

بررسی تنوع ژنوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی *Camellia sinensis* L. با استفاده از خصوصیات اکوفیتوشیمیایی در رویشگاه‌های مختلف استان گیلان

سمیرا منتهای درگاه^۱، محمدباقر رضایی^{۲*}، مرضیه قنبری جهرمی^۳، سپیده کلاته جاری^۳، شاهین جهانگیرزاده خیای^۴

^۱دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲استاد موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران، تهران، ایران

^۳استادیار، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۴استادیار، پژوهشکده چای، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/۲/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۵/۲۳

چکیده

گیاه چای (*Camellia sinensis* L.) یک گیاه چوبی و دارویی چندساله متعلق به تیره چای می‌باشد. در این تحقیق تنوع تعداد سی اکوتیپ از گیاه چای از رویشگاه‌های: لنگرود، لاهیجان و سیاهکل (هر منطقه ده اکوتیپ) به عنوان سه منطقه عمده چایکاری در ایران در سال ۱۳۹۸ مورد آزمایش قرار گرفتند. صفاتی مثل وزن تر و خشک، میزان کلروفیل a، b و کل، میزان کافئین، پلی‌فنول، درصد خاکستر کل و خاکستر محلول و نامحلول در آب اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین اکوتیپ‌های چای برای همه صفات نشان داد. مقایسه میانگین اکوتیپ‌ها نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک و تر برگ را اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۱) به خود اختصاص داد. اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۳) بالاترین درصد کافئین (۷/۶۳ درصد) و اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) پایین‌ترین درصد کافئین را به خود اختصاص دادند. بیشترین میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۸) و بیشترین میزان کلروفیل b در اکوتیپ لاهیجان (کد ۳۰) مشاهده شد. بیشترین درصد پلی‌فنول (۹/۴۵ درصد) در اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۶) و کمترین درصد پلی‌فنول (۳/۱ درصد) در اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) بدست آمد. بیشترین درصد خاکستر کل، خاکستر محلول و غیرمحلول در آب را هم به ترتیب اکوتیپ‌های سیاهکل (کد ۱۸)، سیاهکل (کد ۱۲) و لاهیجان (کد ۲۱) نشان دادند. به طور کلی اکوتیپ‌های مربوط به منطقه سیاهکل (کدهای ۱۱، ۱۳، ۱۶ و ۱۸) می‌توانند در برنامه‌ریزی پروژه‌های اصلاحی و تصمیم‌گیری برای انتخاب والدین مناسب در دورگه‌گیری برای افزایش عملکرد چای و افزایش صفات فیتوشیمیایی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: تنوع اکوفیتوشیمیایی، چای، ژنوتیپ، گیلان.

است تا بهترین نتایج از برنامه‌های بهبود محصول بدست آید. ترکیبات شیمیایی مختلفی از جمله پلی‌فنول‌ها (کاتچین‌ها)، اسیدهای آمینه، کافئین و عصاره آبی (شامل مواد غیرآلی، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و غیره) در برگ چای یافت می‌گردند که تاثیرات مهمی بر کیفیت چای خشک تولید شده دارند (Li et al., 2020; Samadi and Fard, 2020).

ترکیبات برگ چای شامل فلاونول‌ها، فلاوانول‌ها، اسیدهای فنولیک، کافئین، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، مونوپلی ساکاریدها، لیگنین، رنگدانه‌های فتوستتزی، خاکستر و مواد معطر می‌باشد. پلی‌فنول‌ها از مهم‌ترین ترکیبات معطر چای است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی زیاد و برای سلامت انسان مفید است (Kottawa-Arachchi et al., 2019). پلی‌فنول‌های موجود در چای شامل فلاوانول‌ها، هیدروکسی-۴-فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها، فلاوانول‌ها و اسیدهای آلی است. در این میان، کاتچین‌ها از مهم‌ترین ترکیبات چای است که ۶۰ تا ۸۰ درصد پلی‌فنول‌ها را تشکیل می‌دهد. مقدار پلی‌فنول‌های چایی بسته به موقعیت جغرافیایی متفاوت است. از مهم‌ترین ترکیبات بیوشیمیایی چای جهت بررسی کیفیت آن کاتچین و کافئین موجود در برگ‌های تازه می‌باشد. پلی‌فنول‌های موجود در چای سبب افزایش خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاه و تقویت خصوصیات دارویی این گیاه شده است. چای دارای خصوصیات دارویی مهمی مانند محافظ قلب و عروق، ضد سرطان، ضد دیابت، ضد چاقی و محافظ عصبی است (Pan et al., 2017; Tang et al., 2019). رنگیزه‌های فتوستتزی برگ چایی از ترکیبات بیوشیمیایی مهم می‌باشد که دارای ارتباطی قوی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و کیفیت این گیاه دارویی است. وی و همکاران (Wei et al., 2011) در پژوهشی نشان دادند که با افزایش توسعه برگی،

گیاه دارویی چای با نام علمی (*Camellia sinensis* L.) از تیره چای یک گیاه همیشه سبز، چندین ساله و دگرگرده افشان (Mondal et al. 2004; Selvan et al., 2018)، گونه‌ای درختی است که برگ‌های جوان آن در طی فرآیندی تبدیل به یکی از قدیمی‌ترین گیاهان نوشابه‌ای غیر الکلی حاوی کافئین در دنیا به نام چای می‌گردد. این نوشیدنی از ۳۰۰۰ سال پیش به عنوان یک نوشیدنی سالم و مقبول به‌عنوان جزئی از زندگی بشر پذیرفته شده است (Santhan and Senthilvelan, 2007; Li et al., 2020). اعتقاد بر این است که گیاه چای از استان یوننان^۱ در جنوب غربی چین سرچشمه گرفته است (Zheng et al., 2015; Chen et al., 2005). گیاه چای در ایران یک گیاه وارداتی می‌باشد و اساس و پایه ژنتیکی چای تحت کشت در ایران از سه وارپته بذری با نام‌های *Betjan*, *Dhonjan* و *Rajghur* می‌باشد (Ahmadiyshad et al., 2009). با این وجود بر اساس منابع به علت‌های خود ناسازگاری، آلوگامی و انتخاب مصنوعی گیاه چای ناهمگونی بالا و تنوع ژنتیکی گسترده‌ای دارد (Kottawa-Arachchi et al., 2019). وجود این تنوع، مخزن ژنتیک مطلوبی را برای بررسی و شناسایی ژنوتیپ‌های برتر از نظر مواد موثره موجود در برگ سبز مهیا می‌کند که در حال حاضر یکی از با ارزش‌ترین و اساسی‌ترین مواد با پتانسیل بالایی برای برنامه‌های اصلاحی و بیوتکنولوژی برای کل صنعت چای در آینده است. استفاده عقلانی از ژرم پلاسما موجود در برنامه‌های اصلاح نژاد تا حد زیادی به دانش و درک خصوصیات مربوطه و تنوع ژنتیکی این مجموعه بستگی دارد. بنابراین، درک بهترین تنوع مورفولوژیکی و اکوبیوشیمیایی در بین نمونه‌های ژرم پلاسما مهم

1. Yunnan

محتوای کلروفیل a افزایش یافت که همراه با افزایش اپی کاتچین و اپی-گالوکاتچین گات و کاهش کاتچین بود.

تاکنون تحقیقات مختلفی روی ترکیبات بیوشیمیایی چای در دنیا انجام شده است. در مطالعه کاتاوا-آرچی و همکاران (Kottawa-Arachchi et al., 2012) مواد بیوشیمیایی برای شناسایی ژرم پلاسما چای سریلانکا بکار برده شده است. در تجزیه به مولفه‌های اصلی سه شاخصه اول ۸۷ درصد تفاوت‌ها را سبب شده اند و چهار صفت سرعت تخمیر، پلی فنول کل، کاتچین کل و رنگدانه‌های برگ سبز به عنوان شاخصه‌های مهم معرفی شده‌اند. چن و ژو (Chen and Zhou, 2005) تفاوت ترکیبات کیفی اصلی در ژرم پلاسما چای موجود در چین را بررسی نموده‌اند و گزارش کردند که محتوای پلی فنول بر اساس وزن خشک از ۱۳/۶ تا ۴۷/۸ درصد با متوسط ۲۸/۴ درصد؛ میزان کاتچین از ۸۱/۹g/kg تا ۲۶۲/۷ با متوسط ۱۴۴/۶g/kg است. لی و همکاران (Li et al., 2020) در تحقیقی نشان دادند که اکوتیپ‌های مختلف چای سیاه حاوی مقادیر بیشتری از کاتچین و اسیدهای فنولی نسبت به اکوتیپ‌های چای سبز بودند، اما مقدار قندهای آزاد و اسیدهای آمینه در چای سبز بیشتر از چای سیاه بود. در تحقیقی دیگر تانگ و همکاران (Tang et al., 2019) خصوصیات آنتی‌اکسیدانی قوی چای در ۳۰ اکوتیپ چای در چین بررسی شد و نتایج نشان داد که اکوتیپ‌ها دارای مقادیر مختلفی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانی هستند ولی در کل مقدار آن در تمامی اکوتیپ‌ها قابل توجه بوده است. فرآیند تولید باعث می‌شود برگ‌های سبز و تازه گیاه چای به چای‌های ساخته شده تجاری مختلفی از جمله چای سبز (بدون تخمیر)، چای اولانگ (نیمه تخمیر) و چای سیاه (چای تخمیر) تبدیل شود. فرآیند تولید در هر نوع چای تأثیر قابل توجهی در مسیرهای واکنش سازنده و تخریب کننده

دارد، بنابراین بر رنگ، عطر و طعم و عطر محصول نهایی تأثیر می‌گذارد. از اینسو اطلاع از وضعیت مواد اکوفیتوشیمیایی موجود در برگ سبز استحصالی می‌تواند بر انتخاب مسیر چای‌سازی و کیفیت چای بدست آمده اثر گذاشته و منجر به تولید محصول تجاری مطلوب گردد. در این بررسی هدف اصلی مقایسه نمونه‌های مختلف برگ سبز چای از نظر محتوای مواد شیمیایی و تشخیص رابطه آنها با موقعیت جغرافیایی آنها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و طرح آزمایشی: در این تحقیق تعداد ۳۰ ژنوتیپ گیاه دارویی چای از مناطق لنگرود، لاهیجان و سیاهکل به‌عنوان سه منطقه عمده چایکاری در ایران به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی مورد آزمایش قرار گرفتند. از هر منطقه مورد بررسی تعداد ۱۰ ژنوتیپ در ۳ تکرار در زمان اولین برداشت برگ سبز (اردیبهشت ماه ۱۳۹۷) چای که جوانه‌ها به بلوغ رسیده‌اند، جمع‌آوری شده و جهت بررسی به آزمایشگاه‌های پژوهشکده چای واقع در لاهیجان انتقال داده شدند. جدول ۱ ویژگی‌های اقلیمی و خاک سه منطقه مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

برای بررسی تنوع بین نمونه‌های چای از طریق ترکیبات بیوشیمیایی موجود در برگ سبز چای شاخصه‌های زیر مورد بررسی قرار گرفتند.

وزن تر و وزن خشک: نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و تعداد ۱۰ سرشاخه حاوی یک غنچه و سه برگ در سه تکرار (در مجموع ۳۰ سر شاخه) در ابتدا توزین شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. مجدداً این نمونه‌های خشک شده توزین شده و میزان وزن خشک محاسبه گردید.

جدول ۱: ویژگی‌های اقلیمی و خاک لاهیجان، لنگرود و سیاهکل

ویژگی	لاهیجان	لنگرود	سیاهکل
موقعیت جغرافیایی	۳۷ درجه و ۱۲ دقیقه شمالی	۳۷ درجه و ۹ دقیقه شمالی	۳۷ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی
ارتفاع از سطح دریا	۴ متر	۱۳ متر	۴۲ متر
میانگین بارندگی سالانه	۱۴۹۷ میلی‌متر	۱۵۸۳ میلی‌متر	۱۵۳۳ میلی‌متر
میانگین حداکثر سالانه دما	۲۴/۹ درجه سانتی‌گراد	۲۴/۳ درجه سانتی‌گراد	۲۳/۷ درجه سانتی‌گراد
میانگین حداقل سالانه دما	۷/۶ درجه سانتی‌گراد	۷/۱ درجه سانتی‌گراد	۶/۲ درجه سانتی‌گراد
pH خاک	۳/۸۷	۴/۵۶	۵/۸۹
EC (دسی‌زیمنس بر متر)	۰/۳۷	۰/۹۸	۰/۸۲
کربن آلی (درصد)	۱/۶۸	۱/۵۱	۴/۵۶

اندازه‌گیری کافئین: جهت استخراج از روش مشخص شده بر اساس استخراج کافئین از ۰/۵ گرم نمونه سانیده شده با ۵۰ ml کلروفرم ۴ بار (هر بار ۱۲/۵ ml) در حضور ۲/۵ ml محلول آمونیوم (۴۲ درصد) و در ادامه فیلتراسیون استفاده شد. پس از تهیه عصاره میزان کافئین توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۷۶ nm مقدار کافئین مطابق منحنی استاندارد کافئین به دست آمد (Lakin, 1989).

اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کل: به میزان ۲ گرم نمونه خشک شده و آسیاب شده توزین شد و به آن ۵۰ ml استون (۸۰ درصد) اضافه شد، پس از ۲ دقیقه میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳ nm و ۶۴۵ nm بدست آمد. میزان کلروفیل‌ها بر اساس فرمول (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) محاسبه شد.

اندازه‌گیری پلی‌فنول: اندازه‌گیری پلی‌فنول به وسیله روش‌هایی که از Folin-Ciocalteu به عنوان معرف و اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده می‌نمایند صورت گرفت و به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. ۲ گرم از نمونه به همراه ۸ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد هموزن شده و در سانتی‌فیوژ $g \times 12000$ به مدت ۲۰ دقیقه سانتی‌فیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از رو

شناور با استفاده از سمپلر برداشته و درون فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر فولین - سیوکالتو به محتوی فالكون اضافه شد و پس از ۲ دقیقه، یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط واکنش اضافه شد و حجم نهایی با استفاده از آب مقطر به ۶ میلی‌لیتر رسانده شد. فالكون‌ها به مدت ۹۰ دقیقه درون حمام بن ماری ۳۰ درجه سانتی‌گراد (شرایط تاریکی) قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها نیز در اسپکتروفتومتر طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. این روش برای کلیه محلول‌های استاندارد اسید گالیک و رسم منحنی کالیبراسیون استاندارد به کار برده شد (Ouchikh, 2011).

اندازه‌گیری خاکستر کل: خاکستر کل با از بین بردن ماده آلی ۲g نمونه خشک شده چای با قرار دادن در کوره الکتریکی با دمای 525 ± 25 درجه سانتی‌گراد بدست آمد (ISO, 1987)

اندازه‌گیری خاکستر محلول و غیر محلول در آب: روش استخراج خاکستر کل شامل استخراج با استفاده از آب داغ، فیلتراسیون از طریق کاغذ صافی بدون خاکستری، احتراق، وزن کردن باقی مانده برای تعیین خاکستر نامحلول و محاسبه خاکستر محلول با بدست آوردن اختلاف است (ISO, 1988)

تجزیه و تحلیل آماری

PAST طراحی شد.

نتایج به دست آمده با استفاده از تحلیل واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه‌ها توسط نرم‌افزار SAS صورت پذیرفت. اختلاف میانگین مقادیر هر پارامتر بیوشیمیایی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد. سطح معنی‌داری $p=0/05$ بود. آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای تعیین عوامل اصلی کمک در ارتباط با گروه بندی نمونه‌ها بر اساس ترکیبات بیوشیمیایی انجام شد و بر اساس داده‌ها یک دندروگرام توسط نرم‌افزار

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی و اکوفیتوشیمیایی مربوط به اکوتیپ‌های چای جمع‌آوری شده از سه منطقه لنگرود، سیاهکل و لاهیجان در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه همه‌ی صفات مورفولوژیکی و اکوفیتوشیمیایی مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری داشتند.

جدول ۲: تجزیه واریانس برخی صفات مورفولوژیکی و اکوفیتوشیمیایی اکوتیپ‌های چای

میانگین مربعات						وزن خشک		وزن تر	درجه آزادی	منابع تغییرات
کلروفیل	کلروفیل a	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل	درصد کافئین	به تر	خشک			
b به کل	به کل	b	b	a						
۰/۰۱۲**	۰/۰۱۵**	۷۹/۰۷**	۰/۱۴۵**	۱/۲۶**	۲/۹**	۰/۰۰۱۲**	۱/۲۶**	۱۸/۳۳**	۲۹	اکوتیپ
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۲۸۵/۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۶	۰/۰۰۲۷	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۴۷	۰/۰۹۴	۶۰	خطا
۱۰/۶۴	۶/۵۳	۱۸/۷۸	۱۰/۳۱	۶/۷۲	۲/۹۱	۸/۶۷	۹/۱۹	۳/۴	-	ضریب تغییرات

ns، * و **، به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۳: تجزیه واریانس برخی صفات مورفولوژیکی و اکوفیتوشیمیایی اکوتیپ‌های چای

میانگین مربعات						درصد خاکستر		پلی فنول	کلروفیل	درجه آزادی	منابع تغییرات
خاکستر محلول	درصد خاکستر	خاکستر نامحلول	خاکستر محلول در آب	خاکستر محلول در آب	درصد خاکستر کل	خاکستر کل		کل			
به نامحلول	درصد	در آب	در آب	در آب							
۱/۳۴**	۳۸۰/۲۷**	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۵**	۳۸۰/۲۷**	۰/۵۸**	۰/۰۰۰۲**	۷/۱۳**	۱/۶۶**	۲۹	اکوتیپ	
۰/۵۶	۵۶/۷۹	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۰۸	۵۸/۷۹	۰/۰۱۱	۰/۰۰۰۰۰۴	۰/۰۴۱	۰/۰۱۴	۶۰	خطا	
۹/۶	۱۳/۴۲	۱۳/۲۶	۱۷/۵۹	۱۷/۱۷	۱/۸۱	۱/۷۴	۳/۸۱	۴/۲۶	-	ضریب تغییرات	

ns، * و **، به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می‌باشند.

(کد ۱) و کمترین نسبت وزن تر به خشک (۰/۲۲۳) در اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۶) بدست آمد (جدول ۴). بیشترین درصد کافئین (۷/۶۳ درصد) مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۳) و کمترین درصد کافئین (۴/۱۸ درصد) مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) می‌باشد (جدول ۴).

نتایج مقایسه میانگین برخی صفات مورفولوژیکی و اکوفیتوشیمیایی نشان داد که بیشترین میزان وزن تر (۱۴/۳۳ گرم) و وزن خشک (۳/۸۳ گرم) مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۱) و کمترین میزان وزن تر (۵/۱۱ گرم) و وزن خشک (۱/۲۳ گرم) مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) است (جدول ۴). بیشترین نسبت وزن خشک به تر (۰/۳۰۳) در اکوتیپ لنگرود

جدول ۴: مقایسه میانگین برخی صفات مورفولوژیک و اکوفیتوشیمیایی اکوتیپ‌های چای

اکوتیپ	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	نسبت وزن خشک به تر	کافئین (درصد)	صفات		نسبت اکوتیپ کلروفیل b به کل	نسبت اکوتیپ کلروفیل a به کل
					کلروفیل a (میلی‌گرم بر لیتر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر لیتر)		
لنگرود ۱	۸/۶۳ ^{ij}	۲/۶ ^{fgh}	۰/۳۰۳ ^a	۵/۰۹ ⁿ	۲/۳۹ ^{ghi}	۰/۱۶ ^{jk}	۱۴/۳۵ ^b	۰/۹۳۳ ^{abc}
لنگرود ۲	۷/۵۶ ^k	۲/۲۱ ^{hijkl}	۰/۲۹۳ ^{abc}	۴/۷۸ ^o	۲/۲۰ ^{hij}	۰/۱۵ ^{jk}	۱۴/۰۹ ^b	۰/۹۲ ^{abcd}
لنگرود ۳	۶/۷۵ ^m	۱/۹ ^{klmn}	۰/۲۸۰ ^{bcdefg}	۴/۶۸ ^{op}	۱/۹۳ ^{ijk}	۰/۱۳۳ ^{ijkl}	۱۴/۶۱ ^b	۰/۸۹ ^{bcdefg}
لنگرود ۴	۹/۴۱ ^h	۲/۷۲ ^{efg}	۰/۲۸۶ ^{abcde}	۵/۳۸ ^{lm}	۲/۴۸ ^{fgh}	۰/۱۸ ^j	۱۳/۸۱ ^b	۰/۹۶۰ ^{ab}
لنگرود ۵	۶/۴۳ ^{mn}	۱/۸۲ ^{lmno}	۰/۲۸۳ ^{abcdef}	۴/۶۱ ^{opq}	۱/۸۰ ^{kl}	۰/۱۲۳ ^{ijkl}	۱۴/۸۶ ^b	۰/۹۱۰ ^{abcdef}
لنگرود ۶	۶/۳۸ ^{mn}	۱/۸۳ ^{klmno}	۰/۲۹۰ ^{abcd}	۴/۵۸ ^{opq}	۱/۸۱ ^{kl}	۰/۱۱۳ ^{ijkl}	۱۶/۹۸ ^b	۰/۹۱۳ ^{abcde}
لنگرود ۷	۵/۸۲ ^o	۱/۴۵ ^{op}	۰/۲۵۰ ^{cdefghi}	۴/۳۷ ^{qr}	۱/۵۲ ^m	۰/۲۰ ^m	۸۱/۱۲ ^a	۰/۹۱۶ ^{abcd}
لنگرود ۸	۵/۹۹ ^{no}	۱/۴۹ ^{op}	۰/۲۵۰ ^{cdefghi}	۴/۳۹ ^{pqr}	۱/۵۷ ^{lm}	۰/۰۷ ^{lm}	۵۵/۳ ^a	۰/۸۷۳ ^{bcdefgh}
لنگرود ۹	۱۳/۳۳ ^b	۳/۳۲ ^{bc}	۰/۲۴۶ ^{defghi}	۷/۲۴ ^b	۳/۱۴ ^{bc}	۰/۳۳ ^h	۹/۴۲ ^b	۰/۹۶۳ ^{ab}
لنگرود ۱۰	۱۲/۲۲ ^c	۳/۰۰۳ ^{cde}	۰/۲۴۳ ^{efghi}	۷/۰۳ ^{bc}	۲/۸۴ ^{de}	۰/۲۷ ⁱ	۱۰/۵۶ ^b	۰/۹۷ ^a
سیاهکل ۱۱	۱۴/۳۳ ^a	۳/۸۳ ^a	۰/۲۷۰ ^{bcdefgh}	۷/۲۸ ^b	۱/۳۱ ^{mn}	۰/۱۲۶ ^{ijkl}	۱۰/۳۵ ^b	۰/۹۱۳ ^{abcde}
سیاهکل ۱۲	۱۱/۱۸ ^{ef}	۲/۷۴ ^{efg}	۰/۲۴۳ ^{efghi}	۶/۴۶ ^{ef}	۲/۱۵ ^{ij}	۰/۳۶ ^{gh}	۶/۰۱ ^b	۰/۸۵۶ ^{bcdefghi}
سیاهکل ۱۳	۱۲/۰۷ ^c	۳/۱ ^{bcd}	۰/۲۶۳ ^{abcdefghi}	۷/۶۳ ^a	۳/۱۲ ^{bc}	۰/۲۶۳ ⁱ	۱۱/۹۶ ^b	۰/۹۲۳ ^{abcd}
سیاهکل ۱۴	۸/۳۱ ^{ij}	۲/۱۲ ^{ijklm}	۰/۲۵۶ ^{bcdefghi}	۴/۷۴ ^o	۳/۳۳ ^{ab}	۰/۲۶۰ ⁱ	۱۲/۸۵ ^b	۰/۹۳۰ ^{abc}
سیاهکل ۱۵	۷/۵۴ ^k	۲/۰۱ ^{klmn}	۰/۲۶۶ ^{abcdefghi}	۵/۰۷ ⁿ	۲/۱۴ ^{ij}	۰/۱۰ ^{kl}	۲۰/۶۳ ^b	۰/۹۵۶ ^{ab}
سیاهکل ۱۶	۹/۸ ^h	۲/۵۲ ^{fghi}	۰/۲۵۶ ^{bcdefghi}	۶/۸۳ ^{cd}	۲/۷۳ ^{def}	۰/۱۳۰ ^{ijkl}	۲۱/۰۶ ^b	۰/۹۵۳ ^{ab}
سیاهکل ۱۷	۱۰/۸۴ ^{fg}	۳/۰۱ ^{cde}	۰/۲۷۶ ^{bcdefgh}	۵/۷۵ ^{ij}	۳/۳۹ ^{ab}	۰/۵۴ ^{de}	۶/۳۶ ^b	۰/۸۶۳ ^{bcdefghi}
سیاهکل ۱۸	۸/۴۱ ^{ij}	۲/۲۶ ^{hijk}	۰/۲۶۶ ^{abcdefghi}	۵/۹۶ ^{hi}	۳/۵۹ ^a	۰/۵۵ ^{de}	۶/۵۴ ^b	۰/۸۶۳ ^{bcdefghi}
سیاهکل ۱۹	۸/۱۱ ^j	۲/۱۷ ^{ijklm}	۰/۲۷۰ ^{bcdefgh}	۵/۶۵ ^{ijkl}	۲/۸۲ ^{de}	۰/۳۹ ^{fgh}	۷/۳۹ ^b	۰/۸۷۶ ^{bcdefg}
سیاهکل ۲۰	۷/۴۴ ^k	۲/۲۱ ^{hijkl}	۰/۲۹۶ ^{ab}	۵/۸۴ ^{ij}	۲/۸۲ ^{de}	۰/۵۵ ^{de}	۵/۲۷ ^b	۰/۸۳۶ ^{cdefghi}
لاهیجان ۲۱	۵/۱۱ ^p	۱/۲۳ ^p	۰/۲۴۰ ^{fghi}	۴/۱۸ ^q	۱/۱۳ ⁿ	۰/۳۴ ^{gh}	۳/۳۰ ^b	۰/۷۶۳ ^{hij}
لاهیجان ۲۲	۶/۵۶ ^m	۱/۶۱ ^{nop}	۰/۲۴۶ ^{defghi}	۴/۶۶ ^{opq}	۱/۴۳ ^m	۰/۴۰ ^{fg}	۳/۵۵ ^b	۰/۷۰ ^o
لاهیجان ۲۳	۶/۸۳ ^{lm}	۱/۷۷ ^{mno}	۰/۲۵۶ ^{bcdefghi}	۵/۰۶ ⁿ	۲/۱۰ ^{ij}	۰/۴۴ ^f	۴/۷۸ ^b	۰/۸۰۰ ^{fghij}
لاهیجان ۲۴	۷/۲۹ ^{kl}	۱/۹۷ ^{klmn}	۰/۲۶۶ ^{bcdefghi}	۵/۲۵ ^{mn}	۲/۲۴ ^{hi}	۰/۵۲ ^e	۴/۲۸ ^b	۰/۷۸۰ ^{ghij}
لاهیجان ۲۵	۸/۸ ⁱ	۲/۰۹ ^{ijklm}	۰/۲۳۶ ^{ghi}	۵/۵۰ ^{klm}	۲/۳۷ ^{ghi}	۰/۵۹ ^{cd}	۳/۹۸ ^b	۰/۷۶۰ ^{ij}
لاهیجان ۲۶	۹/۸۸ ^h	۲/۲۳ ^{hijkl}	۰/۲۳۳ ^h	۵/۷۴ ^{ijkl}	۲/۵۶ ^{efg}	۰/۶۴ ^{bc}	۳/۹۵ ^b	۰/۸۰۳ ^{fghij}
لاهیجان ۲۷	۱۰/۵۵ ^g	۲/۴۴ ^{ghij}	۰/۲۳۳ ^{gh}	۶/۱۴ ^{gh}	۲/۶۴ ^{efg}	۰/۶۶ ^b	۳/۹۷ ^b	۰/۸۱۶ ^{defghi}
لاهیجان ۲۸	۱۱/۴۶ ^{de}	۲/۸۹ ^{def}	۰/۲۵۳ ^{bcdefghi}	۶/۲۸ ^{fg}	۲/۷۵ ^{def}	۰/۶۸ ^{ab}	۴/۰۱ ^b	۰/۸۲۶ ^{cdefghi}
لاهیجان ۲۹	۱۱/۷۶ ^{cd}	۳/۲۳ ^{bcd}	۰/۲۷۳ ^{bcdefgh}	۶/۵۰ ^{ef}	۲/۸۵ ^{cde}	۰/۷۰ ^{ab}	۴/۰۶ ^b	۰/۷۸۳ ^{ghij}
لاهیجان ۳۰	۱۲/۱۲ ^c	۳/۴۶ ^b	۰/۲۸۳ ^{abcdef}	۶/۷۳ ^{de}	۲/۹۸ ^{cd}	۰/۷۳ ^a	۴/۰۵ ^b	۰/۷۹۶ ^{ghij}

در هر ردیف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

جدول ۵: مقایسه میانگین برخی صفات مورفولوژیک و اکوفیتوشیمیایی اکوتیپ‌های چای

اکوتیپ	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر لیتر)	پلی فنول (درصد)	خاکستر کل (گرم)	خاکستر کل (درصد)	صفات			
					خاکستر محلول در آب (درصد)	خاکستر محلول در آب (گرم)	خاکستر نامحلول در آب (گرم)	خاکستر نامحلول در آب (درصد)
لنگرود ۱	۲/۵۶ ^{hi}	۴/۹۷ ^{jk}	۰/۱۲۲ ^{def}	۶/۰۹ ^{cd}	۴۹/۲۶ ^{bcdef}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۶۰ ^{bcd}	۵۰/۷۳ ^{defgh}
لنگرود ۲	۲/۴ ^{ij}	۴/۶۶ ^{kl}	۰/۱۲۰ ^{defg}	۶/۰۲ ^{def}	۴۱/۵۵ ^{defgh}	۰/۰۵۰ ^{bcd}	۰/۰۷۰ ^{abc}	۵۸/۴۴ ^{bcdef}
لنگرود ۳	۲/۱۶ ^{kl}	۴/۱۹ ^{mno}	۰/۱۱۹ ^{efg}	۵/۹۵ ^{cdef}	۳۹/۱۶ ^{efghi}	۰/۰۴۶ ^{cde}	۰/۰۷۳ ^{ab}	۶۰/۸۳ ^{abcde}
لنگرود ۴	۲/۵۹ ^{hi}	۵/۱۱ ^j	۰/۱۲۳ ^d	۶/۱۵ ^c	۴۸/۷۶ ^{cdef}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۶۰ ^{bcd}	۵۱/۲۴ ^{defg}
لنگرود ۵	۱/۹۷ ^{lm}	۴/۱۰ ^{no}	۰/۱۱۸ ^{fg}	۵/۸۸ ^{ef}	۳۶/۸۱ ^{fghi}	۰/۰۴۳ ^{cdef}	۰/۰۷۶ ^{ab}	۶۳/۱۸ ^{abcd}
لنگرود ۶	۱/۹۸ ^{lm}	۳/۹ ^{op}	۰/۱۱۸ ^g	۵/۸۳ ^f	۳۶/۹۱ ^{fghi}	۰/۰۴۳ ^{cdef}	۰/۰۷۳ ^{ab}	۶۳/۰۹ ^{abcd}
لنگرود ۷	۱/۶۵ ^{no}	۳/۰۳ ^q	۰/۱۱۰ ^{hi}	۵/۵۲ ^g	۲۷/۱۲ ^{hi}	۰/۰۳۳ ^{ef}	۰/۰۸۰ ^a	۷۲/۸۸ ^{ab}
لنگرود ۸	۱/۷۹ ^{mn}	۳/۲۲ ^q	۰/۱۱۱ ^{hi}	۵/۵۶ ^g	۲۹/۶۸ ^{hi}	۰/۰۳۳ ^{def}	۰/۰۷۶ ^{ab}	۷۰/۳۱ ^{ab}
لنگرود ۹	۳/۲۷ ^{ef}	۷/۴۰ ^c	۰/۱۳۲ ^b	۶/۵۹ ^b	۵۸/۱۳ ^{abc}	۰/۰۷۶ ^a	۰/۰۵۳ ^{cde}	۴۱/۸۷ ^{ghi}
لنگرود ۱۰	۲/۹۱ ^g	۵/۶۵ ^{gh}	۰/۱۲۸ ^c	۶/۴۱ ^b	۵۲/۰۳ ^{bcde}	۰/۰۶۶ ^{ab}	۰/۰۶۳ ^{abcd}	۴۷/۹۷ ^{efgh}
سیاهکل ۱۱	۱/۴۴ ^p	۶/۰۵ ^{ef}	۰/۱۱۰ ^{hi}	۵/۵ ^g	۶۳/۵۷ ^{ab}	۰/۰۷۰ ^a	۰/۰۴۰ ^{ef}	۳۶/۴۳ ^{hi}
سیاهکل ۱۲	۲/۵۲ ^{hi}	۴/۵ ^{lm}	۰/۱۰۰ ^j	۵ ^h	۶۹/۸۸ ^a	۰/۰۷۰ ^a	۰/۰۳۰ ^f	۳۰/۱۲ ⁱ
سیاهکل ۱۳	۳/۴ ^{de}	۳/۹ ^{op}	۰/۱۲۰ ^{defg}	۶ ^{cdef}	۴۹/۸۷ ^{bcdef}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۶۰ ^{bcd}	۵۰/۱۳ ^{defgh}
سیاهکل ۱۴	۳/۵۹ ^{cd}	۷/۹۵ ^b	۰/۱۲۰ ^{defg}	۶ ^{cdef}	۴۱/۷۸ ^{defgh}	۰/۰۵۰ ^{bcd}	۰/۰۷۰ ^{abc}	۵۸/۲۲ ^{bcdef}
سیاهکل ۱۵	۲/۲۵ ^{jk}	۶/۲ ^e	۰/۱۱۰ ^{hi}	۵/۵ ^g	۶۳/۳۹ ^{ab}	۰/۰۷۰ ^a	۰/۰۴۰ ^{ef}	۳۶/۶۰ ^{hi}
سیاهکل ۱۶	۲/۸۶ ^g	۹/۴۵ ^a	۰/۱۱۰ ^{hi}	۵/۵ ^g	۵۴/۶ ^{bcd}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۵۰ ^{de}	۴۵/۴ ^{fgh}
سیاهکل ۱۷	۳/۹۳ ^b	۶/۹ ^d	۰/۱۲۰ ^{defg}	۶ ^{cdef}	۴۹/۹۱ ^{bcdef}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۶۰ ^{bcd}	۵۰/۰۹ ^{defgh}
سیاهکل ۱۸	۴/۱۵ ^a	۳/۶۵ ^p	۰/۱۴۰ ^a	۷ ^a	۴۹/۹۱ ^{bcdef}	۰/۰۷۰ ^a	۰/۰۷۰ ^{abc}	۵۰/۰۹ ^{defgh}
سیاهکل ۱۹	۳/۲۳ ^{ef}	۴/۷۵ ^{kl}	۰/۱۲۰ ^{defg}	۶ ^{cdef}	۴۹/۹۹ ^{bcdef}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۶۰ ^{bcd}	۵۰/۰۱ ^{defgh}
سیاهکل ۲۰	۳/۳۸ ^e	۶/۸۵ ^d	۰/۱۱۰ ^{hi}	۵/۵ ^g	۴۵/۴۵ ^{cdefg}	۰/۰۵۰ ^{bcd}	۰/۰۶۰ ^{bcd}	۵۴/۵۵ ^{cdefg}
لاهیجان ۲۱	۱/۴۸ ^{op}	۳/۱ ^q	۰/۰۹۹ ^j	۵ ^h	۲۶/۵۸ ⁱ	۰/۰۲۶ ^f	۰/۰۷۳ ^{ab}	۷۳/۴۱ ^a
لاهیجان ۲۲	۲/۰۴ ^l	۳/۹ ^{op}	۰/۱۰۸ ⁱ	۵/۴ ^g	۲۷/۷۸ ^{hi}	۰/۰۳۰ ^{ef}	۰/۰۸۰ ^a	۷۲/۲۲ ^{ab}
لاهیجان ۲۳	۲/۶۲ ^h	۴/۴۵ ^{lmn}	۰/۱۱۲ ^h	۵/۶ ^g	۲۹/۷۲ ^{hi}	۰/۰۳۳ ^{def}	۰/۰۷۶ ^{ab}	۷۰/۲۸ ^{ab}
لاهیجان ۲۴	۲/۸۹ ^g	۵/۱۵ ^{ij}	۰/۱۱۸ ^{efg}	۵/۸۷ ^{def}	۳۳/۹۸ ^{ghi}	۰/۰۴۰ ^{def}	۰/۰۸۰ ^a	۶۶/۰۲ ^{abc}
لاهیجان ۲۵	۳/۱۳ ^f	۵/۴۸ ^{hi}	۰/۱۱۹ ^{efg}	۵/۹۵ ^{cdef}	۳۳/۶۳ ^{ghi}	۰/۰۴۰ ^{def}	۰/۰۸۰ ^a	۶۶/۳۶ ^{abc}
لاهیجان ۲۶	۳/۱۹ ^{ef}	۵/۶۷ ^{gh}	۰/۱۲۱ ^{defg}	۶/۰۰۳ ^{cdef}	۳۸/۸۵ ^{efghi}	۰/۰۴۶ ^{cde}	۰/۰۷۳ ^{ab}	۶۱/۱۴ ^{abcde}
لاهیجان ۲۷	۳/۲۳ ^{ef}	۵/۷۴ ^{fgh}	۰/۱۲۰ ^{def}	۶/۰۶ ^{cde}	۴۱/۲۸ ^{defghi}	۰/۰۵۰ ^{bcd}	۰/۰۷۰ ^{abc}	۵۸/۷۲ ^{abcdef}
لاهیجان ۲۸	۳/۳۴ ^e	۵/۹ ^{efg}	۰/۱۲۱ ^{de}	۶/۱۱ ^c	۴۰/۹۴ ^{defghi}	۰/۰۵۰ ^{bcd}	۰/۰۷۰ ^{abc}	۵۹/۰۶ ^{abcdef}
لاهیجان ۲۹	۳/۶۴ ^c	۶/۱ ^{ef}	۰/۱۲۸ ^c	۶/۴۱ ^b	۳۹/۰۲ ^{efghi}	۰/۰۵۰ ^{bcd}	۰/۰۸۰ ^a	۶۰/۹۸ ^{abcde}
لاهیجان ۳۰	۳/۷۵ ^{bc}	۷/۴۶ ^c	۰/۱۲۹ ^{bc}	۶/۴۵ ^b	۴۶/۵۴ ^{cdefg}	۰/۰۶۰ ^{abc}	۰/۰۷۰ ^{abc}	۵۳/۴۶ ^{cdefg}

در هر ردیف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

بیشترین میزان کلروفیل a (۳/۵۹ میلی‌گرم بر لیتر) و کلروفیل b (۰/۷۳ میلی‌گرم بر لیتر) به ترتیب مربوط به اکوتیپ‌های سیاهکل (کد ۱۸) و لاهیجان (کد ۳۰) و کمترین میزان کلروفیل a (۱/۱۳ میلی‌گرم بر لیتر) و کلروفیل b (۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر) به ترتیب مربوط به اکوتیپ‌های لاهیجان (کد ۲۱) و لنگرود (کد ۷) است (جدول ۴). بیشترین نسبت کلروفیل a به b به میزان ۸۱/۱۲ و ۵۵/۳ به ترتیب مربوط به اکوتیپ لنگرود (کد ۷ و ۸) و کمترین نسبت کلروفیل a به b (۳/۳۰) مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) است، ولی اختلاف معنی‌داری با سایر اکوتیپ‌ها نداشت (جدول ۴). بیشترین نسبت کلروفیل a به کل (۰/۹۷) در اکوتیپ لنگرود (کد ۱۰) و کمترین نسبت کلروفیل a به کل (۰/۷۰۶) در اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۲) بدست آمد (جدول ۴). بیشترین نسبت کلروفیل b به کل (۰/۲۳۰) در اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) و کمترین نسبت کلروفیل b به کل (۰/۰۲۳) در اکوتیپ لنگرود (کد ۷) است (جدول ۴). بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان کلروفیل کل (۴/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر) مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۸) و کمترین میزان کلروفیل کل (۱/۴۸ میلی‌گرم بر لیتر) مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) است (جدول ۵). بیشترین درصد پلی‌فنول (۹/۴۵٪) در اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۶) و کمترین درصد پلی‌فنول (۳/۱ درصد) در اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) بدست آمد (جدول ۵). بیشترین میزان (۰/۱۴۰ گرم) و درصد (۷ درصد) خاکستر کل مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۸) و کمترین میزان (۰/۰۹۹ گرم) خاکستر کل مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) و کمترین درصد (۵ درصد) خاکستر کل هم مربوط به اکوتیپ‌های سیاهکل (کد ۱۲) و لاهیجان (کد ۲۱) می‌باشد (جدول ۵). بیشترین درصد خاکستر محلول در آب (۶۹/۸۸ درصد) مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۲) و کمترین درصد

خاکستر محلول در آب (۲۶/۵۸ درصد) هم مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) است (جدول ۵). بیشترین میزان خاکستر محلول در آب (۰/۰۷۶ گرم) مربوط به اکوتیپ لنگرود (کد ۹) و کمترین میزان خاکستر محلول در آب (۰/۰۲۶ گرم) هم مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) است (جدول ۵). بیشترین میزان خاکستر نامحلول در آب (۰/۰۸۰ گرم) مربوط به اکوتیپ‌های لاهیجان (کدهای ۲۲، ۲۴، ۲۵ و ۲۹) و لنگرود (کد ۷) و کمترین میزان خاکستر نامحلول در آب (۰/۰۳۰ گرم) هم مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۲) است (جدول ۵). بیشترین درصد خاکستر نامحلول در آب (۷۳/۴۱٪) مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) و کمترین درصد خاکستر محلول در آب (۳۰/۱۲٪) هم مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۲) است (جدول ۵). بیشترین نسبت خاکستر محلول به نامحلول (۳/۷۳) مربوط به اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۲) و کمترین میزان نسبت خاکستر محلول به نامحلول (۰/۳۷) هم مربوط به اکوتیپ لاهیجان (کد ۲۱) است (جدول ۵).

بحث

با توجه به نتایج حاصل شده از ارزیابی صفات مورد بررسی در این مطالعه، (جداول ۴ و ۵) تنوع قابل ملاحظه‌ای از نظر صفات مورد بررسی مشاهده می‌شود. در این تنوع مشاهده شده بین اکوتیپ‌ها عوامل مختلفی دخیل هستند. با توجه به دگرگرفته افشان بودن گیاه چای و وجود خودناسازگاری (Kottawa-Arachchi et al., 2019) این تنوع صفات بین اکوتیپ‌ها قابل انتظار بود. شرایط اقلیمی و ژنتیکی بر صفات مورفولوژیکی تأثیرگذار هستند (Ahmed et al., 2019) که در این مطالعه نیز تنوع بین اکوتیپ‌ها از نظر صفات وزن خشک و تر برگ مشاهده شد که به نوبه خود می‌تواند بر صفات اکوفیتوشیمیایی تأثیر

2021) در تحقیقی مشابه روی ۳۱ واریته چای در شمال شرق هند نشان دادند که مقدار کافئین از ۲۷/۱ تا ۴۰/۷ میلی گرم در گرم بسته به زمان برداشت و نوع واریته متفاوت بود.

بر اساس نتایج این مطالعه میزان کلروفیل a, b و کل در بین اکوتیپها متفاوت بود. اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۸) از نظر میزان کلروفیل a و کل بیشترین مقدار را داشت. افزایش میزان کلروفیل در یک اکوتیپ یا گونه سبب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و ارزش دارویی یک گیاه می شود (Zeng et al., 2007; Chavoshizadeh et al., 2020). در گیاه چای هم افزایش کلروفیل در یک اکوتیپ می تواند سبب افزایش ترکیبات آنتی اکسیدانی و کیفیت چای شود. نتایج بررسی وانگ و همکاران (Wang et al., 2010) نشان داد که افزایش کلروفیل a و b ارتباط مستقیمی با افزایش کیفیت چای دارد. وی و همکاران (Wei et al., 2011) نیز گزارش دادند که افزایش میزان کلروفیل a در طول رشد برگ جوان با افزایش پلی فنولها در ارتباط است که نشان دهندهی نقش مثبت کلروفیل در افزایش پلی فنولها می باشد. در این مطالعه نیز اکوتیپهای منطقه سیاهکل میزان کلروفیل و پلی فنولهای بالایی داشتند (Chavoshizadeh et al., 2020).

ترکیبات فیتوشیمایی چای نه تنها فاکتوری مهم در تعیین کیفیت چای مهم است، بلکه برای صنایع دارویی، غذایی و آرایشی نیز مهم است (Santhan and Senthilvelan, 2007). پلی فنولهای چای کارکردهای مهمی مثل اثرات ضد جهش زایی، فعالیت آنتی اکسیدانی، اثرات ضدافسردگی، کاهش فشار خون بالا و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی دارد (Kottawa-Arachchi et al., 2019). در حال حاضر، از پلی فنولهای زیاد چای و محتوای کافئین به عنوان مواد اولیه تجاری برای استخراج ترکیبات عملکردی

گذارند. همچنین این وضعیت شانس انتخاب اکوتیپهای مطلوب تر چای را برای به نژادگر افزایش می دهد.

کافئین، مهمترین آلکالوئید چای است که در ترکیب با پلی فنولها نقش اصلی در مزه چای را دارند (Huang et al., 2020). تنوع در میزان کافئین چای به تفاوت در فصل برداشت چای، روش فرآوری و تنوع و ساختار برگ بستگی دارد (Lin et al., 2003; Chen et al., 2003). علاوه بر این تنوع در کافئین چای بستگی به روش استخراج نیز دارد. در این مطالعه نیز تنوع در بین اکوتیپها از نظر میزان کافئین زیاد بود طوری که بیشترین میزان کافئین را اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۳) داشت. با توجه به خواص دارویی کافئین در سیستم اعصاب مرکزی، تقاضای افزایش کافئین چای از ۲ دوصد در سال ۱۹۸۰ تا ۱۵ درصد در قرن بیست و یک افزایش یافته است. این افزایش به خصوص برای افراد مسن، زنان باردار و کودکان کم سن بیشتر بوده است (Momtaz et al., 2021). توسعه افزایش کافئین چای در کلونهای گیاه چای از طریق اصلاح و انتخاب برای حل مشکل کافئین چای می تواند مفید باشد (Chen and Zhou, 2005). تنوع در میزان کافئین چای توسط ارول و همکاران (Deka et al., 2021) نیز گزارش شده است که با نتایج ما همخوانی دارد. بر اساس بررسی صورت گرفته توسط چپتوت و همکاران (Cheptot et al., 2019) گزارش شده است بین ارقام چای موجود در کلکسیون کشور ژاپن از نظر مقدار کافئین و تانن تفاوت وجود دارد. یک مطالعه دیگر نیز نشان داد که روش رول کردن و زمان برداشت بر میزان محتوای مواد مورد بررسی بعد از فرآیند چای سازی موثر است، طوری که بیشترین میزان کافئین از ۱۷/۸۴mg/g تا ۲۳/۷۹mg/g در وزن خشک در زمان برداشت مختلف بود (Turkmen and Velioglu, 2007). دکا و همکاران (Deka et al.,)

بالتر است (۶۲/۸۸ μg/mg)، و میزان اسیدهای چرب بین فصول برداشت نیز در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار داشتند. همچنین در این مطالعه میزان کل ترکیبات فنولیک به‌عنوان عامل توصیف‌کننده کیفیت برگ چای در فصول مختلف شناخته شده است.

نتیجه‌گیری نهایی

تنوع معنی‌دار صفات مورفولوژیکی و اکوفیتوشیمیایی پیدا شده در ژنوتیپ‌های چای در این مطالعه نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه در ژنوتیپ‌های چای در استان گیلان است. دلیل بارز صفات بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های سیاهکل می‌تواند به خصوصیات ادافیکی مانند بالا بودن pH و کربن آلی خاک و همچنین ارتفاع از سطح دریا بیشتر نسبت به لنگرود و لاهیجان بیان کرد. این تنوع راهنمای مفید و ارزشمندی برای استفاده از ترکیبات بیوشیمیایی برگ تازه چای مثل پلی‌فنول، کافئین و کلروفیل‌ها در تشخیص ژنوتیپ‌های چای ارائه می‌دهد. همچنین شناسایی والدین استفاده شده در برنامه‌های اصلاحی را تسهیل می‌کند و مشکل محدود شدن انتخاب والدین به استفاده از صفات مورفولوژیکی و اقلیمی را حل می‌کند. در این مطالعه اکوتیپ‌های متعلق به منطقه سیاهکل از نظر صفات بیوشیمیایی مثل کافئین (کد ۱۳)، پلی‌فنول (کد ۱۶) و کلروفیل a و کلروفیل کل (کد ۱۸) بیشترین میزان را داشتند که سبب افزایش کیفیت چای حاصل از این اکوتیپ‌ها می‌شود و می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی و کاربردی بکار برده شوند.

استفاده می‌شود (Cheptot et al., 2019). نتایج این مطالعه نشان‌دهنده تنوع در میزان پلی‌فنول در اکوتیپ‌های مورد بررسی است. اکوتیپ سیاهکل (کد ۱۶) بیشترین میزان پلی‌فنول را داشت. مقدار کل پلی‌فنول‌ها از عوامل مهم کنترل‌کننده کیفیت چای هستند که در انتخاب گیاه لحاظ می‌شود (Erol et al., 2010). مطالعات نشان داده است که ترکیبات پلی‌فنولیک اندام‌های گیاه تحت تاثیر ژنوتیپ و عادت رشدی متفاوت می‌باشد (Jafarpour et al., 2018: 2007)، اگرچه ارتفاع، نور، دما و میزان مواد غذایی قابل دسترس در خاک نیز می‌تواند متابولیسم فنیل پروپانویید را تحت تاثیر قرار دهد (Dixon and Paiva, 1995). مرحله‌ی بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از فاکتورهای مهم تاثیرگذار روی میزان ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشد. تفاوت در میزان صفات بیوشیمیایی برگ‌های چای در اکوتیپ‌های مختلف می‌تواند ناشی از تغییرات پارامترهای اکولوژیکی باشد. گزارش شده است که ترکیبات برگ‌های چای در اثر آب و هوا، وارسته و سن برگ تغییر می‌کند (Deka et al., 2021). چن و ژوو (Chen and Zhou, 2015) گزارش کردند که در ژرم‌پلاس‌های چای محتوای پلی‌فنول بر اساس وزن خشک از ۱۳/۶ تا ۴۷/۸ درصد با متوسط ۲۸/۴٪؛ میزان کاتچین از ۸۱/۹g/kg تا ۲۶۲/۷ با متوسط ۱۴۴/۶g/kg است، سایر ترکیبات موثر نیز دارای تفاوت بودند. نتایج حاصله از مطالعه ارسیلی و همکاران (Ercisli et al., 2008) نشان داد که میزان ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ سبز برداشت شده در فصل برداشت دوم (۱۵ جولای)

References

1. Ahmadiyshad, M.A., Kazemi Tabar, S.K., Babaian Jalodar, N.A., Gholami, M. and Kazemi behind, H. 2009. Evaluation of genetic diversity of tea crop clones in

Iran using Rapid molecular marker. Journal of Crop Breeding, 1: 65-76.
2. Ahmed, S., Griffin, T.S., Kraner, D., Schaffner, M.K., Sharma, D., Hazel, M. and Cash, S.B. 2019. Environmental

- factors variably impact tea secondary metabolites in the context of climate change. *Frontiers in plant science*, 10: 939.
3. Chavoshizadeh, S., Pirsa, S., and Mohtarami, F. 2020. Sesame oil oxidation control by active and smart packaging system using wheat gluten/chlorophyll film to increase shelf life and detecting expiration date. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(3), 1900385.
 4. Chen, C.N., Liang, C.M., Lai, J.R., Tsai, Y.J., Tsay, J.S. and Lin, J.K. 2003. Capillary electrophoretic determination of theanine, caffeine, and catechins in fresh tea leaves and oolong tea and their effects on rat neurosphere adhesion and migration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7495-7503.
 5. Chen, L. and Zhou Z. 2005. Variations of main quality components of Tea genetic resources [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] preserved in the China National Germplasm Tea Repository. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60: 31-35.
 6. Cheptot, L., Maritim, T., Korir, R., Kipsura, E., Samson, K., Matasyoh, L., and Muoki, R. 2019. Seasonal variations in catechins and caffeine profiles among Tea cultivars grown in Kenya. *International Journal of Tea Science*, 14(01): 56-61.
 7. Deka, H., Barman, T., Dutta, J., Devi, A., Tamuly, P., Paul, R.K., and Karak, T. 2021. Catechin and caffeine content of tea (*Camellia sinensis* L.) leaf significantly differ with seasonal variation: A study on popular cultivars in North East India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96: 103684.
 8. Dixon, R.A., and Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7: 1085-1097.
 9. Erol, N.T., Sari, F. and Velioglu, S. 2010. Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades Turkish black tea. *GIDA*, 35(3):161-168.
 10. Huang, Y., Dong, W., Sanaeifar, A., Wang, X., Luo, W., Zhan, B. and Li, X. 2020. Development of simple identification models for four main catechins and caffeine in fresh green tea leaf based on visible and near-infrared spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*, 173, 105388.
 11. International Organization for Standardization. (ISO) tea determination of total ash. ISO No. 1575; 1987.
 12. International Organization for Standardization. 1988. (ISO) tea determination of water-soluble ash and water-insoluble ash
 13. Jafarpour, P., Farokhzad, A., Alirezalou, A. and Naghadhabib, F. 2018. Investigation of phytochemical and antioxidant diversity of different species of genus (*Salvia* L.) in West Azerbaijan province. *Journal of Medicinal Plants Ecophytochemistry*, 6 (22): 1-11.
 14. Kottawa-Arachchi, J.D., Gunasekare, M.K. and Ranatunga, M.A. 2019. Biochemical diversity of global tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] germplasm and its exploitation: a review. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66(1): 259-273.
 15. Kottawa-Arachchi, J.D., Gunasekare, M.T.K., Ranatunga, M.A.B., Jayasinghe, L. and Karunagoda, R.P. 2012. Analysis of selected biochemical constituents in black tea (*Camellia sinensis*) for predicting the quality of tea germplasm in Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research*, 23(1): 30-41.
 16. Lakin, A. 1989. Food analysis, practical handout. Reading: Reading University.
 17. Li, J., Wang, J., Yao, Y., Hua, J., Zhou, Q., Jiang, Y. and Dong, C. 2020. Phytochemical comparison of different tea (*Camellia sinensis*) cultivars and its association with sensory quality of finished tea. *LWT*, 117:108595.
 18. Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
 19. Lin, Y.S., Tsai, Y.J., Tsay, J.S. and Lin, J.K. 2003. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1864-1873.
 20. Momtaz, S., Hassani, S., Maghsoudi, A.S., Abdolghaffari, A.H. and Abdollahi, M. 2021. Caffeine and

- mitochondria with a focus on the central nervous system. In *Mitochondrial Physiology and Vegetal Molecules* (pp. 413-437). Academic Press.
21. Mondal, T.K., Bhattacharya, A., Laxmikumar, M. and Ahuja, P. S. 2004. Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76(3): 195-254.
 22. Orhan, I., Zelik, B., Kartal, M., Zdeveci, B., and Duman, H. 2007. HPLC quantification of vitexine-2-O-rhamnoside and hyperoside in three *Crataegus* species and their antimicrobial and antiviral activities. *Chromatographia*, 66: 153-157.
 23. Ouchikh, O., Chahed, T., Ksouri, R., Taarit, M.B., Faleh, H., Abdelly, C. and Marzouk, B. 2011. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1): 103-110.
 24. Pan, H., Wang, F., Rankin, G.O., Rojanasakul, Y., Tu, Y. and Chen, Y.C. 2017. Inhibitory effect of black tea pigments, theaflavin-3/3'-gallate against cisplatin-resistant ovarian cancer cells by inducing apoptosis and G1 cell cycle arrest. *International journal of oncology*, 51(5): 1508-1520.
 25. Samadi, S., and Fard, F.R. 2020. Phytochemical properties, antioxidant activity and mineral content (Fe, Zn and Cu) in Iranian produced black tea, green tea and roselle calyces. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23: 101472.
 26. Santhan, P. and Senthilvelan, D. 2007. A review on the phytochemistry and pharmacology of green tea (*Camellia sinensis*). *Herbal Tech Industry. Feature*, 05.
 27. Selvan, D.A., Mahendiran, D., Kumar, R.S. and Rahiman, A.K. 2018. Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180: 243-252.
 28. Tang, G.Y., Zhao, C.N., Xu, X.Y., Gan, R.Y., Cao, S.Y., Liu, Q. and Li, H.B. (2019). Phytochemical composition and antioxidant capacity of 30 Chinese teas. *Antioxidants*, 8(6): 180-190.
 29. Turkmen, N. and Velioglu, Y.S. 2007. Determination of alkaloids and phenolic compounds in black tea processed by two different methods in different plucking seasons. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 1408-1416.
 30. Wang, K., Liu, F., Liu, Z., Huang, J., Xu, Z., Li, Y., Chen, J., Gong, Y. and Yang, X. 2010. Analysis of chemical components in oolong tea in relation to perceived quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 913-920.
 31. Wei, K., Wang, L., Zhou, J., He, W., Zeng, J., Jiang, Y. and Cheng, H. 2011. Catechin contents in tea (*Camellia sinensis*) as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. *Food Chemistry*, 125: 44-48.
 32. Zheng, C., Zhao, L., Wang, Y., Shen, J., Zhang, Y., Jia, S., Li, Y. and Ding, Z. 2015. Integrated RNA-Seq and sRNA-Seq analysis identifies chilling and freezing responsive key molecular players and pathways in tea plant (*Camellia sinensis*). *PLoS ONE* 10:e0125031.

Investigating the Diversity of *Camellia sinensis* L. Genotypes by Their Echophytochemical Properties at Different Site of Gilan Province

Mantehai Dargah, S.¹, Rezaei, M.B.^{2*}, Ghanbari Jahromi, M.³, Kalateh Jari, S.³,
Jahangirzadeh Khiavi, Sh.⁴

¹PhD student, Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Professor, Department of Medicinal Plants, Research institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴Assistant Professor, Tea Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran

Received: 12-5-2021 ; Accepted: 14-8-2021

Abstract

Tea (*Camellia sinensis* L.) is a woody and perennial plant belonging to the Theaceace family. In this study, we evaluated the diversity of tea plant ecotypes from Langroud, Lahijan and Siahkal regions (ten ecotypes in each region) as three major tea growing regions in Iran during 2019. Traits such as fresh and dry weight, chlorophyll a, b and total, caffeine, polyphenols, percentage of total ash and water soluble and insoluble ash were measured. The analysis of variance showed a significant difference ($P \leq 0.01$) between tea ecotypes for all traits. The highest dry and fresh leaf weight was obtained in Siahkal ecotype (code 11). Siahkal ecotype (code 13) had the highest percentage of caffeine (7.63%), whereas Lahijan ecotype (code 21) represented the maximum amount. The highest amount of chlorophyll a and total chlorophyll was observed in Siahkol ecotype (code 18) and the highest amount of chlorophyll b was observed in Lahijan ecotype (code 30). The maximum (9.45%) and minimum (3.1%) polyphenols (9.45%) were obtained in Siahkal (code 16) and Lahijan (code 21), respectively. Siahkal (code 18), Siahkal (code 12) and Lahijan (code 21) represented the optimum total ash, soluble and insoluble ash in water, respectively. In general, ecotypes belonging to Siahkal region (codes 11, 13, 16 and 18) can be used in planning breeding projects and deciding to select suitable parents in hybridization to increase tea yield and phytochemical properties.

Keywords: Tea, Morphology attributes, Ecophytochemical diversity

*Corresponding author; m.b.rezaee123@gmail.com