

بررسی برخی ترکیبات زیست‌فعال و اسیدهای فنولیک گیاه تاج‌خروس گسترده در

مراحل مختلف فنولوژیکی

محمد سیاری*، مریم حمیدی، علی عزیزی و گودرز احمدوند

ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۷

چکیده

جهت تعیین برخی مواد موثره گیاه تاج‌خروس گسترده (*Amaranthus blitoides*) در مراحل مختلف فنولوژیکی، آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. سه مرحله رشد گیاه شامل مرحله ۸ برگی، مرحله گلدهی و مرحله بذردهی به عنوان سه تیمار آزمایش در نظر گرفته شد. سپس صفات فیتوشیمیایی و محتوی اسیدهای فنولیک کوئرستین، روتین، اسیدکلروژنیک و اسید کافئیک در این گیاه اندازه‌گیری شد. بیش‌ترین محتوی کلروفیل کل (۲/۰۵ میلی‌گرم بر گرم) در مرحله بذردهی و کمترین آن (۰/۹۴ میلی‌گرم در گرم) در مرحله ۸ برگی مشاهده شد. بیش‌ترین محتوی کلروفیل a و b در مرحله بذردهی و کمترین آن در مرحله هشت برگی مشاهده شد. بالاترین مقدار کارتنوئید، در مرحله فنولوژیکی بذردهی مشاهده شد. میزان متابولیت‌های ثانویه این گیاه در مراحل مختلف فنولوژیکی اختلاف معنی‌داری نشان داد، بیش‌ترین مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله گلدهی مشاهده شد. آنالیز HPLC عصاره اندام هوایی گیاه نشان داد که این گیاه دارای مقادری کوئرستین و روتین می‌باشد که با افزایش سن گیاه تا مرحله گلدهی مقدار روتین و کوئرستین افزایش و پس از آن مقدار این دو ترکیب کاهش یافت. همچنین عصاره گیاه دارای دو اسید فنلیک شامل کلروژنیک اسید و کافئیک اسید بود که در مرحله ۸ برگی بالاترین میزان را داشتند و در مراحل بعدی رشد کاهش یافتند. در مجموع بیش‌ترین میزان ترکیبات زیست‌فعال و اسیدهای فنولیک کوئرستین و روتین این گیاه در مرحله گلدهی و بیش‌ترین میزان رنگیزه‌های گیاهی در مرحله بذردهی مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: تانن کل، ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید کل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۴۴۲۵۴۰۰، پست الکترونیکی: m.sayyari@basu.ac.ir

مقدمه

است (۱، ۱۳). بنابراین شایسته است که با شناخت و مطالعه روند تولید گیاهان دارویی و توسعه تحقیقات در زمینه اهلی‌سازی گیاهان دارویی که هنوز وارد چرخه تولید زراعی نشده‌اند، زمینه برای تأمین نیاز صنایع داروسازی و افزایش سطح درآمد تولیدکنندگان و بهره‌برداران گیاهان دارویی فراهم گردد (۲۸).

اهلی‌کردن و کشت گیاهان دارویی و معطر نه تنها وسیله‌ای برای تأمین نیازهای روزافزون ترکیبات دارویی

در کشور ما به رغم پیشینه طولانی در مصرف گیاهان دارویی و گذشته درخشان خود در دانش گیاهان دارویی و همچنین تنوع فراوان گونه‌های دارویی، هنوز آن‌طور که شایسته است گام‌های اساسی در زمینه جمع‌آوری، کشت انبوه و شناسایی ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی برداشته نشده است. علاوه بر این بسیاری از گیاهان دارویی منحصر به فرد موجود در کشور حتی وارد مراحل اهلی‌سازی نشده و یا با برداشت بی‌رویه و غیراصولی از منابع طبیعی، زمینه انقراض و نابودی آن‌ها فراهم شده

است (۷، ۱۱). با توجه به اینکه تاج‌خروس گسترده گیاهی چند منظوره بوده و از نظر متابولیت‌های ثانویه مورد توجه قرار گرفته است هدف از این تحقیق بررسی اثر مراحل فنولوژیکی بر میزان برخی از مواد موثره موجود در این گیاه بوده است.

مواد و روشها

بذر گیاه تاج‌خروس گسترده از روی بوته‌های مادری جمع‌آوری شد. منطقه جمع‌آوری بذور محوطه اطراف دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا با طول جغرافیایی ۳۳ درجه و ۹۵ دقیقه تا ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه عرض شمالی و ۴۷ درجه و ۳۴ دقیقه تا ۴۹ درجه ۳۶ دقیقه طول شرقی بود. در ابتدا از بین بذور بوجاری شده (بذرهای از مواد خارجی، بذرهای نرسیده، پوک و شکسته جدا شدند)، بذرهایی با اندازه یکسان، یکنواخت و بدون شکستگی انتخاب و با استفاده از هیپوکلریت سدیم تجاری یک درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر سه بار شستشو داده شدند. بذرها در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار با فواصل ۱۰ سانتی‌متری در کرت‌هایی به ابعاد ۱×۲ به عمق ۵ سانتی‌متر در اسفند ماه سال ۱۳۹۸ کاشته شدند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با اعمال ۳ تیمار صورت گرفت که هرکدام از مراحل فنولوژیکی ۸ برگی، ابتدای گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیکی گیاه (رسیدن بذور در روی گیاه) یک تیمار در نظر گرفته شد. وارد شدن ۷۵ درصد گیاهان موجود در کرت‌های مشخص‌شده به یک مرحله فنولوژیکی، معیار ثبت تاریخ مراحل فنولوژیکی در نظر گرفته شد. اولین برداشت در مرحله هشت برگی، دومین برداشت در مرحله گل‌دهی گیاه و سومین برداشت در زمان بذردهی صورت گرفت.

در هر یک از مراحل فنولوژیکی گیاه، برگ‌های سالم و تازه در هر کرت به‌صورت جداگانه انتخاب، جمع‌آوری و جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی ذیل (فنل کل،

حال و آینده می‌باشد بلکه وسیله‌ای جهت کاهش فشار بر جوامع گیاهان وحشی نیز محسوب می‌شود (۱۳). توده‌های وحشی یک گونه، از نظر مورفولوژی، تیپ رشدی و تیپ شیمیایی ناهمگن هستند. علاوه بر این برای استفاده در صنایع غذایی و دارویی، ارقام همگن با درصد بالای ماده موثره و عملکرد بالای اندام دارویی مورد نیاز می‌باشد (۲۸). بنابراین برای استفاده اصولی و صنعتی از این گیاهان لازم است که هویت و ماهیت آنان از جنبه‌های مختلف شیمیایی و تولیدی بررسی شود.

از مهم‌ترین گیاهانی که اخیراً مورد توجه قرار گرفته، گونه‌های مختلف گیاه تاج‌خروس (*Amaranthus spp.*) است این گیاهان با شرایط محیطی مختلفی سازگار بوده و جز گیاهان چهار کرنبه محسوب می‌شود (۳، ۵، ۹). خصوصیات مانده مقاومت محیطی سودمند و مصرف موثر آب منجر به فعالیت‌های اخیر در تولید این گیاهان به عنوان یک منبع دانه‌ای، سبزی یا دارویی شده است (۲، ۴، ۲۲). گیاه تاج‌خروس گسترده با نام علمی *Amaranthus blitoides* به عنوان یک گیاه کم توقع و یک منبع ارزان از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی است و به عنوان یک محصول آینده‌دار با عملکرد فوق‌العاده و کیفیت تغذیه‌ای خوب می‌تواند پاسخگوی تقاضای امروزی بشر باشد (۳، ۵، ۲۴). گیاهان خانواده تاج‌خروس به دلیل دارا بودن فنول‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، ترپنوئیدها مورد کشت و کار قرار می‌گیرند و در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۴، ۲۷).

در گیاهان دارویی که استخراج متابولیت‌های ثانویه به عنوان ماده دارویی مد نظر است عوامل مختلفی روی بیوستز این ترکیبات اثر می‌گذارند که یکی از مهم‌ترین عوامل، مراحل فنولوژیکی گیاه می‌باشد. هر ماده دارویی در مرحله خاصی از رشد گیاه به حداکثر میزان خود می‌رسد و جهت استحصال حداکثر میزان ماده موثره گیاهی در واحد سطح، به‌دست آوردن مناسب‌ترین مرحله رشدی گیاه لازم

برای سنجش غلظت کلروفیل ابتدا محتوای کلروفیل از نمونه برگ تازه استخراج و سپس جذب نمونه‌های حاوی رنگیزه در طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۴۵ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a، b و همچنین ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شیمادزو مدل UV-1280) اندازه‌گیری و در نهایت با استفاده از رابطه‌های زیر، میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تازه محاسبه گردید (۲۹).

$$\text{Chl a} = (12.25 \times A664) - (2.55 \times A645) \quad \text{فرمول (۱)}$$

$$\text{Chl b} = (20.31 \times A645) - (4.91 \times A664) \quad \text{فرمول (۲)}$$

$$\text{Chl T} = (17.76 \times A645) - (7.34 \times A664) \quad \text{فرمول (۳)}$$

$$\text{کاروتنوئید} = (1000 \times A470 - 1.82 \times \text{Chl a} - 85.02 \times \text{Chl b}) / 198 \quad \text{فرمول (۴)}$$

منحنی استاندارد اسیدگالیک و در نظر گرفتن نسبت رقیق شدن، مجموع فنل به صورت میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن عصاره بیان شد (۶).

برای اندازه‌گیری غلظت فلاونوئید کل اندام هوایی، ۰/۲۷۵ میلی‌لیتر از عصاره برگ با ۸۲۵ میکرولیتر آب مقطر به حجم ۱/۱ میلی‌لیتر رسانده شد سپس ۰/۳ میلی‌لیتر نیتريت سدیم ۵ درصد به محلول اضافه گردید پس از سپری شدن مدت زمان ۵ دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد و بعد از ۶ دقیقه ۲ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید (سود) ۱ مولار به همراه یک میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه گردید. شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت شد. از آب مقطر به عنوان بانک استفاده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئید کل با استفاده از روتین منحنی استاندارد رسم گردید و غلظت فلاونوئید کل در برگ بر حسب میلی‌گرم روتین (کوئرستین ۳- روتینوزید) در گرم وزن تر بیان شد (۲۰).

فلاونوئید، تانن، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اسیدهای فنولیک روتین و کوئرستین) به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بخشی از برگ‌های تازه نیز برای اندازه‌گیری صفات کلروفیل و کاروتنوئید مورد استفاده قرار گرفت.

صفات اندازه‌گیری شده: صفات اندازه‌گیری شده شامل میزان کلروفیل a و b در برگ، میزان فنل کل، میزان فلاونوئید کل و میزان تانن کل اندام هوایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ، محتوای کوئرستین، روتین، اسید کلروژنیک و اسید کافئیک در عصاره برگ بود.

برای سنجش میزان فنل کل، فلاونوئید و تانن کل ابتدا از نمونه‌ها عصاره‌گیری انجام شد (۸). بدین منظور ۰/۵ گرم نمونه تازه برگ گیاه به همراه ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ در هاون سائیده شد سپس به مدت ۶۰ دقیقه در شیکر ۱۲۰ دور در دقیقه گذاشته شد. پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس فاز رویی جدا شده و برای فاز زیرین همان مراحل قبلی تکرار شد و به فاز رویی مرحله قبل اضافه شد و به عنوان عصاره مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه برای سنجش میزان فنل کل از معرف فولین-سیکالتو (Folin-Ciocalteu) استفاده شد. بدین منظور به ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی، ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین - سیکالتو رقیق شده با نسبت یک به ده اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به آن ۱۲۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد اضافه شد و به مدت ۹۰ دقیقه روی شیکر در دمای اتاق و شرایط تاریکی قرار داده شد، در نهایت جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از

دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز رویی برداشته و درون تیوپ جدید ریخته شد. برای اطمینان از شفاف بودن عصاره، دوبار سانتریفیوژ صورت گرفت. قسمت فوقانی محلول پس از گذشتن از فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتر به میکروتیوپ منتقل شد. سپس عصاره با متانول ۸۰ درصد، ۱۰ برابر رقیق شد و آماده تزریق به دستگاه HPLC شد.

برای سنجش میزان کوئرستین، روتین، اسید کلروژنیک و اسید کافئیک از دستگاه HPLC ساخت شرکت کنور آلمان مجهز به پمپ مدل اسمارت لاین ۲۰۵۰، ستون C18 به طول ۱۵۰ میلی‌متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر استفاده گردید. دتکتور از نوع UV-Detector بود که روی طول موج ۳۳۰ نانومتر تنظیم گردید. استونیتریل (۹۵٪) و ارتوفسفریک (۱٪) به عنوان فاز متحرک دستگاه مورد استفاده قرار گرفتند. میزان حجم هر تزریق نمونه ۲۰ میکرولیتر و سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. پس از تزریق استاندارد، نمونه‌ها تزریق شدند و با مقایسه گروماتوگرام نمونه‌ها و بر اساس زمان بازداری پیک‌های خروجی و مطابقت پیک‌های استاندارد، مقدار و نوع ماده خروجی از ستون شناسایی، تعیین و میزان اسیدهای فنولیک پس از محاسبات لازم بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه مشخص گردید (۱۹).

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری: تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مختلف، با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام پذیرفت و نمودارها با نرم‌افزار Excell ۲۰۱۳ رسم گردیدند.

نتایج و بحث

میزان رنگیزه‌های گیاهی در مراحل مختلف فنولوژیکی: اثر مراحل فنولوژیکی (مرحله ۸ برگی، مرحله گلدهی و مرحله بذردهی) بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل

به‌منظور اندازه‌گیری تانن کل نیز ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۱۳۷۵ میکرولیتر آب مقطر مخلوط گردید، سپس ۱۲۵ میکرولیتر فولین-سیکالتو به آن اضافه شد. پس از ۳ دقیقه، ۲۵۰ میکرولیتر از محلول سدیم کربنات به همراه ۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. پس از انجام شیکر به مدت ۶۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت و برای محاسبه غلظت تانن کل با استفاده از اسید تانیک منحنی استاندارد رسم شد و در نهایت غلظت تانن کل در برگ بر حسب میلی‌گرم تانیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان گردید (۳۱).

برای سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ابتدا محلول دی‌فیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار تهیه گردید. این محلول برای اندازه‌گیری درصد بازدارندگی به شکل روزانه تهیه گردید. در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی برداشته و به آن ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد و با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۷۵ میکرولیتر از این محلول برداشته و به آن ۲۹۲۵ میکرولیتر محلول DPPH اضافه گردید. جذب نمونه‌ها در دقیقه صفر با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شد و دوباره میزان جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد. درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول ۵ محاسبه گردید (۱۸): فرمول (۵)

$$A515 = ((A515T0 - A515T30) / A515T0) \times 100$$

A515T0 مقدار جذب در دقیقه صفر،

$$A515T30 = \text{مقدار جذب در دقیقه } 30$$

برای تعیین غلظت اسیدهای فنولیک گیاه تاج خروس گسترده با استفاده از دستگاه HPLC ابتدا استخراج آنها صورت گرفت. بدین منظور مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه برگی به همراه ۱ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد (با درجه HPLC) داخل لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک با دمای ۳۰ درجه سانتی - گراد قرار داده شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰

تاثیر مراحل فنولوژیکی بر صفات فیتوشیمیایی: تاثیر مرحله فنولوژیکی بر مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تانن کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). بیش‌ترین محتوای فنل کل در مرحله گلدهی به مقدار ۶۰۲/۲۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با مرحله بذردهی و ۸ برگی داشت و کم‌ترین محتوای فنل کل در مرحله ۸ برگی با مقدار ۳۴۵/۲۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار مرحله بذردهی نداشت (جدول ۴).

بیش‌ترین محتوای فلاونوئید کل در مرحله گلدهی به مقدار ۳۹۲/۷۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با مرحله گلدهی و ۸ برگی داشت و کم‌ترین محتوای فلاونوئید کل در مرحله ۸ برگی با مقدار ۸۳/۳۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با مرحله گلدهی نداشت (جدول ۴).

کل و کارتنوئید کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیش‌ترین محتوای کلروفیل کل در مرحله فنولوژیکی بذردهی به مقدار ۲/۰۵ میلی‌گرم در گرم وزن تازه به‌دست آمد در حالی که کمترین محتوای کلروفیل کل به مقدار ۰/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در مرحله هشت برگی مشاهده شد. بیش‌ترین محتوای کلروفیل a و b در مرحله بذردهی به ترتیب به مقدار ۱/۵۸ و ۰/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین مقدار کلروفیل a و b در مرحله هشت برگی به ترتیب با مقدار ۰/۷۷ و ۰/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد که کمترین مقدار کلروفیل b اختلاف معنی‌داری با مرحله گلدهی نداشت (جدول ۲). بالاترین مقدار کارتنوئید کل معادل ۰/۶۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر در مرحله فنولوژیکی بذردهی مشاهده شد و کم‌ترین مقدار در مرحله هشت برگی با مقدار ۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار مرحله گلدهی نداشت (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر مراحل مختلف فنولوژیکی (مرحله هشت برگی، مرحله گل دهی و مرحله بذردهی) گیاه تاج‌خروس گسترده بر میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید کل

| میانگین مربعات (MS) | | | | | |
|---------------------|------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| منابع تغییر | درجه آزادی | کلروفیل کل | کلروفیل a | کلروفیل b | کارتنوئید |
| بلوک | ۲ | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۰۵ ^{ns} | ۰/۰۰۴ ^{ns} | ۰/۰۰۶ ^{ns} |
| مرحله فنولوژیکی | ۲ | ۰/۹۸ ^{**} | ۰/۵۳ ^{**} | ۰/۰۶ ^{**} | ۰/۰۴ ^{**} |
| خطای آزمایشی | ۴ | ۰/۰۰۹ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۱ |
| ضریب تغییر (درصد) | - | ۶/۹۱ | ۷/۱۸ | ۱۶/۷۹ | ۶/۶۲ |

^{**} نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ns بیانگر عدم معنی‌داری می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر مراحل فنولوژیکی (مرحله هشت برگی، مرحله گل دهی و مرحله بذردهی) گیاه تاج‌خروس گسترده بر میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید کل

| مرحله فنولوژیک | کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) |
|----------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| ۸ برگی | ۰/۹۴ ^c | ۰/۷۷ ^c | ۰/۱۵ ^b | ۰/۳۹ ^b |
| گلدهی | ۱/۲۳ ^b | ۰/۹۸ ^b | ۰/۲۴ ^b | ۰/۴۴ ^b |
| بذردهی | ۲/۰۵ ^a | ۱/۵۸ ^a | ۰/۴۴ ^a | ۰/۶۳ ^a |

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با مقدار ۴۳/۶۹ درصد بازدارندگی در مرحله گلدهی و کم‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله ۸ برگی با مقدار ۲/۹۴۴ درصد مشاهده شد. تمامی تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول ۴).

بالاترین مقدار تانن کل در مرحله گلدهی (۱۹۲/۶۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر مراحل فنولوژیکی داشت و کمترین مقدار تانن کل در مرحله ۸ برگی (۱۲۰/۰۹ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با مرحله گلدهی و بذردهی داشت (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر مراحل فنولوژیکی (مرحله هشت برگی، مرحله گل دهی و مرحله بذردهی) گیاه تاج‌خروس گسترده بر میزان فنل کل،

فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات (MS) | | |
|-----------------|------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| | | فنل کل | فلاونوئید کل | ظرفیت آنتی‌اکسیدانی |
| بلوک | ۲ | ۲۰۰۸/۷۲ ^{ns} | ۵۰۴/۸۴ ^{ns} | ۶۷/۴۶ ^{ns} |
| مرحله فنولوژیکی | ۲ | ۵۰۸۲۳/۹۶ ^{**} | ۸۴۰۴۳/۸۴ ^{**} | ۴۶۹۱/۸۴ ^{**} |
| خطای آزمایشی | ۴ | ۲۷۰۸/۱۴ | ۷۳۳/۱۹ | ۱۹۰/۴۷ |
| ضریب تغییر | - | ۱۱/۲۶ | ۱۳/۳۸ | ۸/۵۶ |

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ns بیانگر عدم معنی‌داری می‌باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر مراحل فنولوژیکی (مرحله هشت برگی، مرحله گل دهی و مرحله بذردهی) گیاه تاج‌خروس گسترده بر میزان فنل کل،

فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

| مرحله فنولوژیکی | فنل کل (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) | (میلی‌گرم بر فلاونوئید کل ۱۰۰ گرم وزن تر) | تانن کل (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) | ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) |
|-----------------|-------------------------------------|---|--------------------------------------|----------------------------|
| ۸ برگی | ۳۴۵/۲۲ ^b | ۸۳/۳۲ ^b | ۱۲۰/۰۹ ^c | ۲۸/۸۶ ^c |
| گلدهی | ۶۰۲/۲۲ ^a | ۳۹۲/۷۲ ^a | ۱۹۹/۶۲ ^a | ۴۳/۶۹ ^a |
| بذردهی | ۴۳۷/۸۷ ^b | ۱۲۹/۹۸ ^b | ۱۶۴/۱۱ ^b | ۲/۹۴ ^b |

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

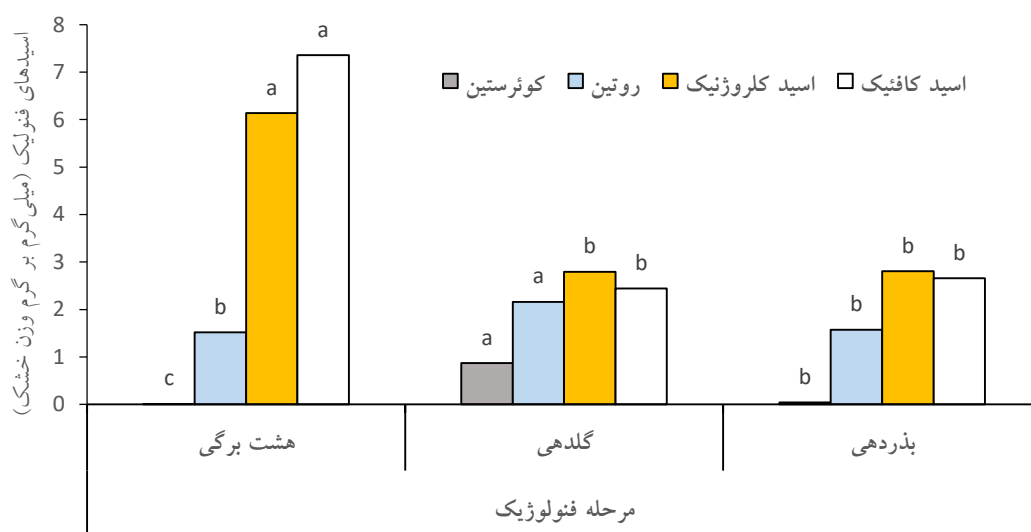
مرحله گلدهی مقدار این دو ترکیب افزایش و سپس کاهش یافته است. همچنین بیش‌ترین مقدار اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک در مرحله ۸ برگی به ترتیب با مقدار ۶/۱۳ و ۷/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ و کم‌ترین مقدار در مرحله بذردهی به ترتیب با مقدار ۲/۴۴ و ۲/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با مرحله گلدهی مشاهده نشد. با افزایش سن گیاه مقدار این دو ترکیب به طور معنی‌داری کاهش یافته است (شکل ۱).

اثر مراحل فنولوژیکی بر مقدار اسیدهای فنولیک روتین، کوئرستین، اسیدکافئیک و اسیدکلروژنیک: تاثیر مراحل فنولوژیکی بر مقدار اسیدهای فنولیک از جمله روتین، کوئرستین، اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک در گیاه تاج‌خروس گسترده معنی‌دار بود (جدول ۵). با توجه به نتایج بدست آمده بیش‌ترین مقدار روتین و کوئرستین در مرحله گلدهی به ترتیب به مقدار ۲/۱۶ و ۰/۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ و کم‌ترین مقدار در مرحله ۸ برگی به ترتیب به مقدار ۱/۵۲ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ مشاهده شد. یعنی با افزایش سن گیاه تا

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر مراحل فنولوژیکی (مرحله هشت برگی، مرحله گل دهی و مرحله بذردهی) گیاه تاج‌خروس گسترده بر میزان برخی اسیدهای فنولیک

| میانگین مربعات | | | | درجه آزادی | منابع تغییر |
|---------------------|---------------------|----------------------|--------------------|------------|-----------------|
| مقدار | مقدار | مقدار | مقدار روتین | | |
| اسیدکافئیک | اسیدکلروژنیک | کوئرستین | اسید کلروژنیک | | |
| ۰/۲۰ ^{ns} | ۰/۰۰۶ ^{ns} | ۰/۰۰۰۱ ^{ns} | ۰/۱۶ ^{ns} | ۲ | بلوک |
| ۲۳/۱۳ ^{**} | ۱۱/۱۵ ^{**} | ۰/۷۰ ^{**} | ۰/۳۸ ^{**} | ۲ | مرحله فنولوژیکی |
| ۰/۱۰ | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۰۰۶ | ۰/۰۱۹ | ۴ | خطای آزمایشی |
| ۷/۹۶ | ۲/۱۶ | ۳/۹۸ | ۷/۹۵ | - | ضریب تغییرات |

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ns بیانگر عدم معنی‌داری می‌باشد.



شکل ۱- میزان اسیدهای فنولیک روتین، کوئرستین، اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک در مراحل مختلف رشد (مرحله هشت برگی، مرحله گل دهی و مرحله بذردهی) گیاه تاج‌خروس گسترده.

حروف مشابه در هر ستون و در هر اسید فنولیک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

نیاز افزایش می‌یابد (۱۰). افزایش کلروفیل کل برگ از مرحله جوانی تا بلوغ در گیاهان آفتابگردان و کاسیا (*Cassia alata*) نیز مشاهده شده است (۱۵، ۲۶). در گیاه گراویلا (*Annona muricata* L.) نیز با افزایش سن گیاه مقدار کلروفیل و کارتنوئید افزایش یافته (۲۳) که نتایج این آزمایش نیز با آن مطابقت دارد. اما در گیاه تاج‌خروس سه رنگ با افزایش سن گیاه غلظت کلروفیل کاهش یافته که نتایج این تحقیق با گزارش آنها مغایرت دارد (۱۷).

در این پژوهش بیشترین مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تانن کل در مرحله گلدهی مشاهده

بحث

در این تحقیق بالاترین میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و نیز کارتنوئید در مرحله بذردهی گیاه مشاهده شد (جدول ۲). متناسب با سن و موقعیت برگ روی شاخه، سطح برگ به تدریج افزایش یافته و همراه با آن تغییرات بیوشیمیایی برای تولید کلروپلاست‌های کاملاً نمو یافته انجام می‌شود. گزارش شده است که رنگدانه‌های گیاهی مانند کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها از نشانگرهای فیزیولوژیکی افزایش سن برگ‌ها بوده و همراه با نمو برگ و کلروپلاست‌ها، تولید آن‌ها نیز به‌منظور تأمین انرژی مورد

مراحل بلوغ، شرایط آب و هوایی، بخش‌های مورد استفاده از گیاه، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی تغییر می‌کند (۲۱). رسیدگی گیاهان دارویی با تغییرات مهم بیوشیمیایی اتفاق می‌افتد. اغلب میزان فنل کل با نمو و رسیدن کامل گیاه به طور پیوسته کاهش می‌یابد که این موضوع با نتایج این بررسی مطابقت داشت و میزان فنل کل بعد از مرحله گلدهی روند نزولی نشان داد.

بیش‌ترین مقدار روتین و کوئرستین در مرحله گلدهی و بیشترین میزان اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک در مرحله ۸ برگی یافت شد. با توجه به نتایج این پژوهش گونه تاج‌خروس گسترده را نمی‌توان به عنوان یک منبع غنی از کوئرستین به حساب آورد. منابع غنی کوئرستین در تعدادی از میوه‌ها، سبزی‌ها و گیاهان دارویی مشخص شده است (۳۰). در تحقیقی مقدار روتین و کوئرستین ۴ گونه تاج‌خروس را مورد سنجش قرار گرفته و گزارش شده که بیش‌ترین مقدار روتین و کوئرستین در مرحله گلدهی تولید می‌گردد (۱۶) که نتایج آزمایش ما نیز با این گزارش مطابقت دارد. در گیاه بادیان رومی (*Pimpinella anisum* L.) بیش‌ترین مقدار روتین و کوئرستین در مرحله گلدهی مشاهده شده است (۲۵). در پژوهشی ترکیبات فنولیک گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) در مراحل مختلف فنولوژیکی بررسی شده و گزارش شده که بیش‌ترین مقدار کوئرستین در مرحله گلدهی و بیش‌ترین مقدار روتین، اسید کلروژنیک و اسید کافئیک در مرحله رویشی پدیدار می‌گردد (۲۵).

در تحقیقی مقدار روتین گیاه تاج‌خروس (حدود ۰.۳٪) مانند مقدار روتین در برگ‌های گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) گزارش شده است و لذا می‌توان از این گیاه به عنوان سبزی در تغذیه انسان استفاده کرد. این گیاه منبع غنی از اسیدکافئیک و اسیدکلروژنیک در مراحل ابتدای رویشی می‌باشد و با افزایش سن گیاه بیوستز این دو ترکیب به شدت کاهش می‌یابد.

گردید (جدول ۴). علت افزایش تجمع ترکیبات فنولیک در مرحله گلدهی را می‌توان مرتبط به سلول‌ها و بافت‌هایی مثل مزوفیل، اپیدرم و ضخامت کوتیکول، کلروپلاست، کرک و یا تغییرات مهم فیزیولوژیکی و یا ساختاری طی مراحل نموی دانست. همچنین این افزایش را می‌توان به همزمانی این مرحله با دمای معتدل هوا در اواسط بهار مرتبط دانست و با نزدیکی به تابستان و افزایش دمای هوا و رسیدن گیاه به بلوغ کامل میزان این ترکیبات مجدداً کاهش می‌یابد. اثر مراحل فنولوژیکی بر مقدار فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه گل‌راعی بررسی و گزارش شده است که در مرحله گلدهی مقدار این ترکیبات به حداکثر می‌رسد و پس از گلدهی سیر نزولی دارد (۳۲). در برگ‌های گیاه رزماری نیز بیش‌ترین مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و تانن در مرحله بذردهی و بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله گلدهی مشاهده شد (۳۳).

در تحقیقی در گیاه بومادران (*Achillea gypsicola*) دریافتند که ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف رشد متفاوت است و بیش‌ترین مقدار فنل کل در مرحله گلدهی و بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله بذردهی اتفاق می‌افتد (۷). مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ترشک (*Rumex crispus* L.) در مرحله گلدهی بیشتر از مرحله بذردهی گزارش شده (۱۲) و در گیاه سیاه‌دانه هم مقدار فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل در مرحله بذردهی گیاه بیش‌ترین مقدار را داشته است (۳۴). در گزارشی نیز آمده است که بیش‌ترین مقدار فنل کل و فلاونوئید کل در مرحله گلدهی گیاه لعل کوهستان (*Oliveria decumbens* Vent.) تولید می‌گردد (۳۴).

در تمام مراحل رشد گیاهان، یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال می‌باشد که عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به طور گسترده با چندین فاکتور مثل

نتیجه‌گیری کلی

کرد. در مجموع می‌توان گفت که بیشترین میزان ترکیبات زیست‌فعال از جمله فنل کل، تانن کل، فلاونوئید کل و اسیدهای فنولیک کوئرستین و روتین این گیاه در مرحله گلدهی و بیشترین میزان رنگیزه‌های گیاهی از جمله کلروفیل و کارتنوئید در مرحله بذردهی بیوستز می‌گردد.

سیاسگزار

اعتبار مالی لازم این تحقیق توسط حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا تأمین شده است. لذا نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از مساعدت‌های مذکور اعلام می‌دارند.

مراحل فنولوژیکی بر میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه تاج خروس موثر می‌باشد و بیشترین مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله گلدهی تولید می‌گردد. این گیاه دارای اسیدهای فنولیک از جمله کوئرستین، روتین، اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک می‌باشد. بیش‌ترین مقدار روتین و کوئرستین در مرحله گلدهی یافت شد و در مرحله بذردهی مقدار آن‌ها کاهش یافت اما بیش‌ترین مقدار اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک در مرحله ۸ برگی مشاهده شد و سپس در مراحل بعدی کاهش پیدا

منابع

۱. حاجی پور، ب.، خصاف مفرد، ح.، حسینی کشکویه، س. م. و خورشیدی، غ. ۱۳۹۷. چارچوبی برای راهبرد نظام مند نوآوری: مطالعه موردی بخش گیاهان دارویی و معطر در ایران. فصلنامه انجمن علوم مدیریت ایران، ۱۳(۱۵): ۱-۲۰.
۲. مالکی خضرلو، س. و تاجبخش، م. ۱۳۹۷. ارزیابی خصوصیات کمی و کیفی علوفه و دانه تاج خروس زراعی (*Amaranthus hypochondriacus* L.) تحت اثر برخی تیمارهای پیش از کاشت. علوم و تحقیقات بذر ایران، ۵(۲): ۱-۹.
۳. نیازی پور، غ.، اهتمام، م. ح.، کریم مجنی، ح. ۱۳۹۷. مقایسه اثرات دگرآسیبی عصاره دوگونه بومادران (*Achillea pachycephala* Rech. and *Achillea nobilis* L. خروس، (*Amaranthus retroflexus* L.)). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۱(۲): ۴۵۳-۴۶۲.
۴. یزدان‌شناس، ح.، طویلی، ع. و نصیری، م. ۱۳۹۴. اثر تیمارهای فیزیوشیمیایی بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی زیتنی تاج خروس (*Amaranthus cruentus* L.)). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸(۵): ۱۱۲۹-۱۱۳۶.
5. Adegbola P.I., Adetutu A., Olaniyi T.D., 2020. Antioxidant activity of Amaranthus species from the Amaranthaceae family—A review. South African Journal of Botany 133, 111-117.
6. Ainsworth E.A., Gillespie K.M., 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. Nature protocols 2, 875-877.
7. Akif Açıkgöz M., 2019. Evaluation of Phytochemical Compositions and Biological Properties of Achillea gypsicola at Different Phenological Stages. Chemistry & biodiversity 16 (12), e1900373.
8. Bedreag C.F.G., Trifan A., Bucur L.A., Arcus M., Tebrenu C., Miron A., Costache I.I., 2014. Chemical and antioxidant studies on Crataegus pentagyna leaves and flowers. Romanian Biotechnological Letters 19, 9859.
9. Bussmann R.W., Paniagua-Zambrana N.Y., Njoroge G.N., 2021. Amaranthus hybridus L. Amaranthus spinosus L. A maranthaceae. Ethnobotany of the Mountain Regions of Africa, 153-160.
10. Cevahir G., Yentur S., Yazgan M., Unal M., Yilmazer N., 2004. Peroxidase activity in relation to anthocyanin and chlorophyll content in juvenile and adult leaves of "mini-star" Gazania splendens. Pakistan Journal of Botany 36, 603-610.
11. Ebrahimi S.N., Hadian J., Mirjalili M., Sonboli A., Yousefzadi M., 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of Thymus caramanicus at different phenological stages. Food chemistry 110, 927-931.
12. Feduraev P., Chupakhina G., Maslennikov P., Tacenko N., Skrypnik L., 2019. Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from Rumex crispus L. and Rumex obtusifolius L. at different growth stages. Antioxidants 8, 237.

13. Harnischfeger G., 2000. Proposed guidelines for commercial collection of medicinal plant material. *Journal of herbs, spices & medicinal plants* 7, 43-50.
14. Hilou A., Nacoulma O., Guiguemde T., 2006. In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L. in mice. *Journal of ethnopharmacology* 103, 236-240.
15. Jolkili M., Shaari A., Razak N., 2019. The influence of leaf age and drying temperature on antioxidant capacity of *Cassia alata*, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. IOP Publishing, p. 012052.
16. Kalinova J., Dadakova E., 2009. Rutin and total quercetin content in amaranth (*Amaranthus* spp.). *Plant foods for human nutrition* 64, 68.
17. Khandaker L., Ali M.B., Oba S., 2009. Influence of cultivar and growth stage on pigments and processing factors on betacyanins in red amaranth (*Amaranthus tricolor* L.). *Food Science and Technology International* 15, 259-265.
18. Kulkarni A.P., Aradhya S.M., 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry* 93, 319-324.
19. Kumar B.A., Lakshman K., Jayaveera K., Krishna N.V., Manjunath M., Suresh M., 2009. Estimation of rutin and quercetin in *Amaranthus viridis* Linn by HPLC. *Asian J. Exp. Sci* 23, 51-54.
20. Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J., Cheng S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry* 96, 254-260.
21. Mejia L., Hudson E., de Majia E.G., Vazquez F., 1988. Carotenoid content by vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annum*) as determined by HPLC.
22. Mlakar S.G., Turinek M., Jakop M., Bavec M., Bavec F., 2010. Grain amaranth as an alternative and perspective crop in temperate climate. *Journal for Geography* 5, 135-145.
23. Pelden D., Meesawat U., 2019. Foliar idioblasts in different-aged leaves of a medicinal plant (*Annona muricata* L.). *Songklanakarin Journal of Science & Technology* 41.
24. Rastogi A., Shukla S., 2013. Amaranth: a new millennium crop of nutraceutical values. *Critical reviews in food science and nutrition* 53, 109-125.
25. Rebey I.B., Wannes W.A., Kaab S.B., Bourgo S., Tounsi M.S., Ksouri R., Fauconnier M.L., 2019. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Pimpinella anisum* L. accessions at different ripening stages. *Scientia horticulturae* 246, 453-461.
26. Sairam R., Singh D., Srivastava G., 2003. Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages. *Biologia Plantarum* 47, 61-66.
27. Santiago-Saenz Y.O., Hernández-Fuentes A.D., Monroy-Torres R., Cariño-Cortés R., Jiménez-Alvarado R., 2018. Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12, 2855-2864.
28. Soosaraei M., Fakhar M., Teshnizi S.H., Hezarjaribi H.Z., Banimostafavi E.S., 2017. Medicinal plants with promising antileishmanial activity in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Medicine and Surgery* 21, 63-80.
29. Stevens J., Senaratna T., Sivasithamparam K., 2006. Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation* 49, 77-83.
30. Sultana B., Anwar F., 2008. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry* 108, 879-884.
31. Taira S., Ono M., 1996. Reduction of astringency in persimmon caused by adhesion of tannins to cell wall fragments, I International Persimmon Symposium 436, pp. 235-242.
32. Toker Z., 2009. Variation of total hypericin, phenolic and flavonoid compounds in *Hypericum triquetrifolium* during its phenological cycle. *Pharmaceutical Biology* 47, 285-288.
33. Yosr Z., Hnia C., Rim T., Mohamed B., 2013. Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. *typicus* Batt. organs during growth and incidence on the antioxidant activity. *Industrial Crops and Products* 43, 412-419.

34. Zribi I., Ghezal N., Sbai H., Richard G., Fauconnier M.L., Haouala R., 2019. Biochemical composition of Tunisian *Nigella sativa* L. at different growth stages and assessment of the

phytotoxic potential of its organic fractions. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 153, 205-212.

Evaluation of some bioactive compounds and phenolic acids of *Amaranthus blitoides* at different phenological stage

Sayyari M. *, Hamidi M., Azizi A. and Ahmadvand G.

Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

To determine some bioactive compounds of *Amaranthus blitoides* in different phenological stages, an experiment was conducted in a randomized complete block design with three treatments and three replications. Three phenological stages, including eight-leaf, flowering and seed production stages, were considered three treatment of experiment, some phytochemical traits and phenolic acids, including quercetin, rutin, chlorogenic acid and caffeic acid, were measured. The highest total chlorophyll content (2.05 mg g^{-1}) was observed at the seed production stage, while the lowest total chlorophyll content (0.94 mg g^{-1}) was observed at the eight-leaf stage. The highest content of chlorophyll a and b was observed in the seed production stage, whereas the lowest amount of chlorophyll a and b was observed in the eight-leaf stage. The highest content of carotenoids was observed at the seed production stage. At different phenological stages, the evaluated traits had significant differences. The highest amount of total phenolic compounds, total flavonoids, total tannins, and antioxidant capacity were observed in the flowering stage. HPLC analysis of extracts showed that quercetin and rutin production increased during growth until the flowering stage and then decreased. Also, the biosynthesis of two phenolic acids, including chlorogenic acid and caffeic acid, was high at the eight-leaf stage and reduced after this phenological stage. In general, the highest amount of bioactive compounds and phenolic acids quercetin and rutin of this plant was observed in the flowering stage and the highest amount of plant pigments was observed in the seed production stage.

Key words: Antioxidant activity, Phenolic compounds, Total flavonoids, Total tannins