ انبه، نمونه برگ به آزمایشگاه فناوری گیاهان دارویی دانشگاه هرمزگان انتقال یافت و در در دمای محیط و سایه خشک شدند.

اطلاعات رویشگاهی هر منطقه شامل طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با استفاده از دستگاه مکان‌یاب جهانی (GPS) (مدل Garmin eTrex 30x GPS) مشخص شد. داده‌های اقلیمی مربوط به ۱۸ سال گذشته هر رویشگاه ازجمله متوسط دمای سالیانه و متوسط بارندگی سالیانه از ایستگاه‌های هواشناسی منطقه جمع‌آوری گردید. در مواردی که ایستگاه هواشناسی مربوط به منطقه نمونه‌برداری وجود نداشت، داده‌های اشاره شده از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی با اولویت ایستگاه‌های سینوپتیک استخراج شد (جدول ۱).

استخراج عصاره

مقدار ۱ گرم از برگ خشک انبه وزن و بعد توسط آسیاب برقی به‌صورت پودر درآمد. در ادامه پودر آماده شده با ۱۰ میلی‌لیتر حلال متانول– اسید استیک (به‌ترتیب به نسبت ۹ به ۱) مخلوط گردید و به‌مدت ۴۸ ساعت در

دمای محیط روی دستگاه لرزاننده قرار داده شد. حلال توسط کاغذ صافی، صاف شده و بعد حجم محلول به ۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد. هدف از بکارگیری اسید استیک به مقدار کم، جدا کردن بهتر ترکیب‌های فلاونوئیدی بود.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های رویشگاه‌های جمع‌آوری جمعیت‌های ***Mangifera indica***

Table 1. Some characteristics of *Mangifera indica* population's collection habitats

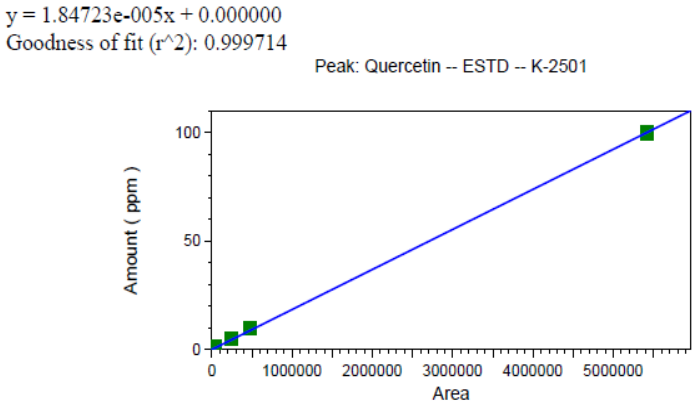
No.	Habitat	Province	Altitude (m.a.s.l.)	Longitude (East)	Latitude (North)	Mean annual temperature (^{o}C)	Mean annual precipitation (mm)
1	Rudan	Hormozgan	190	57° 11' 27"	27° 26' 23"	30	225
2	Minab	Hormozgan	32	57° 04' 23"	27° 08' 43"	29	182
3	Manoujan	Kerman	354	57° 30' 06"	27° 24' 17"	26.8	150
4	Bushehr	Bushehr	5	50° 50' 15"	28° 57' 27"	25.5	259

m.a.s.l.: Meters above sea level

۴۰ نمونه عصاره بدست آمده در یخچال نگهداری و برای تعیین میزان ترکیب‌های کوئرستین و روتین، برای تزریق به دستگاه HPLC در بخش تحقیقات گیاهان دارویی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور ارسال و طبق روش Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) تجزیه انجام شد.

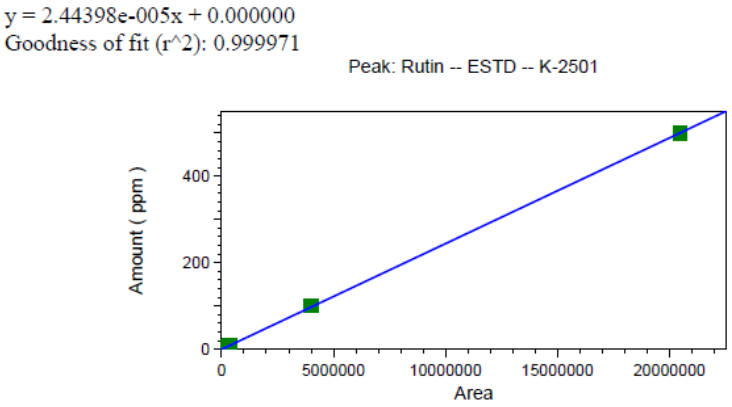
شرایط دستگاهی HPLC

دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) مورد استفاده، ساخت شرکت Knauer کشور آلمان مدل Well Chrom 2000، دارای پمپ مدل Maxi-star K-1001 و دتکتور uv-vis مدل Spectrophotometer K-2500 بود که در ۲۵۷ نانومتر تنظیم شد. ستون مورد استفاده Eurospher 100-5 C18 به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر بود. به‌عنوان فاز متحرک از: متانول: استونیتریل: آب (۴۰: ۱۵: ۴۵) حاوی ۱/۰٪ اسیداستیک با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. مقدار نمونه تزریق شده ۲۰µl بود و انجام آزمایش ۲۰ دقیقه به طول انجامید.



شکل ۱- منحنی کالیبراسیون کوئرستین

Figure 1. Quercetin calibration curve



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون روتین

Figure 2. Rutin calibration curve

آماده‌سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون

استاندارد مورد استفاده در این طرح ترکیب کوئرستین دی‌هیدرات با فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_7, 2H_2O$ و با جرم مولکولی Mw ۳۳۸/۲۷ بود که از شرکت Fluka خریداری گردید؛ همچنین ترکیب روتین با فرمول مولکولی $C_{27}H_{30}O_{16}$ و جرم مولکولی Mw ۶۱۰/۵ از شرکت Merck خریداری شد. میزان ترکیب‌های کوئرستین و روتین با تهیه منحنی استانداردها به‌صورت زیر بررسی شد. برای رسم منحنی خط کالیبراسیون دو ترکیب کوئرستین و روتین، غلظت‌های متفاوتی از محلول‌های استاندارد (۱، ۵، ۱۰ و ۱۰۰ ppm) تهیه و در مرحله بعد به دستگاه HPLC تزریق گردید. سپس با استفاده از رابطه خط رگرسیون بدست آمده میزان ترکیب‌های کوئرستین و روتین در برگ انبه محاسبه شدند (شکل‌های ۱ و ۲).

داده‌های حاصل از صفات اندازه‌گیری شده برای تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین صفات به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ver. 24 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. همچنین ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی تجزیه واریانس در بین چهار رویشگاه مورد ارزیابی انبه نشان داد که هر دو ترکیب کوئرستین و روتین در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با هم دارند (جدول ۲). از نظر ضریب تغییرات (CV)، در بین ۴۰ ژنوتیپ مورد بررسی، مقادیر روتین و کوئرستین به‌ترتیب ۴۳/۷۵٪ و ۷۵/۶۷٪ دارای بیشترین تنوع بودند (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس بازده ترکیب‌های فنولی برگ ***Mangifera indica***

Table 2. ANOVA of phenolic compounds yield of *Mangifera indica* leaves

Source of variations	df	Mean square	
		Rutin	Quercetin
Yield	3	8018.63*	49.43*
Repetition	36	2948.42	8.51
C.V.		43.75	75.67

*Significant difference at 5% probability level

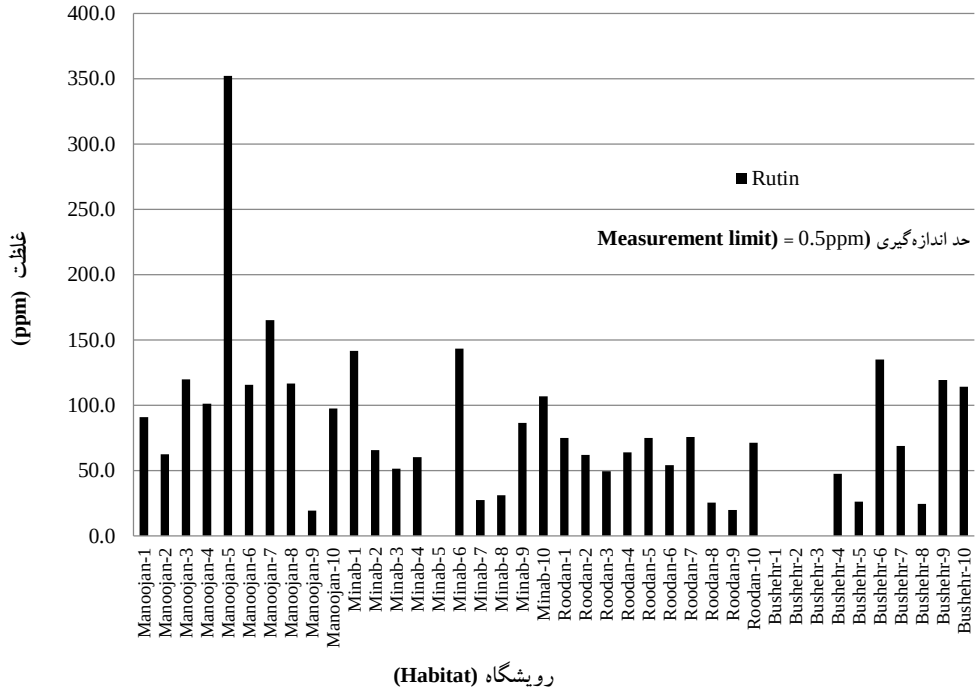
مقایسه میانگین برای صفات مورد مطالعه به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین مشخصه‌های فیتوشیمیایی مربوط به جمعیت‌های *M. indica* در جدول ۳ آمده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان ترکیب روتین در جمعیت منوجان (۱۲۴/۰۳ ppm) و کمترین میزان روتین در جمعیت رودان (۵۷/۱۱ ppm) بدست آمد. از نظر میزان ترکیب کوئرستین، جمعیت بوشهر با میانگین ۶/۰۵ ppm بیشترین مقدار و کمترین میزان کوئرستین را جمعیت منوجان با میانگین ۱/۱۵ ppm داشتند.

جدول ۳- مقایسه میانگین ترکیب‌های فنولی برگ *Mangifera indica*

Table 3. Means comparison of phenolic compounds of *Mangifera indica* leaves

Population	Rutin (ppm)	Queretin (ppm)
Manoojan	124.03a	1.15b
Minab	74.78ab	1.57b
Roodan	57.11b	2.60b
Bushehr	84.75ab	6.05a

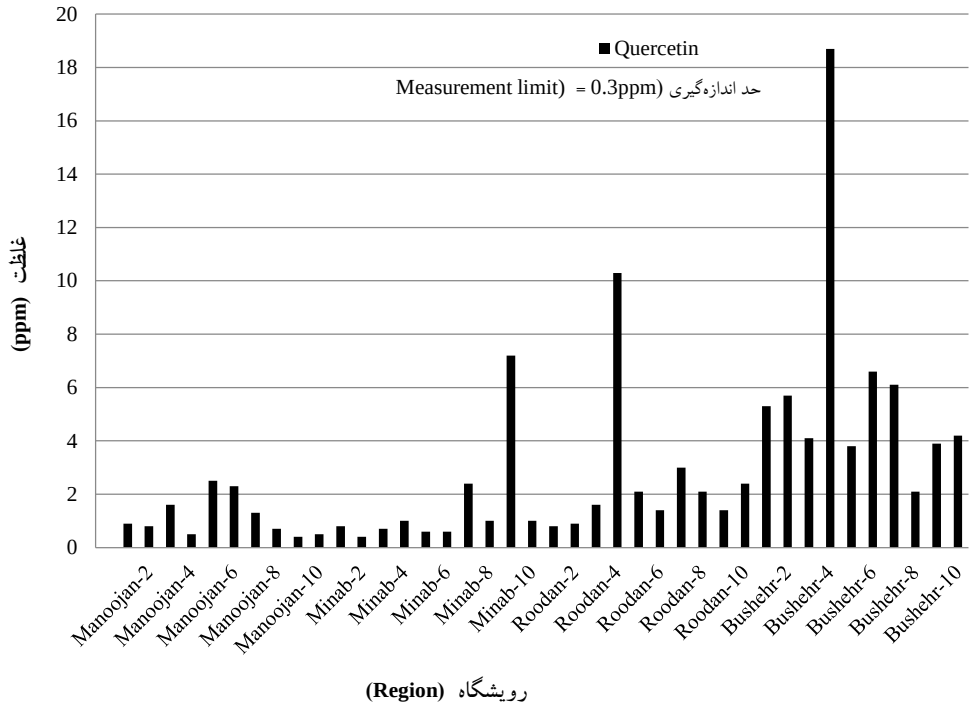
Means with at least one similar letter are not statistically different at 5% probability level.



شکل ۳- مقادیر روتین عصاره برگ ژنوتیپ‌های *Mangifera indica* در رویشگاه‌های مورد مطالعه

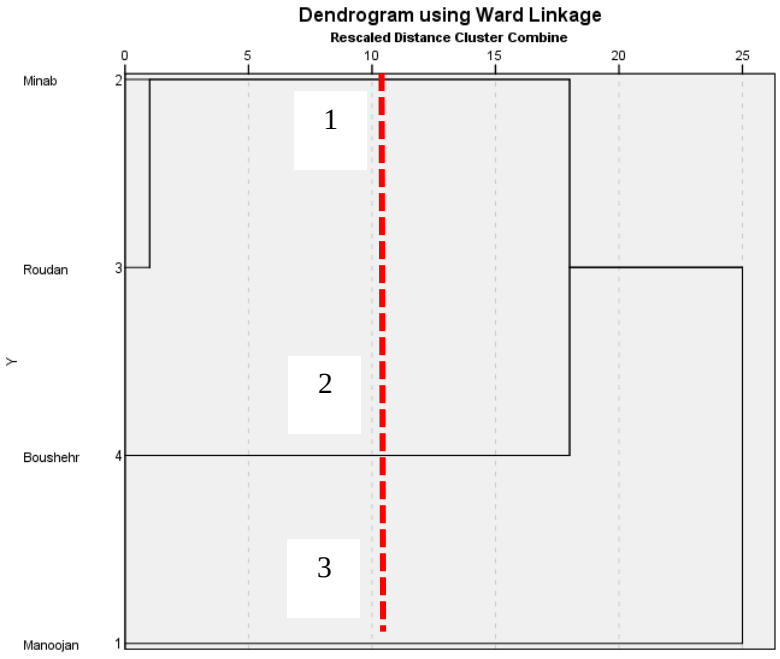
Figure 3. Rutin values in leaves extracts of *Mangifera indica* genotypes in habitats studied

بررسی انجام شده روی ۴۰ ژنوتیپ انبه نشان داد که هر ژنوتیپ دارای میزان متفاوتی از دو ترکیب روتین و کوئرستین است (شکل‌های ۳ و ۴). از آنجا که حضور این دو ترکیب در برگ انبه برای ما ارزشمند است، انتخاب ژنوتیپ مناسب برای صنایع جهت استخراج ترکیب‌های ذکرشده از اهمیت خاصی برخوردار است.



شکل ۴- مقادیر کوئرستین عصاره برگ ژنوتیپ‌های ***Mangifera indica*** در رویشگاه‌های مورد مطالعه

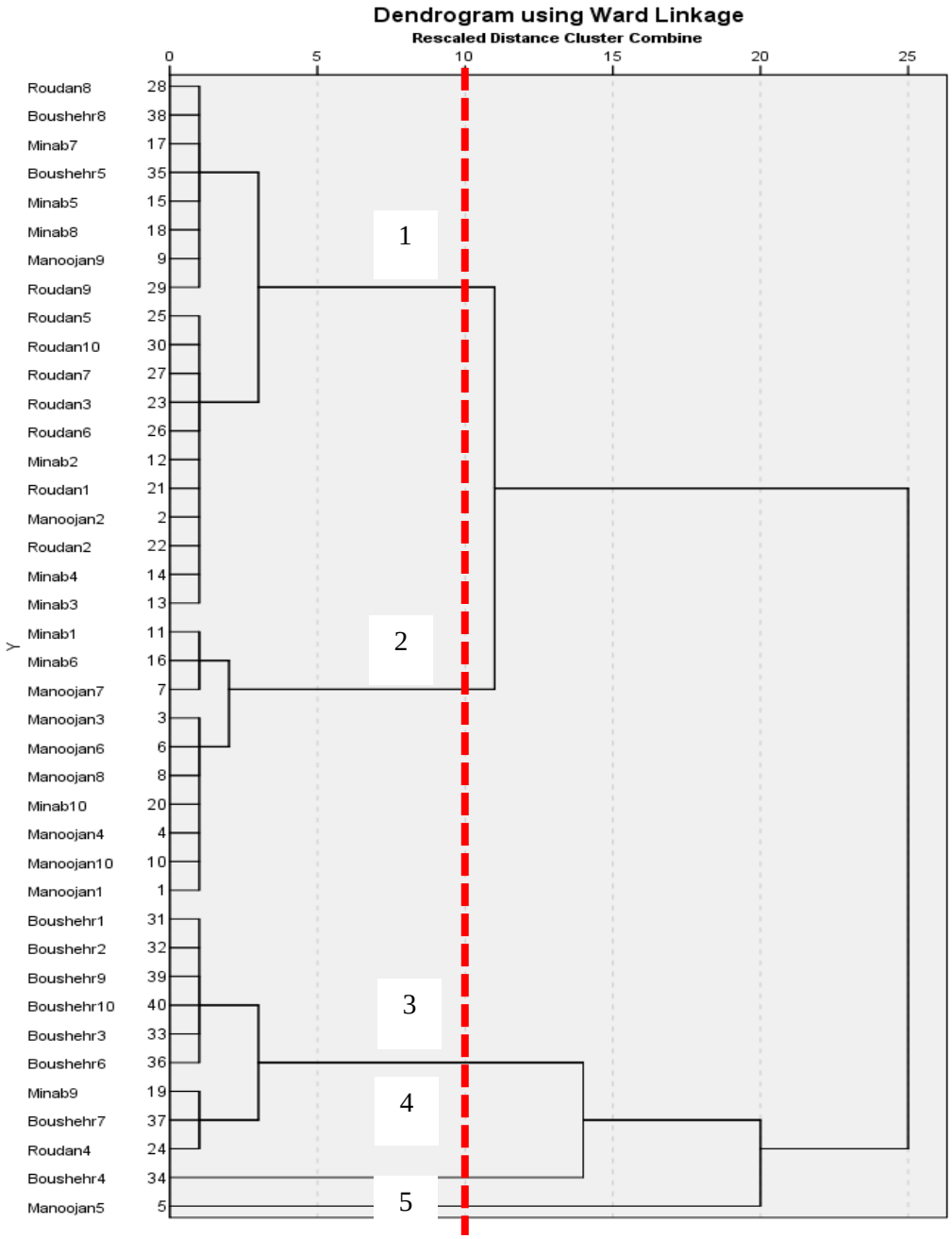
Figure 4. Quercetin values in leaves extracts of *Mangifera indica* genotypes in habitats studied



شکل ۵- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر روتین و کوئرستین در جمعیت‌های ***Mangifera indica***

Figure 5. Cluster analysis dendrogram of rutin and quercetin in *Mangifera indica* populations

برای گروه‌بندی جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌های انبه مورد مطالعه، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward یا حداقل واریانس بر مبنای مربع فاصله اقلیدسی به‌عنوان معیار فاصله استفاده شد و با برش دندروگرام در فاصله ۱۰، جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌ها به‌ترتیب در سه و پنج خوشه مجزا قرار گرفتند (شکل‌های ۵ و ۶).



شکل ۶- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر روتین و کوئرستین در ژنوتیپ‌های ***Mangifera indica***

Figure 6. Cluster analysis dendrogram of rutin and quercetin in *Mangifera indica* genotypes

بحث

امروزه با وجود پیشرفت‌های علمی بشر و دستیابی او به داروهای جدید و با تأثیر سریع‌تر، نه تنها توجه به گیاهان دارویی کمتر نشده، بلکه روز به روز بیشتر هم شده است. نزدیک به ۱۰۰۰ رقم انبه در دنیا وجود دارد که به ۶۹ گونه از جنس انبه تعلق دارند؛ این ارقام از نظر زیستی فعال هستند و می‌توانند در علوم مختلف استفاده و بهره‌برداری شوند. این در حالیست که تنها تعداد محدودی از این ارقام به‌صورت تجاری مورد کشت‌وکار قرار می‌گیرد (EL-Banhawy *et al*., 2021؛ Oliveira *et al*., 2016). از فرآورده‌های دارویی گیاه انبه عمدتاً در درمان بیماری دیابت استفاده می‌شود (Ngo *et al*., 2019). خواص آنتی‌اکسیدانی (Mirfat *et al*., 2016)، ضدالتهاب و سرطان (Batool *et al*., 2018) و ضدویروس (Zendrini Rechenchoski *et al*., 2020) برای آن گزارش شده است. تأثیرات درمانی انبه به‌دلیل حضور ترکیب‌های پلی‌فنولی به‌ویژه انواع فلاونوئیدها مانند منجیفرین، کوئرستین، آپی‌ژنین و روتین موجود در آن است (Kumar *et al*., 2021؛ Maldonado-Celis *et al*., 2019).

در این پژوهش، وجود اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌های انبه برای هر دو صفت مورد بررسی، در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد که بین جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر این صفات تنوع زیادی وجود دارد. البته دامنه تغییرات گسترده صفات مورد بررسی نیز این مطلب را تأیید می‌کند. همچنین صفاتی که ضریب تغییرات (CV) بالاتری دارند، دارای محدوده وسیع‌تری از کمیّت صفت هستند و دامنه انتخاب وسیع‌تری برای آن صفت محسوب می‌شوند (Esmaeilpour *et al*., 2014).

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های دو ترکیب ارزشمند فلاونوئیدی روتین و کوئرستین در چهار جمعیت مورد بررسی انبه نشان داد که بیشترین میزان روتین و کوئرستین به‌ترتیب در جمعیت‌های منوجان و بوشهر مشاهده شد. رویشگاه منوجان از نظر ویژگی‌های جغرافیایی و اقلیمی دارای بیشترین ارتفاع از سطح دریا (۳۵۴ متر) و کمترین متوسط بارش سالیانه (۱۵۰ میلی‌متر) در بین جمعیت‌های مورد بررسی بود. از سوی دیگر، رویشگاه بوشهر دارای کمترین ارتفاع از سطح دریا (۵ متر) و بیشترین متوسط بارش سالیانه (۲۵۹ میلی‌متر) در بین رویشگاه‌های مورد مطالعه بود. بنابراین به‌نظر می‌رسد تأمین شرایط محیطی مناسب برای تولید هر یک از دو ترکیب روتین و کوئرستین، به‌صورت حداکثری، در کنار وراثت گیاه، مورد مهمی است که باید مورد توجه قرار گیرد. البته مطالعات متعددی تأثیر عوامل محیطی بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی را گزارش کرده‌اند (Li *et al*., 2020b؛ Borges *et al*., 2017).

نتایج بدست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های انبه، آنها را در سه گروه مجزا قرار داد. به این معنی که اکوتیپ‌های منوجان و بوشهر که به‌ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین عملکرد در تولید روتین بودند در دو تیپ جداگانه قرار گرفتند و اکوتیپ‌های رودان و میناب با عملکردهای نزدیک به هم، در یک تیپ قرار گرفتند (شکل ۵). همچنین دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۴۰ ژنوتیپ انبه براساس عملکرد تولید روتین و کوئرستین ۵ گروه را به‌وجود آورد (شکل ۶). ۱۹ ژنوتیپ انبه قرار گرفته در زیرخوشه اول دارای روتین به مقدار ppm ۷۵/۶–۱۹/۲ بود و میزان کوئرستین آنها به میزان ppm ۳/۸–۰/۴ مشاهده شد.

زیرخوشه دوم اغلب دربرگیرنده ژنوتیپ‌های رویشگاه منوجان از استان کرمان بود. از تعداد ۹ ژنوتیپ انبه قرار گرفته در زیرخوشه سوم، ۷ ژنوتیپ مربوط به رویشگاه بوشهر بودند که از مقدار کوئرستین بالایی برخوردار بودند. زیرخوشه چهارم دربرگیرنده تنها یک ژنوتیپ انبه از رویشگاه بوشهر با عنوان بوشهر ۴ بود که بیشترین میزان کوئرستین (ppm ۱۸/۷) را در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشت. ژنوتیپ منوجان ۵ زیرخوشه پنجم را به‌طور مستقل تشکیل داده بود که بیشترین میزان روتین (ppm ۳۵۲/۱) را در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از آن خود کرده بود. در

پژوهشی که da Silva Sauthier و همکاران (۲۰۱۹) روی دو ترکیب روتین و کوئرستین روی هسته میوه و پوست درخت انبه در شرایط آب و هوایی کشور برزیل انجام دادند، دریافتند که حداکثر مقدار روتین (۱/۲۴ ppm ± ۱۷۰/۶۰) در پوست درخت انبه وجود دارد؛ این در حالیست که حداکثر مقدار کوئرستین (۰/۰۱ ppm ± ۱۱/۲۱) در هسته میوه انبه وجود داشت.

متابولیت‌های ثانویه ترکیب‌هایی هستند که از بیوسنتز متابولیت‌های اولیه در گیاهان تولید می‌شوند. نقش این ترکیب‌ها در محافظت از گیاه در برابر آفت‌ها و عوامل محیطی و زادآوری بسیار مهم و حیاتی است. میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی مانند فنول و فلاونوئیدها و خواص آنتی‌اکسیدانی آنها به عوامل مختلفی بستگی دارد. ازجمله این عوامل می‌توان دما، رطوبت، میزان نور، طول شب و روز، ارتفاع از سطح دریا، عرض جغرافیایی و عوامل نهفته در خاک مانند شوری، خشکی و همچنین عامل مهم ژنتیک را نام برد (Borges *et al*., 2017). در مطالعاتی که قبلاً در کشورهای شرقی آسیا که روی انبه انجام شده، وجود روتین یا گزارش نشده و یا مقدار آن بسیار اندک گزارش شده است (Pan *et al*., 2018b). با توجه به مسیر تولید این ترکیب‌ها، توقع داشتیم که کوئرستین به مقدار قابل توجهی در برگ انبه موجود باشد. با مشاهده ترکیب فلاونولی سنگین روتین می‌توان نتیجه گرفت که مسیر سنتز به سمت ساخته شدن کوئرستین پیش رفته و در ادامه به سنتز روتین منتج شده است (Sun *et al*., 2012). مقایسه مقادیر کوئرستین و روتین شاهد بر این مطلب است که بیشتر مقادیر کوئرستین در تولید روتین مصرف شده است. این موضوع بیانگر آن است که شرایط اقلیمی ایران، به‌ویژه در جمعیت منوجان سبب طی شدن مسیر تولید روتین از کوئرستین شده که علت این پدیده می‌تواند تأثیر ارتفاع و رطوبت در رویشگاه مربوطه باشد. همچنین با توجه به این موضوع که ژنوتیپ‌های کشت شده در باغ‌های ایران اغلب بومی و بی‌نام هستند، اثر ژنتیک قابل تأمل است.

به‌طور کلی نتایج این پژوهش بیانگر آن است که جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌های انبه موجود در مناطق جنوبی ایران دارای قابلیت مناسب برای تولید ترکیبات فلاونوئیدی روتین و کوئرستین هستند. به‌عبارت دیگر، این مطالعه یک مبنای شیمیایی برای توسعه و استفاده بیشتر از برگ‌های انبه که از نظر منابع غنی هستند، فراهم کرد. در نهایت، با توجه به تأثیر عوامل محیطی، شرایط جغرافیایی و وضعیت اکولوژی محل رویش بر کمّیت و کیفیت مواد مؤثر گیاهان مذکور، مطالعات دقیق و گسترده در مورد نقش عوامل ذکرشده و ارتباط آنها با رشد، عملکرد و کیفیت ژنوتیپ‌های مختلف ضروریست.

References

- Ayaz, M., Sadiq, A., Junaid, M., Ullah, F., Ovais, M., Ullah, I., Ahmed, J. and Shahid, M., 2019. Flavonoids as prospective neuroprotectants and their therapeutic propensity in aging associated neurological disorders. Frontiers in Aging Neuroscience, 11: 155.
- Bagheri, A., Hassanzadeh Khankahdani, H., Ghanbari, V., Askari Seyahooei, M. and Modarres Najafabadi, S.S., 2019. Genetic diversity among mango (*Mangifera indica* L.) genotypes in Hormozgan province using morphological and ISSR markers. Journal of Horticultural Science, 33(1): 141-154.
- Batool, N., Ilyas, N., Shabir, S., Saeed, M., Mazhar, R. and Amjid, M.W., 2018. A mini-review of therapeutic potential of *Mangifera indica* L. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 31(4): 1441-1448.
- Bhowmik, A., Khan, L.A., Akhter, M. and Rokeya, B., 2009. Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. Bangladesh Journal of Pharmacology, 4(2): 110-114.
- Borges, C.V., Minatel, I.O., Gomez-Gomez, H.A. and Lima, G.P.P., 2017. Medicinal Plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites: 259-277. In: Ghorbanpour, M. and Varma, A., (Eds.). Medicinal Plants and Environmental Challenges. Springer, 413p.
- Chen, G.L., Fan, M.X., Wu, J.L., Li, N. and Guo, M.Q., 2018. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from *Lotus plumule*. Food Chemistry, 277: 706-712.
- D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P. and Carputo, D., 2018. The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. Phytochemistry Reviews, 17: 611-625.
- da Silva Sauthier, M.C., da Silva, E.G.P., da Silva Santos, B.R., Silva, E.F.R., da Cruz Caldas, J.,

- Jaimand, K., Ahrabi Asli, H. and Behrad, Z., 2013. Extraction and determination of quercetin and kampferol in *Foeniculum vulgare* Mill. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(3): 681-691.
- Jia, J., Zang, E., Lv, L., Li, Q., Zhang, C., Xia, Y., Zhang, L., Dang, L. and Li, M., 2020. Flavonoids in myocardial ischemia-reperfusion injury: Therapeutic effects and mechanisms. Chinese Herbal Medicines, 13(1): 49-63.
- Jucá, M., Cysne Filho, F., de Almeida, J., Mesquita, D., Barriga, J., Dias, K., Barbosa, T., Vasconcelos, L., Leal, L., Ribeiro, J. and Vasconcelos, S., 2018. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. Natural Product Research, 35(4): 692-705.
- Kumar, M., Saurabh, V., Tomar, M., Hasan, M., Changan, S., Sasi, M. Maheshwari, C., Prajapatim, U., Singh, S., Prajapat, R.K., Dhumal, S., Punia, S., Amarowicz, R. and Mekhemar, M., 2021. Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves: nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. Antioxidants, 10(2): 299.
- Lauricella, M., Emanuele, S., Calvaruso, G., Giuliano, M. and D'Anneo, A., 2017. Multifaceted health benefits of *Mangifera indica* L. (Mango): The Inestimable value of orchards recently planted in Sicilian rural areas. Nutrients, 9(5): 525.
- Li, K., Zhang, R., Li, S., Liu, Y., Li, A., Liu, X., Du, G. and Qin, X., 2020a. Potential quality evaluation approach for the absolute growth years' wild and transplanted Astragali Radix based on anti-heart failure efficacy. Chinese Journal of Natural Medicines, 18(6): 460-471.
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M.R. and Wu, H., 2020b. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. Plant Physiology and Biochemistry, 148: 80-89.
- Lin, T., Luo, W., Li, Z., Zhang, L., Zheng, X., Mai, L., Yang, W., Guan, G., Su, Z., Liu, P., Li, Z. and Xie, Y., 2020. Rhamnocitrin extracted from *Nervilia fordii* inhibited vascular endothelial activation via miR-185/STIM-1/SOCE/NFATc3. Phytomedicine, 79: 153350.
- Maldonado-Celis, M.E., Yahia, E.M., Bedoya, R., Landázuri, P., Loango, N., Aguillón, J., Restrepo, B. and Guerrero Ospina, J.C., 2019. Chemical composition of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit: nutritional and phytochemical compounds. Frontiers in Plant Science. 10:1073.
- Masud Parvez, G.M., 2016. Pharmacological activities of mango (*Mangifera indica*): A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 5: 1-7.
- Mirfat, A.H.S., Salma, I. and Razali, M., 2016. Natural antioxidant properties of selected wild *Mangifera* Cavalcante Minho, L.A., dos Santos, A.M.P. and dos Santos, W.N.L., 2019. Screening of *Mangifera indica* L. functional content using PCA and neural networks (ANN). Food Chemistry, 273: 115-123.
- Daigle, D.J. and Conkerton, E.J., 1982. High-performance liquid chromatography of 34 selected flavonoids. Journal of Chromatography A, 240: 202-205.
- Di Pierro, F., Iqtadar, S., Khan, A., Mumtaz, S., Chaudhry, M., Bertuccioli, A., Derosa, G., Maffioli, P., Togni, S., Riva, A., Allegrini, P. and Khan, S., 2021. Potential clinical benefits of quercetin in the early stage of COVID-19: results of a second, pilot, randomized, controlled and open-label clinical trial. International Journal of General Medicine, 14: 2807-2816.
- Dias, M.C., Pinto, D.C.G.A. and Silva, A.M.S, 2021. Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. Molecules, 26(17): 5377.
- Ediriweera, M.K., Tennekoon, K.H. and Samarakoon, S.R., 2017. A Review on ethno-pharmacological applications, pharmacological activities, and bioactive compounds of *Mangifera indica* (Mango). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017: 6946835.
- EL-Banhawy, A., ElKordy, A., Farag, R., Elbar, O.A., Faried, A. and Ellamouni, F., 2021. Taxonomic significance of the leaf geometric and micrometric attributes in the discrimination of some cultivars of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Egyptian Journal of Botany, 61(1): 255-269.
- Esmaeilpour, M., Taheri Abkenar, K., Aalami, A. and Bonyad, A., 2014. The pattern of intrapopulational and interpopulational changes of *Betula pendula* in Iran, based on leaf morphological traits. Taxonomy and Biosystematics Journal, 18(6): 33-44.
- Fazeli-Nasab, B. and Fahmideh, L., 2020. Evaluation of antioxidant properties and phenolic compounds of different mango (*Mangifera indica* L.) southern Iran. Journal of Crop Science Research in Arid Regions, 2(1): 11-21.
- Gullón, B., Lú-Chau, T.A., Moreira, M.T., Lema, J.M. and Eibes, G., 2017. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. Trends in Food Science and Technology, 67: 220-235.
- Hussain, T., Tan, B., Murtaza, G., Liu, G., Rahu, N., Saleem Kalhoro, M., Hussain Kalhoro, D., Adebowale, T.O., Usman Mazhar, M., Rehman, Z., Martínez, Y., Akber Khan, S. and Yin, Y., 2020. Flavonoids and type 2 diabetes: Evidence of efficacy in clinical and animal studies and delivery strategies to enhance their therapeutic efficacy. Pharmacological Research, 152: 104629.

457-479. In: Watson, R.R. and Preedy, V.R., (Eds.). Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases. Academic Press, 604p.
- Quintana, S.E., Salas, S. and García-Zapateiro, L.A., 2021. Bioactive compounds of mango (*Mangifera indica*): a review of extraction technologies and chemical constituents. Journal of the Science of Food and Agriculture, 101(15): 6186-6192.
- Rauf, M., Yoon, H., Lee, S., Hyun, D., Lee, M., Oh, S. and Choi, Y., 2020. Evaluation of *Fagopyrum esculentum* Moench. germplasm based on agro-morphological traits and the rutin and quercetin content of seeds under spring cultivation. Genetic Resources and Crop Evolution, 67: 1385-1403.
- Saeed, M., Naveed, M., Arain, M.A., Arif, M., Abd El-hack, M.E., Alagawany, M., Siyal, F.A., Soomro, R.N. and Sun, C., 2017. Quercetin: Nutritional and beneficial effects in poultry. World's Poultry Science Journal, 73(2): 1-10.
- Sun, Z., Hou, S., Yang, W. and Han, Y., 2012. Exogenous application of salicylic acid enhanced the rutin accumulation and influenced the expression patterns of rutin biosynthesis related genes in *Fagopyrum tartaricum* Gaertn leaves. Plant Growth Regulation, 68(1): 9-15.
- Zendrini Rechenchoski, D., Fontana Agostinho, K., Carla Faccin-Galhardi, L., Alesandra Stinghen Garcia Lonni, A., Vinícius Honório da Silva, J., Goulart de Andrade, F., Pacheco Cunha, A., Maria Pontes Silva Ricardo, N., Nozawa, C. and Elisa Carvalho Linhares, R., 2020. Mangiferin: a promising natural xanthone from *Mangifera indica* for the control of acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 infection. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 28(4): 115304.

species in Malaysia. Journal of Tropical Agriculture and Food Science, 44(1): 63-72.
- Mirza, B., Croley, C.R., Ahmad, M., Pumarol, J., Das, N., Sethi, G. and Bishayee, A., 2021. Mango (*Mangifera indica* L.): a magnificent plant with cancer preventive and anticancer therapeutic potential. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 61(13): 2125-2151.
- Ngo, D.H., Ngo, D.N., Vo, T.T.N. and Vo, T.S., 2019. Mechanism of action of *Mangifera indica* leaves for anti-diabetic activity. Scientia Pharmaceutica, 87(2): 13.
- Oliveira, B.G., Costa, H.B., Ventura, J.A., Kondratyuk, T.P., Barroso, M.E.S. and Correia, R.M., 2016. Chemical profile of mango (*Mangifera indica* L.) using electrospray ionisation mass spectrometry (ESI-MS). Food Chemistry, 204: 37-45.
- Pan, J., Yi, X., Zhang, S., Cheng, J., Wang, Y., Liu, C. and He, X., 2018a. Bioactive phenolics from mango leaves (*Mangifera indica* L.). Industrial Crops and Products, 111: 400-406.
- Pan, J., Yi, X., Zhang, S., Cheng, J., Wang, Y., Liu, C. and Xiangjiu, H., 2018b. Bioactive phenolics from mango leaves (*Mangifera indica* L.). Industrial Crops and Products, 111: 400-406.
- Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R. and Lewandowski, W., 2021. Recent developments in effective antioxidants: the structure and antioxidant properties. Materials, 14(8): 1984.
- Patel, K. and Patel, D.K., 2019. Bioactive Food as dietary interventions for arthritis and related inflammatory diseases the beneficial role of rutin, a naturally occurring flavonoid in health promotion and disease prevention: A Systematic Review and Update:

Measurement of rutin and quercetin flavonoids in leaves of different *Mangifera indica* L. genotypes in southern Iran

A.A. Talafi[1], F. Abdolahi[2*] and A.R. Yavari[3]

1- M.Sc. of Department of Horticulture Science and Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticulture Science and Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozagan, Bandar Abbas, Iran, E-mail: farzin.abdollahi@yahoo.com; fabdollahi@hormozgan.ac.ir

3- Department of Horticulture Science and Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozagan, Bandar Abbas, Iran

Received: December 2021 Revised: March 2022 Accepted: April 2022

Abstract

Mangifera indica L. belongs to the Anacardiaceae family. The various organs of this plant, especially the leaves, contain valuable flavonoid compounds that are used in the treatment of diabetes. In the present study, to evaluate the amounts of rutin and quercetin in the leaves of different *M. indica* genotypes in the habitats of southern Iran, four major habitats including Manoojan and Roodan from Kerman province, Minab from Hormozgan province, and Bushehr port from Bushehr province were selected. From each habitat, 10 mature and healthy trees were selected and from each tree, three groups of leaf samples were taken from a height of two meters. Extraction of dried mango leaves was performed by methanol-acetic acid solvent and injected into HPLC for analysis. The amounts of rutin and quercetin in 40 samples of *M. indica* extracts were determined. Data were analyzed in a completely randomized design using SPSS statistical software and cluster analysis was performed by Ward method to group the populations and genotypes. There was a statistically significant difference (P <0.05) between the four *M. indica* populations in terms of both rutin and quercetin. The highest levels of rutin and quercetin were obtained in Manoujan (124.03 ppm) and Bushehr (6.05 ppm) populations, respectively. Cluster analysis divided the four populations into three independent groups: populations Rudan and Minab in group 1, Bushehr in group 2, and Manoujan in group 3. Evaluation of phytochemical diversity can provide valuable information in the management of *M. indica* germplasm and be useful in identifying suitable populations for different breeding purposes in this species.

Keywords: *Mangifera indica* L., flavonoid, rutin, quercetin, high-performance liquid chromatography (HPLC).