



بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و عملکرد ارقام و لاینهای داخلی و خارجی برنج کشت شده در مازندران

محمدتقی کربلایی آقاملکی^۱، هدی آبادیان^۱، محمدعلی ابراهیمزاده^۲، علی کربلایی آقاملکی^۲

۱- مؤسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران ۲- دانشگاه علوم پزشکی مازندران

* آدرس ایمیل نویسنده مسئول: abadianh@yahoo.com

چکیده

به منظور مطالعه ویژگیهای کمی و آنتی اکسیدانی ده لاین و رقم دانه رنگی با رقم محلی هاشمی، آزمایشی در قالب بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۶ در ایستگاه تحقیقاتی گلدشت (مؤسسه تحقیقات برنج کشور) اجرا شد. نتایج نشان داد که رقم فجر دارای تعداد پنجه بارور در بوته، تعداد دانه در خوشه و دانه پر بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپها بود، اما وزن هزار دانه پایین تری داشت. همچنین رقم فجر با ۶۵۸۳/۳ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه را به خود اختصاص داد. مقدار دو اسید فنولیک (فرولیک اسید و پارا کوماریک اسید) با کمک کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) تعیین مقدار گردید. عصاره حاصل از سبوس خام برنج KB13 با ۳۱۹/۸۳ میلی گرم اکوی والان گالیک اسید در گرم عصاره بالاترین مقدار فنل فلانویید تام را از خود نشان داد. که سبوس خام هاشمی بیشترین مقدار فرولیک اسید را با مقدار ۲۶/۲۱ میلی گرم بر گرم و سبوس خام KB13 بیشترین مقدار پارا-کوماریک اسید را با مقدار ۳/۶۶ میلی گرم بر گرم داشتند. نتایج حاصل از این بررسی به وضوح نشان داد که رقم های فجر، هاشمی و KB13 بطور قابل ملاحظه ای دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای تام فنلی و فلاونوییدی بالاتری نسبت به تمامی نمونه های خارجی مرور شده در این بررسی داشتند.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، ترکیبات فنلی، سبوس، برنج، عملکرد

مقدمه

ارقام پرمحصول برنج که دارای پتانسیل عملکرد بالاتری هستند، پاسخی مناسب به تقاضای روزافزون این محصول و راهکار مناسبی برای بهبود امنیت غذایی در کشورها می باشند. توده بومی معمولا دارای عملکرد پایینی هستند، اما به لحاظ کیفی بسیار مطلوب می باشند (اله قلی پور و همکاران، ۲۰۰۶). تحقیقات بسیاری، برتری توده های اصلاح شده برنج از نظر عملکرد و اجزای عملکرد نسبت به توده های بومی به اثبات رسانده است (ولدآبادی و همکاران، ۱۳۹۰). در همین زمینه نیک نژاد و همکاران (۱۳۸۶) با بررسی عملکرد و اجزای عملکرد چهار توده برنج (طارم، ندا، شفق و فجر)، گزارش کردند که توده اصلاح شده ندا به دلیل تعداد پنجه بارور و وزن هزار دانه بالاتر، بیشترین عملکرد دانه را داشت. در خصوص اهمیت برنج بعنوان یک منبع آنتی اکسیدان که عمدتا حاوی ترکیبات فنولی هستند بوسیله حضور یک حلقه آروماتیک حاوی گروه هیدروکسیل آزاد شناخته می شوند. این مولکولها تقریبا در تمام بخش های گیاه وجود دارند و در بسیاری از پروسه های فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، تشکیل ریشه، جوانه زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند (فاله و همکاران، ۲۰۱۲). علاوه بر این پلی فنولها فعالیت های بیولوژیکی متفاوتی مانند فعالیت ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهاب، ضد آلرژی و گشاد کننده عروق از خود نشان می دهند (فاله و



همکاران، ۲۰۱۲). ترکیبات فنولی را می توان به فنول های ساده، با یک حلقه ی آروماتیک که حداقل دارای یک گروه هیدروکسی روی آن است و ترکیبات پلی فنولی تقسیم نمود. معرف فولین سیو کالتیو واکنشگری است که بطور گسترده در سنجش ترکیبات فنولی که در عصاره ها وجود دارد بکار می رود. این روش بر مبنای قدرت احیا کنندگی گروه هیدروکسی فنولی بوده که با واکنشگر ترکیب شده و بخش رنگ سازی را تولید می کند که در ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین مقدار می گردد (تیان و همکاران، ۲۰۰۴). اسیدهای فنولیک از پوسته ی خارجی برنج تا بلندی جمع آوری شده از پنج نقطه ی کشور استخراج و فعالیت آنتی اکسیدانی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. فرولیک اسید ترکیب عمده در پوسته بود که به آهستگی در مراحل رشد کاهش می یافت. نسبت فرولیک به کوماریک اسید در تمامی مراحل، ۲ به ۱ بود (زاپا و همکاران، ۲۰۱۵). بدین منظور جهت بررسی عملکرد و خواص آنتی اکسیدانی ارقام و لاین های داخلی و خارجی برنج، آزمایشی در ایستگاه تحقیقاتی گلدشت انجام شد تا بهترین توده ها از نظر کمی و فعالیت آنتی اکسیدانی تعیین گردد.

مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۶ در ایستگاه تحقیقاتی گلدشت (مؤسسه تحقیقات برنج کشور معاونت - مازندران) انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در کرت هایی به ابعاد ۳×۴ متر اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل ده لاین و رقم دانه رنگی با رقم محلی هاشمی و اصلاح شده فجر از لحاظ عملکرد و اجزای عملکرد و جهت بررسی آنتی اکسیدانی از لاین KB13، رقم فجر و هاشمی استفاده شد. پس از آماده سازی زمین خزانه، بذرها ی ضد عفونی شده در آن پاشیده شد. در طول رشد نشاء در خزانه، زمین اصلی شخم تسطیح و ماله کشی صورت گرفت. کود نیتروژن به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع اوره و کودهای فسفر و پتاسیم به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات تریپل و سولفات پتاسیم برای توده بومی و اصلاح شده در هر کرت مصرف شد. تعداد پنجه بارور، تعداد دانه در خوشه، تعداد دانه پر، دانه پوک، وزن هزار دانه و عملکرد دانه محاسبه شدند. به طوری که ارتفاع بوته و تعداد پنجه بارور در بوته با اندازه گیری و شمارش ۵ بوته و تعداد دانه در خوشه، طول خوشه، دانه پر و پوک در خوشه و وزن هزار دانه با شمارش از روی ۱۰ خوشه در هر کرت تعیین شدند. ارزیابی عملکرد دانه با برداشت ۵ مترمربع از وسط هر کرت و با رطوبت ۱۴ درصد تعیین شد.

تعیین محتوای تام فنلی

محتوای تام فنلی با استفاده از واکنشگر فولین-سیو کالتیو اندازه گیری شد. ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی گرم / میلی لیتر) با ۰/۵ میلی لیتر محلول واکنشگر فولین-سیو کالتیو و ۰/۰۵ میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد کربنات سدیم مخلوط شده و سپس جذب آن در ۷۶۰ نانومتر پس از همزدن به مدت یک ساعت در مقابل شاهد قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد و محتوای تام فنلی بر اساس اکوی والان میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره تست شده گزارش شد (زاپا و همکاران، ۲۰۱۵). آزمایشات در سه تکرار و میانگین آنها گزارش شد.

تعیین مقدار اسید فرولیک و اسید کوماریک

با کمک HPLC ستون ۲۵۰ میلی متری، با قطر ۴/۶، و اندازه ذرات ۵ میکرونی، با کمک فاز متحرک اسید فسفوریک pH ۲/۵ (حلال A) و استونیتریل (حلال B) سرعت ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه و شستشوی گرادیانته تا دقیقه ۶۰ با دکتور UV در طول موج ۳۲۵ نانومتر عمل تعیین مقدار صورت پذیرفت (تیان و همکاران، ۲۰۰۴). البته در کنار اندازه گیری صفات ذکر شده، ارقام و لاینهای



برنج به لحاظ زراعی و کیفیت فیزیکی و راندمان بررسی شدند (بوتسات و سیریموپات، ۲۰۱۰). آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد ارزیابی شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مختلف برنج به لحاظ تعداد پنجه بارور، تعداد دانه در خوشه، دانه پر، وزن هزار دانه و عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشد). قابلیت پنجه‌زنی در رقم اصلاح شده بیشتر از ارقام دیگر بود، به طوری که بیشترین تعداد پنجه با میانگین ۲۴/۳۳ عدد پنجه بارور، متعلق به رقم فجر و کمترین تعداد و کمترین تعداد پنجه با ۴۱/۱۰ درصد کاهش، مربوط به دو لاین خارجی KR16 و KR20 با ۱۴/۳۳ عدد پنجه بود (جدول ۱). توده‌هایی با تعداد پنجه بارور بیشتر، از توانایی تولید عملکرد بالاتری برخوردار می‌باشند (ولدآبادی و همکاران، ۱۳۹۰).

بالاترین تعداد دانه در خوشه را رقم فجر (۱۴۸/۰۰ دانه در خوشه) به خود اختصاص داد که با ارقام KB7538 و KR13 اختلاف معنی‌داری نشان نداد اما با سایرین این اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱). با اینکه رقم فجر دارای بیشترین تعداد دانه در خوشه بود ولی به دلیل افزایش رقابت بین بذرها از یک طرف و کافی نبودن میزان فتوسنتز جاری و انتقال مجدد مواد به دانه‌ها، وزن هزار دانه کاهش یافت اما تعداد دانه پر بیشتری نسبت به ارقام دیگر داشت که در نهایت عملکرد بالاتری نسبت به ارقام دیگر نشان داد. وجود تفاوت معنی‌دار بین ارقام، نشان دهنده تفاوت‌های ژنتیکی ارقام از نظر داشتن تعداد دانه در خوشه می‌باشد، به طوری که ارقام اصلاح شده از توان تولید دانه در خوشه بیشتری برخوردار می‌باشند (پانتوان و همکاران، ۲۰۰۲؛ نیک‌نژاد، ۱۳۸۶). رقم فجر با میانگین ۱۴۸/۰۰ دانه پر در خوشه، بیشترین تعداد دانه پر در خوشه (۱۲۶/۳۳) را داشت. کمترین تعداد دانه پر در خوشه (۸۰/۳۳) نیز با ۳۶/۴۱ درصد اختلاف به لاین KR7548 اختصاص یافت (جدول ۱). تعداد دانه پر در خوشه یکی از اجزای مهم عملکرد دانه برنج محسوب می‌شود، این صفت در اکثر غلات با وزن هزار دانه همبستگی منفی نشان می‌دهد که دلیل آن کاهش اختصاص مواد فتوسنتزی به هر یک از دانه‌ها به دلیل رقابت بین دانه‌های موجود در یک خوشه برای جذب این مواد است (اله‌قلی - پور و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین بیشترین وزن هزار دانه با میانگین ۲۳/۷۶ گرم متعلق به لاین KR16 بود، در حالی که با لاین KR13 با میانگین ۲۳/۶۷ گرم در یک گروه آماری قرار گرفت اما رقم فجر با ۱۴/۴۳ درصد کاهش نسبت به لاین KR16 کمترین وزن هزار دانه را داشت. عملکرد دانه نیز تحت تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف برنج قرار گرفت به طوری که حداکثر عملکرد دانه (۶۵۸۳/۳ کیلوگرم در هکتار) بر اساس جدول مقایسه میانگین جدول (۱) به رقم فجر و کمترین میزان (۳۰۱۶/۷ کیلوگرم در هکتار) به KR16 که با لاین‌های KR19، KR20، و KB13 اختلاف معنی‌داری نشان نداد. لاین KR16 مورد استفاده در این آزمایش، به دلیل کاهش جزء عملکردی تعداد دانه پر در خوشه، دارای عملکرد پایین‌تری نسبت به سایر ارقام بود. در این تحقیق، رقم فجر به علت داشتن تعداد پنجه‌های بارور بیشتر و تعداد دانه پر بالاتر، عملکرد دانه بالاتری نسبت به سایر ارقام داشت.



جدول ۱- مقایسه میانگین صفات زراعی اندازه گیری شده ارقام مورد بررسی برنج

ارقام برنج	تعداد پنجه بارور	تعداد دانه در خوشه	تعداد دانه پر	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
KR7548	۱۴/۶۷ ^c	۹۹/۳۳ ^e	۸۰/۳۳ ^c	۲۲/۷۰ ^b	۳۳۸۳/۳ ^{cd}
KR19	۱۵/۳۳ ^c	۱۰۹/۳۳ ^{ed}	۸۵/۳۳ ^c	۲۰/۹۷ ^{de}	۳۱۳۳/۳ ^{ef}
KR20	۱۴/۳۳ ^c	۱۲۶/۶۷ ^b	۱۰۲/۳۳ ^b	۲۰/۵۷ ^{ef}	۳۰۸۳/۳ ^{ef}
KR16	۱۴/۳۳ ^c	۱۰۶/۶۷ ^e	۸۷/۰۰ ^c	۲۳/۷۶ ^a	۳۰۱۶/۷ ^f
KR23	۱۶/۰۰ ^c	۱۱۰/۳۳ ^{cde}	۸۵/۳۳ ^c	۲۱/۷۰ ^c	۳۳۶۶/۷ ^{cd}
KR13	۲۱/۳۳ ^b	۱۳۳/۰۰ ^{ab}	۱۰۴/۰۰ ^b	۲۳/۶۷ ^a	۴۷۱۶/۷ ^b
KB13	۱۵/۳۳ ^c	۱۲۴/۰۰ ^{bcd}	۱۰۴/۰۰ ^b	۲۱/۵۶ ^d	۳۲۸۳/۳ ^{def}
KB7538	۱۵/۰۰ ^c	۱۳۹/۰۰ ^{ab}	۱۰۹/۰۰ ^b	۲۲/۲۳ ^{bc}	۳۳۱۶/۷ ^{de}
هاشمی	۱۵/۳۳ ^c	۱۲۶/۳۳ ^{bc}	۱۰۶/۰۰ ^b	۲۳/۶۳ ^a	۳۶۱۶/۷ ^c
فجر	۲۴/۳۳ ^a	۱۴۸/۰۰ ^a	۱۲۶/۳۳ ^a	۲۰/۲۳ ^f	۶۵۸۳/۳ ^a

در هرستون حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی دار به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشد

در بین ژنوتیپ‌ها، بیشترین مقدار فنول (۳۱۹/۸۳ میلی گرم بر گرم) به سبوس برنج KB13 و کمترین مقدار (۱۰۸/۱۹ میلی گرم بر گرم) به سبوس نرم هاشمی اختصاص یافت (جدول ۲). در تحقیقی که لاکولدیلوک و همکاران (۲۰۱۱) بر رقم برنج (سفید دانه بلند کالیفرنایی، آروماتیک قرمز، سیاه ژاپونیکا و سیاه هنگ کنگی) انجام دادند مقدار فنول برنج معمولی ۲۱۰/۱، برنج قرمز و سیاه آروماتیک ۱۵۲/۶ و ۳۲۸/۹ و برنج سیاه هنگ کنگی ۳۱۸/۳ میلی گرم بر گرم گزارش کردند. در این تحقیق نیز بیشترین مقدار پارا-کوماریک اسید (۳/۶۶ میلی گرم بر گرم) به سبوس خام KB13 و بالاترین مقدار فرولیک اسید (۲۶/۲۱ میلی گرم بر گرم) به سبوس خام هاشمی اختصاص یافت (جدول ۳).

بر اساس گزارشی از کالیفرنیا آمریکا مقدار پارا-کوماریک اسید ۴/۲۰ میلی گرم بر گرم را برای برنج سفید و ۲/۷۷ میلی گرم بر گرم را برای برنج قرمز و ۲/۳۰ میلی گرم بر گرم را برای برنج سیاه گزارش کردند. همچنین مقدار ۱۳/۱۴ را برای برنج سفید و ۱۱/۱۵ را برای برنج قرمز و ۱۶/۶۳ میلی گرم بر گرم فرولیک اسید را برای برنج سیاه گزارش کردند (لوکولدیلاک و همکاران، ۲۰۱۱).

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در برنج و سبوس برنج در رقم KB13 مشاهده شد. همانند مطالعات انجام شده در خارج از کشور سبوس‌ها به طور کل محتوای تام فنلی بیشتری نسبت به برنج سفید داشتند و باید به سبوس برنج نه به عنوان ضایعات برنج که به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات سودمند نگاه کرد. همچنین برنج‌های رنگدانه دار نسبت به برنج‌های بدون رنگدانه که در حال حاضر عموماً مصرف می‌شوند دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری بوده و عملاً قابلیت جایگزینی این نوع برنج را دارد و از طرفی به علت وجود مواد فنولی و فلاونوئیدی چند برابری نسبت به دیگر ارقام برنج قابلیت استفاده در مطالعات و تحقیقات دارویی دارد.



جدول ۲- محتوای تام فنولی موجود در عصاره های متانولی

عصاره	معادل میلی گرم اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره
سیوس خام فجر	$253/88 \pm 13/3$
سیوس خام هاشمی	$276/72 \pm 10/8$
سیوس خام KB13	$319/83 \pm 15/2$
سیوس نرم فجر	$124/57 \pm 8/6$
سیوس نرم هاشمی	$108/19 \pm 11/9$
سیوس نرم KB13	$141/81 \pm 10/2$
برنج سفید فجر	$150/00 \pm 12/0$
برنج سفید هاشمی	$116/38 \pm 7/1$
برنج سفید KB13	$174/14 \pm 16/6$
برنج قهوه ای فجر	$132/76 \pm 9/4$
برنج قهوه ای هاشمی	$116/38 \pm 8/7$
برنج قهوه ای KB13	$166/81 \pm 14/2$

جدول ۳- میزان فرولیک اسید و پارا-کوماریک اسید در عصاره های برنج

عصاره	مقدار فرولیک اسید (میلی گرم بر گرم)	مقدار پارا-کوماریک اسید (میلی گرم بر گرم)
سیوس خام فجر	۲/۲۸	۲/۵۷
سیوس خام هاشمی	۲۶/۶۲	۱/۱۰
سیوس خام KB13	۲/۶۲	۳/۶۶
سیوس نرم فجر	۰/۸۲	۰/۳۰
سیوس نرم هاشمی	۰/۱۹	۰/۱۹
سیوس نرم KB13	۰/۷۳	۰/۲۳
برنج سفید فجر	۰/۲۳	۰/۰۸
برنج سفید هاشمی	۰/۸۱	۰/۵۵
برنج سفید KB13	۰/۱۴	۰/۲۱
برنج قهوه ای فجر	۰/۱۴	۰/۴۳
برنج قهوه ای هاشمی	۰/۴۸	۰/۱۸
برنج قهوه ای KB13	۰/۴۴	۰/۳۸

منابع

- نیک نژاد، ی.، ضرغامی، ر.، نصیری، م.، پیردشتی، ه. ۱۳۸۶. اثر محدودیت مبداء و مخزن بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه چند رقم برنج. مجله نهال و بذر. ۱۱۳-۱۲۱: (۱)۲۳.
- ولدآبادی، س.ع.، بشرخواه، م.، دانشیان، ج.، عرفانی، ع. ۱۳۹۰. تأثیر زمان کاشت بر وزن خشک و ویژگی های فیزیولوژیک ارقام برنج در کشت مستقیم. مجله اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۶۸-۸۱: (۱)۳.



- Allahgholipour, M., A. J. Ali, F. Alinia, T. Nagamine and Y. Kojima. 2006. Relationship between rice grain amylose and pasting properties for breeding better quality rice varieties. *Plant Breed.* 125: 357-362.
- Butsat S, Siriamornpun S. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chem.* 119(2):606–613.
- Tian S, Nakamura K, Kayahara H. 2004. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. *Agriculture Food Chem.* 52(15):4808–4813
- Falleh H, Ksouri R, Lucchessi ME, Abdely C, Magné C. Ultrasound-assisted extraction: effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of (*Mesembryanthemum edule* L.) Aizoaceae shoots, *Trop J Pharm Res*, 2012, 11(2), 243-249.
- Laokuldilok T, Shoemaker C. F, Jongkaewwattana S, and Tulyathan V. Antioxidants and Antioxidant Activity of Several Pigmented Rice Brans. *J. Agric. Food Chem*; 2011, 59, 193–199.
- Pantuwan, G., S. Fukai, M. Cooper, S. Rajatasereekul and J. C. O. Toole. 2002. Yield response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to different types of drought under rainfed lowlands: part 1. Grain yield and yield components. *Field Crops Res.* 73: 153-168.
- Zaupa M, Calani L, Del Rio D, Brighenti F, Pellegrini N. 2015. Characterization of total antioxidant capacity and (poly) phenolic compounds of differently pigmented rice varieties and their changes during domestic cooking. *Food Chem.* 187: 338–347.

Evaluation of antioxidant activities and yield of internal and external cultivars and lines of rice (*Oryza sativa* L.) in Mazandaran

In order to study the quantitative and antioxidant properties of ten lines and colored seeds with Hashemi local cultivar, a randomized complete block design with three replications was conducted at Goldsht Research Station (Rice Research Institute of Iran) in 2012. The results showed that Fajr cultivar had a higher number of fertile tillers per plant, number of grain per panicle and seed grain than other genotypes, but had lower 1000-gram weight. Also, Fajr cultivar had the highest grain yield with 6583.3 kg ha⁻¹. The amount of two phenolic acids (ferrolic acid and para-comaric acid) was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The extracts from rice bran of KB13 with 319.33 mg aciclovir gallic acid per gram of extract exhibited the highest total phenol flavonoid content. The highest ferrolic acid and para-comaric acid with 26/21 and 3/66 mg/g belonged to raw bran Hashemi and KB13, respectively. The results of this study showed that Fajr, Hashemi and KB13 had significant antioxidant activity and higher total phenolic and flavonoid content than all external samples reviewed in this study.

Key words: Antioxidants, Phenolic compounds, Bran, Rice, Yield