مجلة اتحاد الجامعات العربية
للعلـــوم الزراعيـــة
جامعة عين شمس ، القاهـرة
مجلد(١٦)، عدد (١)، ٣-١٥، ٢٠٠٨

دراسة المركبات الفينولية والبروتينات كمؤشر للتنوع الحيوي للفول [١]

ريمة بلعطار[١]- رشيد مرغم [١]- ليلى بودور[١]
١. مخبر كيمياء النبات- كلية العلوم والطبيعة- قسم البيولوجيا والبيئة- جامعة منتوري- قسنطينة- الجزائر

الكلمـــات الدالـــة: التنـــوع الحيـــوي، التانينـــات، البروتينات، الهجرة الكهربائية، الفول (*Vicia faba* L.)

الموجـز

أجريـت دراسـتنا علـى مجموعـة مكونـة مـن ١٢ صنف متنوع من الفول (*Vicia faba* L.) ، صغير، متوسط وكبير البذور (Minor, Equina, Major) بغية إبراز مختلف التغيرات الكيميائية بدراسة تنوع كمية البروتينات ومختلف المركبات الفينولية في البذرة.

هذه الدراسة أعطت النتائج التالية

- بيَّنت دراستنا الكيميائية ارتفاع واضح في الكم البروتيني في جميع أصناف الفول.
- أثبتت الهجرة الكهربائية للبروتينات الكلية ارتفاع نسبة البروتينات وتنوعها في الفول [Albumines (67 kDa), Globuline,Vicilline (50 kDa)].
- دراسة كيميائية للنبات (البذرة) وذلك عن طريق دراسة كمّية للمركبات الفينولية (التانينات المكثفة) التي بيَّنت تنوع على مستوى الكم التانيني "949 T(183±9.66), Aquadulce (132.19±1.53).

المقدمة

يعتبر الغذاء الذي يرجع أساسه إلى المصادر النباتية غذاء صحيا، والبقوليات هي أهم ما استغله الإنسان من المجموعة النباتية خاصة في بلدان العالم الثالث. ويرجع إحجام الدول المتقدمة عن استهلاك البقوليات لعدة أسباب أهمها طول مدة طهيها، نقص الطرق المستعملة في طبخ البقوليات، إضافة إلى وجود عوامل الانتفاخ في البقوليات. أما السبب الرئيسي في إحجام الدول المتقدمة عن تناول الأغذية البقولية هو احتوائها على المواد المضادة للتغذية والتي من أهمها المركبات الفينولية (التانينات المكثفة) فتفاعلها لا غذائي حيث تعتبر من أهم مثبطات الإنزيمات الهضمية بالرغم من أن لها دور إيجابي مقابل ذلك فهي مواد معالجة بيولوجية. تناول الفول بطريقة منظمة (٥٠٠ مجم/ اليوم لرجل وزنه ٧٠ كجم) يؤدي إلى تفادي الكثير من أمراض العصر كإنخفاض نسبة الكوليسترول الإجمالي ب٧% وكوليسترول LDL ب٦% (**Catherine *et al* 2002**).

من هذا المنطلق استمدت فكرة بحثنا، التي كانت حول كمية التانينات المكثفة في الفول (*Vicia faba* L.) باعتباره النبات البقولي الأكثر استعمالا في الدول العربية ومدى اختلاف هذه الكمية بتنوع الأصناف المدروسة من جهة و علاقتها بالكم البروتيني من جهة أخرى.

المواد والطرق

١- المادة النباتية

تمت الدراسة على اثنا عشر (١٢) صنفا متنوعا من الفول *Vicia faba* L. مختلفة المصدر وهي

(سلم البحث في ١ ديسمبر ٢٠٠٧)
(قبل للنشر في ٢٨ يناير ٢٠٠٨)

تحت الأصناف الكبيرة الحجم			تحت الأصناف المتوسطة الحجم			تحت الأصناف الصغيرة الحجم		
الصنف	المصدر	لون الغلاف	الصنف	المصدر	لون الغلاف	الصنف	المصدر	لون الغلاف
Reina Blanca	اسبانيا	بني	Séville	ICARDA	بني فاتح	Alfred	INRAT	بني فاتح
Aquadulce	اسبانيا	بني	New mammouth	ICARDA	بني	Blandine	INRAT	رمادي
645-3F	ICARDA	بني فاتح	Aquadulce locale	الجزائر	بني	245(9)	INRAT	أسود
949T	ICARDA	بني داكن	S613	ICARDA	بني فاتح			
F84	INRAT	بني						

٢- تقدير البروتينات

تم تقدير البروتينات تبعا لطريقة **Lowry *et al* (1951)** وفقا للمراحل التالية

٢-١- الاستخلاص

أخذنا ١جم من المادة النباتية [غلاف، لب، بذرة كاملة (غلاف+لب)] وأضفنا ٥ ملل ماء مقطر مع درجة حرارة متوسطة ورج على جهاز الرج لمدة تختلف باختلاف المادة النباتية المستعملة، ثم طرد مركزي لمدة ١٠ دقائق (١٢٠٠٠ دورة / دقيقة).

٢-٢- منحنى المعايرة

تم باستعمال Séreum Albumune Bovine (BSA) وهذا بعد عملية تخفيف لـ **BSA** التجاري (٥٠٠ مجم/ملل) - **الشكل (١)**.

٢-٣- المعايرة

١ ملل من المستخلص يضاف إليه ٥ ملل من الخليط الذي يتكون من:

١) ٠,٥ سم^3 من محلول كربونات الصوديوم بتركيز 2% ($Na_2 Co_3$) و Na OH 0.1 mol/dcm^3

٢) ٠,٥سم^3 من محلول طرطرات ثنائي الصوديوم و البوتاسيوم بتركيز ٢%.

٣) ٥٠ سم^3 من محلول كبريتات النحاس ١% (Cu $SO_4 . 5H_2O$) في الماء المقطر.

بعد الرج تترك ١٠ دقائق على درجة حرارة عادية.

٢-٤- تفاعل التلوين

٠,٥ ملل من Folin Ciocalteu (مخفف ٣ مرات) مع رج كل أنبوب مباشرة .

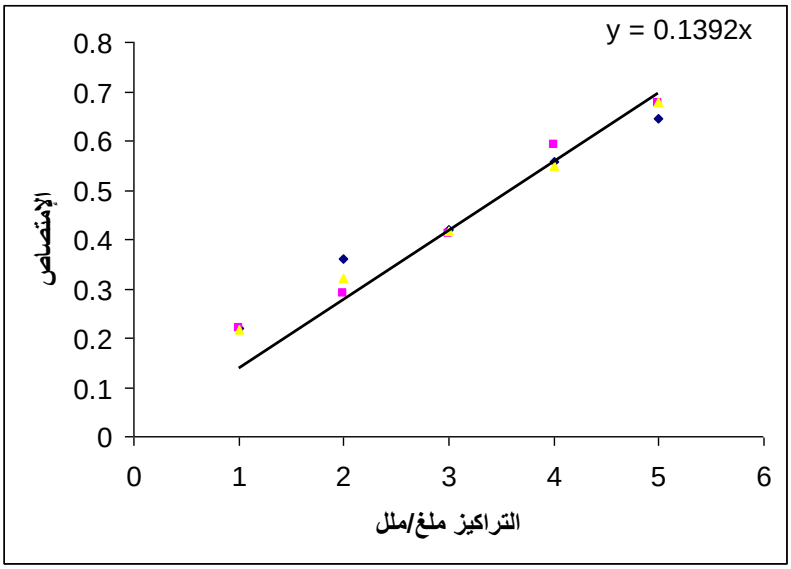
٢-٥- تقدير البروتين

تقرأ الكثافة الضوئية على طول موجة ٦٥٠ نانومتر مع إلغاء قيمة المقارنة.

٣- الهجرة الكهربائية للبروتينات الكلية

٣-١- أساس الهجرة الكهربائية

تقنيات الهجرة الكهربائية أحادية البعد هي التي اقترحها **Laemmli (1970)** والمعدلة من طرف



شكل رقم ١. المنحنى المعياري للـ BSA (تركيز BSA بمللجرام/مل)

Payne and Corfield (1979) وتعتمد على مبدأ حركية الجزئيات البروتينية في وسط هلامي (Gel) موجود داخل حقل كهربائي فتكون حركية وانتقال البروتينات من القطب السالب إلى القطب الموجب وهذا بعد إلغاء شحنة البروتينات الطبيعية وإحاطتها بشحنة سالبة بفعل كبريتات دودسيل الصوديوم SDS .

٣-٢- استخلاص البروتينات الكلية للفول *(Vicia faba* L.)

تم الاستخلاص وفق طريقة **Payne and Corfield (1979)** انطلاقا من دقيق الفول .

٣-٣- شروط الهجرة

تملأ حاوية أو جهاز الهجرة الكهربائية بحجم كافي من محلول الهجرة حيث تكون درجة الحرارة ثابتة ١٠°م وهذا بوجود نظام التبريد ، كمية كهربائية ٨٠ أمبير وضغط ١٢٠ فولت كحد أقصى فتتم هجرة البروتينات نحو القطب الموجب (+) Anode باعتبارها تحمل شحنة سالبة.

٣-٤- التلوين

تثبت البروتينات بواسطة حمض ثلاثي كلور أستيك أسيد TCA ٦٠% بوجود أزرق الكوماسي (Coomassie briliant blue R-250) خلال ٢٤ ساعة تحت الرج أو الخلط.

٣-٥- قراءة بيان الهجرة الكهربائية

تقرأ بيانات الهجرة الكهربائية على حسب حركة وكثافة الحزم والبنود مقارنة ببنود المقارنة.

٣-٦- تحديد الوزن الجزيئي للبروتينات

توجد علاقة خطية بين لوغاريتم الوزن الجزيئي والإنتقال الكهربائي داخل الجيل وهذه التقنية استعملت لتحديد الوزن الجزيئي للبروتينات.

نقوم بإنشاء منحنى المعايرة $F(d) = Log_{(PM)}$ ، بمعرفة البعد المحدد من طرف كل بند ويتم إيجاد الوزن الجزيئي لكل بروتين.

٤- تقدير التانينات

٤-١- تقدير الفينولات الكلية

بواسطة طريقة (Bleu de Prusse) - (**Price and Butler, 1977**).

المحاليل

١- كلوريرفيريك " $Fecl_3$ 0.1M في HCL 0.1M "

٢- هيكزاسيانوفيرات البوتاسيوم K_3F_e M 0.008 $(CN)_6$ في ماء مقطر.

قراءة الكثافة الضوئية على طول موجة 725nm (نانومتر).

٤-٢- قدير التانينات المكثفة

اختبار بيتانول HCl (Butanol HCl)

المحاليل

١) حمض الكلوهيدريك ٥% في البيتانول .

٢) كبريتات الأمونيوم فيريك "$NH_2Fe(So_2)$ ، $12(H_2o)$ ٢% في HCl ".

طريقة التقدير

٠,٥ ملل من المستخلص + ٦ ملل (BuoH-HCl) + ٠,٢ من التفاعل (٢) مع الرج ووضعها في حمام مائي لمدة ساعتين (حتى تعطي لون أحمر تختلف درجة احمراره باختلاف الأصناف) في درجة حرارة الغليان (١٠٠°م) ثم إخراجها وتبريدها تحت الماء ثم قراءة كثافتها الضوئية على طول موجة ٥٥٠ نانومتر. فالكثافة الضوئية تسمح لنا بحساب كمية التانينات المكثفة من التركيبة التالية:

$$T\% = \frac{DO.V.D}{E.P}$$

T%= تركيز التانينات المكثفة

DO= الكثافة الضوئية

V = حجم المستخلص الكلي

D = معامل التخفيف

E = ١٥٠ معامل الإستخلاص الكلي (**Bathe Smith, 1979**)

P = وزن المادة الجافة

اختبار الفانيلين (Price *et al* 1978)

المحاليل

١- الفانيلين (Vanilline) ٥,٨% في المثانول (Methanol)

٢- حمض الكلورهيدريك (Acide Chlorhydrique) ٢٤% في المثانول (Méthanol).

خلط (١) مع (٢) حجم/حجم فقط قبل الاستعمال مباشرة.

طريقة التقدير

١ ملل من المستخلص + ٥ ملل من تفاعل (Vanilline-HCl) ترك التفاعل ٢٠ دقيقة في حمام مائي (٣٠°م) وبعدها قراءة الكثافة الضوئية على طول موجة ٥٠٠ نانومتر.

النتائج والمناقشة

١- البروتينات

أ- بروتينات البذرة (الفلقتان)

أثبتت دراسة البروتينات في البذرة الداخلية ارتفاع نسبة البروتينات في الفول (*Vicia faba* L.) من جهة وتنوع وراثي واضح من جهة أخرى وهي نتائج توافق نتائج (**Bouatrous, 2002**) فمقدار البروتينات يختلف من صنف إلى آخر (**الجدول١، الشكل٢**)، بالربط مع الدراسة المورفولوجية فأهم ملاحظة هي أن الأصناف المتأخرة هي التي تحتوي على النسب البروتينية الأعلى.

الدراسة الاحصائية قسمت ١٢ صنف المدروسة إلى عدة مجموعات من الأصناف:

- المجموعة A: تضم الصنف Blandine بنسبة تقدر بـ ٣٢,٦٨ % .
- المجموعة B: تضم الأصناف [Alfred, S613, Seville, New mammouth, 245(9)] وهي أصناف

متوسطة الكم البروتيني مابين ٢٤,٧٦ و٦٧,٦٢%.

- المجموعة C: وتضم الأصناف ضعيفة الكم البروتيني 6453F (٢١,٠٢%)، F84 (١٧,٩٩%)، Reina blanca (١٧,٧٨%) و949T (١٧,٥١%). وهذه النتائج توافق نتائج **Crevieu (1999)** الذي بين أن مقدار البروتينات في الفول والبازلاء يصل إلي ٣٤ %.

ب- بروتينات القشرة

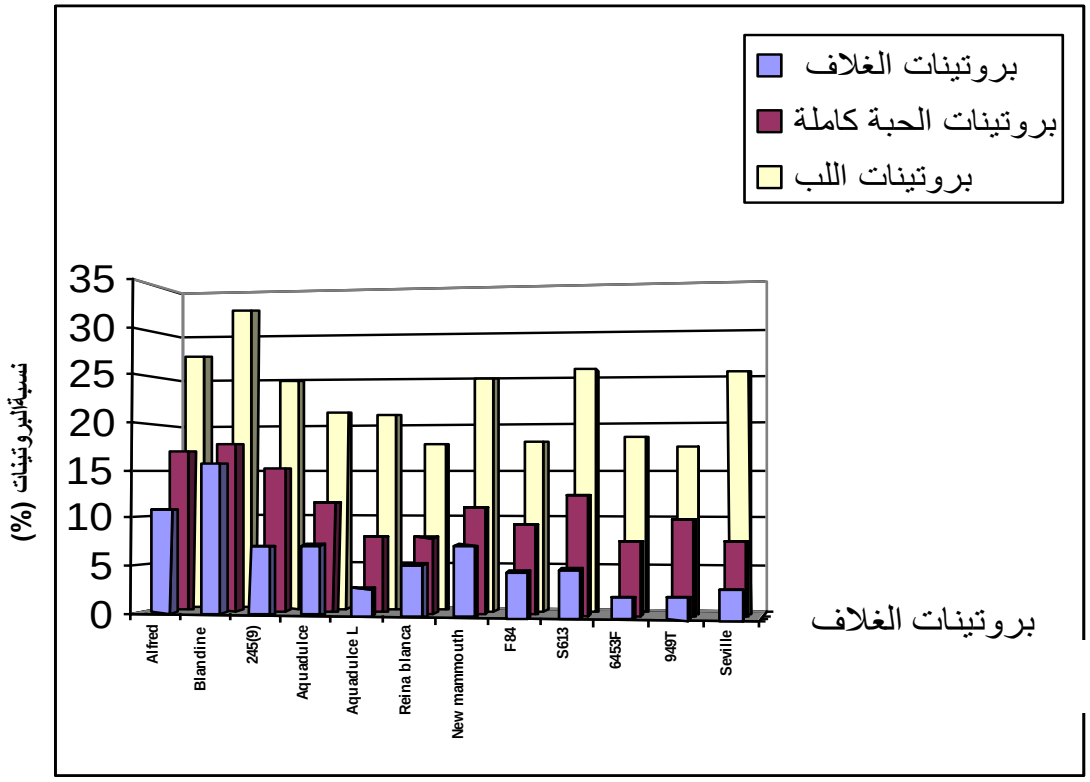
أثبتت النتائج أن القشرة أو الغلاف يحتوي نسب ضعيفة جدا من البروتينات مقارنة بالبذرة الداخلية (الفلقتان)، فتركيب ومكونات الغلاف في الفول معروفة بحضور الفلافونويدات ومتعددات الفينول (التانينات المكثفة) فهي التركيبة الأساسية ذات القيمة الزراعية، الغذائية والصناعية للفول وهذه الأخيرة تؤدي إلى نقص كبير في التركيب البروتيني للغلاف، حيث تجري عدة بحوث على مستوى مختبرات بيوتكنولوجيا النبات للتعرف على مقدار هذا النقص باعتبار أن التركيب الوراثي (الجينات) هي التي تتحكم في التركيب الكيميائي للغلاف خاصة التركيب الحيوي للبروتينات حيث يوجد في الفول والبازلاء حوالي ١٨ جين يتحكم في نوعية وكمية البروتينات في الفلقتان والغلاف **(Bernard *et al* 2005)**.

ج- المحتوى البروتيني في البذرة كاملة (فلقتان وغلاف)

أثبتت الدراسات أن كمية البروتينات في بذرة الفول متوسطة إلى ضعيفة في جميع الأصناف وهذا بسبب حدوث معقدات بين التانينات الموجودة في القشرة وبروتينات البذرة الداخلية. الدراسة الإحصائية قسمت الأصناف ١٢ تحت الدراسة إلى عدة مجموعات **(الجدول١ والشكل ٢)** ، وما نلاحظه من خلال نتائج اختبار (Newman) ارتفاع نسبة البروتينات في الأصناف ذات الغلاف الأقل تلوين (أقل محتوى تانيني).

الجدول ١. نسبة البروتينات في مختلف أجزاء البذرة (٪)، (الفلقتان ، الغلاف، البذرة كاملة).

الأصناف	بروتين (%)		
	الفلقتان	الغلاف	غلاف+فلقتان
Blandine	٣٢,٦٨ ±٠,٢٢	٥,٦٢ ±٠,١٢	١٧,٩٥ ±٠,١٧
Alfred	٢٧,٦٢ ±٠,١١	٩,٣٤ ±١,٠٢	١٧,٠٨ ±٠,٠٩
245(9)	٢٤,٩٦ ±٠,١٢٨	٨,٨١ ±٠,٠٩	١٥,٢٠ ±٠,١٥
949T	١٧,٥١ ±٠,١٢	٢,٢٨ ±٠,١٢	١٠,٠٣ ±٠,٠٩
Aquadulce	٢١,٣٧ ±٠,١٣	٧,٤٠ ±٠,١٢	١١,٤٩ ±٠,٠٨
Reina blanca	١٧,٧٨ ±٠,١٣	٥,٢٥ ±٠,٢٨	٧,٩٤ ±٠,٢٠
Aquadulce local	٢١,٠٢ ±٠,٢٥	٢,٧٩ ±٠,١٥	١٠,٩٣ ±٠,١٥
New mam-mouth	٢٤,٩٦ ±٠,٠٩	٧,٣٠ ±٠,١٩	١١,٠٤ ±٠,٠٦
Seville	٢٥,٣٨ ±٠,٣٨	٣,٠٦ ±٠,٠٧	٧,٨٨ ±٠,١٥
6453F	١٨,٥٣ ±٠,١٩	٢,١٨ ±٠,٠١	٧,٦٥ ±٠,١٣
S613	٢٥,٦٨ ±٠,٢٣	٤,٩٧ ±٠,٠٢	١٢,٣٩ ±٠,٠٩
F84	١٧,٩٩ ±٠,١٢	٤,٩٧ ±٠,٠٥	٩,٣٢ ±٠,٠٤



الشكل ٢. تنوع المحتوى البروتيني

٢- الهجرة الكهربائية للبروتينات الكلية

لقد استعملنا بروتينات مقارنة معلومة الوزن الجزيئي في بيان الهجرة الكهربائية **(جدول ٢)** وهذا ما سمح لنا بتحديد مختلف الأوزان الجزيئية لبروتينات الأصناف المدروسة بواسطة منحنى قياسي.

من خلال المعلومات المعطاة عن بروتينات المقارنة رسمنا منحنى قياسي الذي سمح لنا بحساب الأوزان الجزيئية لكل حزمة بروتينية (Band) والذي بدوره يمثل تحت وحدة بروتينية ممثلة في الجل (الهلام) وهذا باختلاف النسبة بين البعد المحدد من طرف الحزمة البروتينية والطول الكلي للجل (Rf ١٥,٦سم).

الجدول ٢. بروتينات المقارنة

البروتينات	Rf	(kD) PM	Log_{10}
Phosphorylase b	٠,٢٧٥	٩٤	٤,٩٧
Albumine	٠,٤٨١	٦٧	٤,٨٢
Ovalbumine	٠,٦٨٦	٤٣	٤,٦٣
Anhydrase Carbonique	٠,٧٤٣	٣٠	٤,٤٨
Trypsine Inhibiteur	٠,٨٠٨	٢٠	٤,٣٠

التحليل البياني للهجرة الكهربائية

التحليل البياني للهجرة الكهربائية يبين لنا عدة نتائج وملاحظات:

١- تنوع البروتينات في الجل (الهلام)

الشكل (٣) يبين التنوع الواضح في الحزم من حيث سمكها، كثافتها وحركتها (كثيفة جدا ، قليلة الكثافة، ومتوسطة الكثافة) فقد ظهر لنا ٣٢ حزمة.

تنوع البروتينات الكلية في الفول تم توضيحه بتقسيم الحزم الموجودة في الجل إلى ثلاث مناطق:

- **المنطقة التي تضم تحت الوحدات البروتينية ذات الوزن الجزيئي المرتفع HPM (المنطقة العليا)**

تضم البروتينات التي يتراوح وزنها الجزيئي من ٥٠ إلى أكثر من ١٣٠ أهمها albumines (٦٧ kDa)، phosphorylases b (94 kDa) ، Vicilline (٨٠kDa)، Couvicilline (280-210kDa) إضافة إلى Lectine (50 kDa) وهى أهم البروتينات الموجودة في الفول (. *Vicia faba* L) وهذه المنطقة تضم حوالي ١٥ حزمة.

- **المنطقة التي تضم تحت الوحدات البروتينية ذات الوزن الجزيئي المتوسط (MPM)**

تضم البروتينات ذات الوزن الجزيئي المتوسط يتراوح بين (٣١ إلى ٥٠ kDa) تكون البروتينات أكثر وضوحا نظرا لقلتها أي أن عدد الحزم قليل نوعا ما حوالي ٧ حزم أقل كثافة من بروتينات الطبقة العليا (HPM) باستثناء الحزمة (١٠,٦سم) التى كانت كثيفة جدا .

- **المنطقة التي تضم تحت الوحدات البروتينية ذات الوزن الجزيئي المنخفض (FPM)**

تكون ما بين ٣١ إلى ١٩ kDa تضم ٩ حزم ما بين ضعيفة الكثافة ومتوسطة في معظمها ما عدا ١٤,٧ سم (كثيفة جدا) و ١٥,٥ سم (كثيفة).

٢- تنوع البروتينات في كل صنف

ما نلاحظه من بيان الهجرة الكهربائية كملاحظة أولى هو ارتفاع كبير في عدد الحزم أو الوحدات البروتينية في جميع الأصناف المدروسة للفول (*Vicia faba* L.) حيث بلغ عدد الحزم ٣٢ حزمة، ومقارنة بنباتات أخرى تعتبر هذه النسبة مرتفعة جدا فمثلا يبلغ عدد الحزم الممثلة لتحت الوحدات البروتينية لنبات الشيح صنف (Artemisia herba alba asso) باعتباره نبات طبي يحتوي نسبة معتبرة من البروتينات، ٢٣ حزمة مختلفة الكثافة والترداد وهي نسبة مرتفعة مقارنة بنباتات أخرى ومنخفضة مقارنة بالبقوليات خاصة الفول **(Betina, 2004)**. كما نلاحظ تنوع كبير في هذه الوحدات البروتينية بتنوع الأصناف المدروسة للفول فكل صنف يحتوي وحدات مرتفعة ، متوسطة ومنخفضة الوزن الجزيئي والاختلاف الموجود هو عدد الوحدات وكثافتها ، فنجدها بعدد مرتفع في الصنف Aquadulce (٢٨ حزمة) وكذلك (New mammouth, Séville, Aquadulce local) (٢٦ حزمة) وهي الأصناف التي تحتوي على نسب مرتفعة من البروتينات بعد عملية التقدير (طريقة لوري) حيث تراوحت النسب بين ٢١,٣٧% (Aquadulce) إلى ٢٥,٤٣% (Seville)، على عكس الصنف 949T الذي يتميز بعدد منخفض من الحزم (١٤ حزمة) **والجدول (٣)** يوضح مختلف هذه الحزم وتنوعها باختلاف الأصناف.

٣- تنوع ترداد الحزم

بلغ عدد الحزم المبينة في الجل ٣٢ حزمة متنوع الكثافة ذات ترداد مختلف حيث كان هذا الأخير مرتفع في الحزم (١٣,٩، ١٤,٧، ١٥,٥، ١٠,٢،٤,٩، ٥,٣، ٤,١، ٦,٢) ذات الأوزان الجزيئية على التوالي (١٩,٨٦٠، ١٧,٢٩٨، ١٨,٢٣٩، ٣٧,٧٥٧، ٩٤,٨٤١، ٨٨,٧١٥١٠، ١٠٨,٨٩٣، ٧٥,٦٨٣ كيلو دالتون (kDa) فهي مبينة في جميع الأصناف المدروسة بترداد ١٠٠%، أما الحزم القليلة التواجد فهي ذات ترداد ١٠% (٣,٩ سم، ١١٢,٧١٩ kDa) الممثلة في الصنف Reina blanca و٢٠% (الحزمة ٦,٣ سم ، ٧٤,٤٧٣ kDa) والممثلة بالصنفين F84 و New mammouth.

الجدول ٣. أهم قياسات الهجرة الكهربائية

Dpb(cm)	Int	Rf(cm)	Log_{10}(PM)	PM(KDa)
٣,٥	Tr	٠,٢٢٤	٥,٠٨٣	١٢١,٠٥٩
٣,٩	Mc	٠,٢٥	٥,٠٥٢	١١٢,٧١٩
٤,١	C	٠,٢٦٣	٥,٠٣٧	١٠٨,٨٩٣
٤,٢	Tr	٠,٢٦٩	٥,٠٣٠	١٠٧,١٥١
٤,٥	C	٠,٢٨٨	٥,٠٠٨	١٠١,٨٥٩
٤,٩	Mc	٠,٣١٤	٤,٩٧٧	٩٤,٨٤١
٥,٣	Mc	٠,٣٣٩	٤,٩٤٨	٨٨,٧١٥
٥,٨	Tr	٠,٣٧٢	٤,٩٠٩	٨١,٠٩٦
٦	Tc	٠,٣٨٥	٤,٨٩٣	٧٨,١٦٢
٦,٢	Mc	٠,٣٩٧	٤,٨٧٩	٧٥,٦٨٣
٦,٣	Tc	٠,٤٠٤	٤,٨٧٢	٧٤,٤٧٣
٦,٩	Fc	٠,٤٤٢	٤,٨٢٧	٦٧,١٤٢
٧,٢	Fc	٠,٤٦١	٤,٨٠٤	٦٣,٦٧٩
٧,٨	Mc	٠,٥٠٠	٤,٧٥٨	٥٧,٢٧
٨,٢	Fc	٠,٥٢٦	٤,٧٢٨	٥٣,٤٥٦
٨,٥	C	٠,٥٤٥	٤,٧٠٥	٥٠,٦٩٩
٩	Mc	٠,٥٧٧	٤,٦٦٨	٤٦,٥٥٨
٩,٥	Fc	٠,٦٠٨	٤,٦٣١	٤٢,٧٥٦
٩,٨	Mc	٠,٦٢٨	٤,٦٠٨	٤٠,٥٥٠
١٠,٢	Fc	٠,٦٥٤	٤,٥٧٧	٣٧,٧٥٧
١٠,٦	Tc	٠,٦٧٩	٤,٥٤٨	٣٥,٣١٨
١٠,٩	Tr	٠,٦٩٩	٤,٥٢٥	٣٣,٤٩٦
١١,٢	Fc	٠,٧١٨	٤,٥٠٢	٣١,٧٦٨
١١,٦	Mc	٠,٧٤٣	٤,٤٧٢	٢٩,٦٤٨
١٢	Fc	٠,٧٦٩	٤,٤٤٢	٢٧,٦٦٩
١٢,٥	Mc	٠,٨٠١	٤,٤٠٤	٢٥,٣٥١
١٣,٢	Tr	٠,٨٤٦	٤,٣٥٢	٢٢,٤٩٠
١٣,٦	Fc	٠,٨٧٢	٤,٣٢١	٢٠,٩٤١
١٣,٩	Mc	٠,٨٩١	٤,٢٩٨	١٩,٨٦٠
١٤,٣	C	٠,٩١٦	٤,٢٦٩	١٨,٥٧٨
١٤,٧	Tc	٠,٩٤٢	٤,٢٣٨	١٧,٢٩٨
١٥,٥	C	٠,٩٩٣	٤,٢٦١	١٨,٢٣٨

Dpb: البعد المحدد من طرف الحزمة
Int: كثافة الحزمة Rf: نسب انتقال الحزمة(سم)
PM: وزن البروتين (كيلو دالتون) C : كثيف، Tc: كثيف جدا
Mc: متوسط الكثافة Tr : خط(ضعيف الكثافة)
Log_{10}: اللوغاريتم العشري .

٣- التانينات

دراسة التانينات بتقدير الفينونات الكلية (Bleu de prusse) وتقدير (BuOH-HCl, Vanilline) أثبتت مدى تنوع الأصناف بتنوع المحتوى التانيني لـ ١٢ صنف من الفول (*Vicia faba* L.) التي تم دراستها و**الجدول (٤)** يوضح هذا التنوع. الصنف (949T) يمثل قيمة مرتفعة من التانينات المكثفة (١٨٣,٦٦ مللجم /ج) على عكس الصنف (S613) الذي يمثل كمية ضعيفة من التانينات (٣٧,٤٦ مللجم /ج) أما الصنف (Blandine) فهو خالي تماما من التانينات.اختبار (New Man keuls seuil 5%) قسم هذه الأصناف إلى عدة مجموعات على حسب اختبار (BuOH-HCl):

- المجموعة A: يمثلها الصنفين (949T, Alfred).
- المجموعة B: يمثلها الصنف (Aquadulce local).
- المجموعة C: يمثلها الصنف (Aquadulce) .
- المجموعة D: يمثلها الصنف (Seville) .
- المجموعة E: يمثلها الصنفين (F84, New mammouth) .
- المجموعة F: تمثلها الأصناف (Reina blanca, 245(9), 6453F, S613) وهي أصناف ذات محتوى تانيني ضعيف جدا مقارنة بباقي الأصناف المدروسة.
- المجموعة G : يمثلها الصنف الخالي من التانينات (Blandine).

من خلال النتائج نلاحظ أن المحتوى التانيني يختلف باختلاف لون الغلاف فنجده مرتفع في الأصناف ذات الغلاف البني (Aquadulce local, Aquadulce, 949T) على الصنف الأبيض (Blandine)، وهي نتائج توافق نتائج (**Brun *et al* 2002**).

دراسة النسبة بين كمية التانينات المكثفة (BuOH-HCl) والتانينات (Vanilline) (PA/Van) توضح لنا اختلاف درجة بلمرة التانينات باختلاف الصنف المدروس، فنجدها مرتفعة في الصنفين (949T, Seville) ومنخفضة في الصنفين (6453F, S613).

الجدول ٤. كمية الفينولات الكلية والتانينات المكثفة (ملجم/ج)

الأصناف	التانينات المكثفة		الفينولات الكلية	PA/Van
	Vanilline	BuOH-HCL	Bleu de prusse	
Alfred	٣٩,٢١ ±١,٩١	١٨٠,٦٦ ±٦	٥٢,٩٦ ±٠,٢٧	٤,٦٠
Blandine	١,٢٩ ±٠,١٤	٠	٦,٤٢ ±١,٠١	/
245(9)	٢٢,٤٥ ±٠,٤	٥٣,١٣ ±١	٦٢,٨٦ ±٠,٩٧	٢,٣٦
Aquadulce	٤٦,٩١ ±١,٦٨	١٣٢,١٩ ±١,٥٣	٨٨,٥٩ ±٨,٨٤	٢,٨١
AquadulceL	٣٦,٨٣ ±٠,٢٠	١٤٦,١٩ ±٠,٨٦	٧٠,١١ ±٢,٩٢	٣,٩٦
Reina blanca	٢٤,٨٥ ±١,٣١	٥٤,٤٣ ±٠,٢٣	٣٦,٥١ ±٠,٦٢	٢,١٩
New mammouth	٢٥,٤٩ ±٠,٧١	٨٢,٨٦ ±١,٥٣	٦٨,٩٦ ±١,٧٧	٣,٢٥
F84	٣٠,١٥ ±٠,١٤	٧٢,٢٦ ±١,٢	٣٨,١٩ ±٠,٧١	٢,٣٨
S613	١٩,٢٣ ±٠,٩٥	٣٧,٤٦ ±٣,٣	٣٣,١٥ ±١,٣٢	١,٩٤
6453F	٣٩,٤٣ ±٢,٠٩	٥٢,٣٦ ±٠,٣٦	٢٨,٢ ±٠,٨	١,٣٢
949T	٥٣,٩٤ ±٠,٨٦	١٨٣,٦٦ ±٩,٦٦	١١٦,٠٨ ±٧,٩	٣,٤٠
Seville	٢٦,٢ ±٠,٤٥	١١٥,٩٩ ±٥,٣٣	٥٦,٢٣ ±٠,٩	٤,٤٢

PA كمية Proantcyanidines (BuOH-HCL)
Van كمية التانينات المكثفة (Vanilline)

ومتوسطة في باقي الأصناف وهذا معناه أن أنواع التانينات المكثفة (Proanthocyanidines) تختلف في كل صنف. ارتفاع درجة البلمرة دليل على أن التانينات هي من النوع المرتفع الوزن الجزيئي (Polymères) **(Merghem, 1996)**.

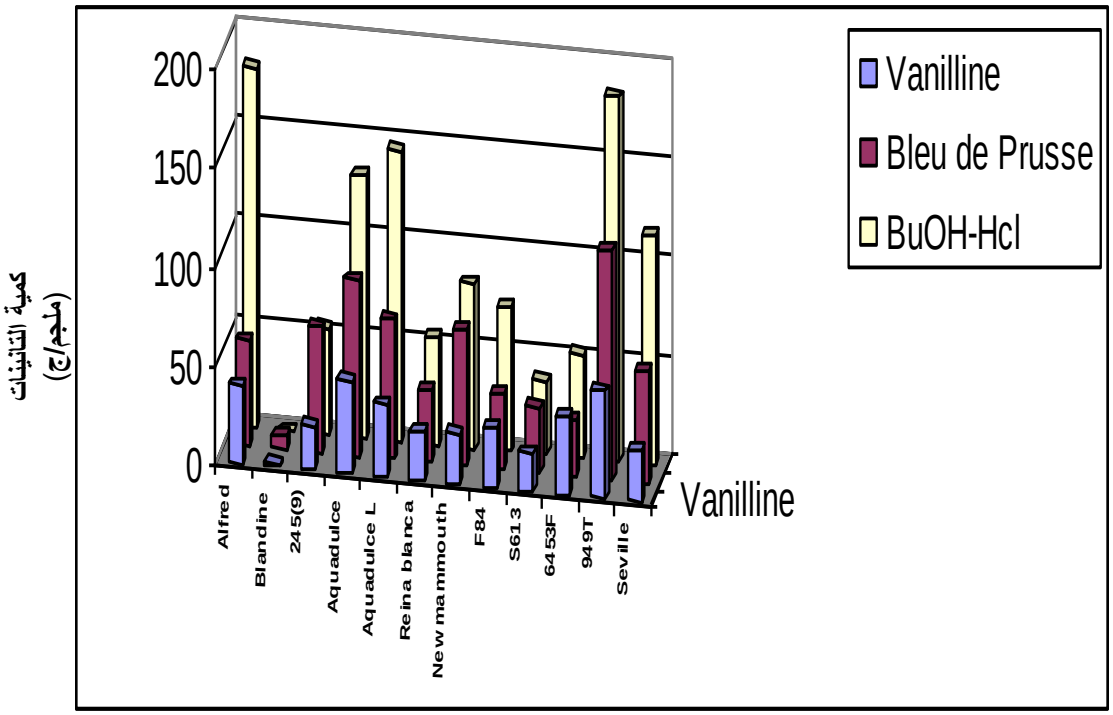
الشكل (٤) يوضح مدى تنوع المحتوى التانيني لإختلاف الاختبار المستعمل (Bleu de prusse, BuOH- HCl, Vanilline) وباختلاف الصنف.

الاستنتاجات

تم في هذا البحث العلمي تحقيق عدة نتائج تخص التنوع الحيوي للفول (*Vicia faba* L.) من حيث كمية المواد المضادة للتغذية (التانينات المكثفة) وكمية البروتينات وتنوعها بتنوع الأصناف وتنوع أجزاء البذرة.

نتائج التحاليل البيوكيميائية الكيفية (الهجرة الكهربائية للبروتينات الكلية) بينت بصورة واضحة ارتفاع كبير في عدد الوحدات البروتينية لمختلف الأصناف المدروسة بالرغم من تنوع النسب بين الأصناف ١٢ والذي أثبتته الدراسة الكمية (تقدير البروتينات)، (القشرة (٢,١٨-١٥,٦٢%) ،الفلقتان (١٧,٥١- ٣٢,٦٨ %)، غلاف + لب (٧,٦٥-١٧,٩٥%) ليبقى الفول نبات غني بالبروتينات مقارنة بأصناف أخرى كالنجيليات.

نصيحتنا للمزارعين والمستهلكين هي استعمال الأصناف التي تجمع أكبر عدد من النقاط الإيجابية أي الأصناف الأقصر دورة إنتاجية، الأكثر إنتاج، الأعلى محتوى بروتيني، الأكثر محتوى من البرولين باعتباره جهاز دفاعي يمنع تكوين المعقدات (بروتين- تانينات) و الأقل محتوى تانيني كمي ونوعي، ونقصد الأصناف التالية (New mammouth, S613). كما يمكن استعمال الصنف Blandine لتغذية الحيوانات باعتباره صنف خالي من التانينات ويحتوى على نسبة مرتفعة من البروتينات حيث تبقى كمية الإنتاج هي الجانب الوحيد السلبي لهذا الصنف فما ينصح به المزارعين هو استعمال التقنيات الزراعية الأكثر تطورا لضمان إنتاج جيد لهذا الصنف.



الشكل٤. تنوع المحتوى التانيني بتنوع الإختبارات المستعملة

REFERENCES

Bathe Smith, E.C. (1979). Photochemistry of proanthocyanidins. **Phytochemistry. 14, 1107-1113.**

Bernard, G.; P. Jean; L. Jean and H. Alexandre (2005). Fèverole de printemps et d'hiver. **Guide de Culture 2005. ARVALIS-UNIP, 35, pp. 3-7.**

Betina, S. (2004). **Etude de Génome de l'Armoise Blanche Algérienne (*Artemisia Herba Alba Asso*), pp. 74 -79.** Thèse de Magister. Univ. Constantine, Algeria**.**

Bouatrous, Y. (2002). **Etude de la Biodiversité et Amélioration Variétale de *Vicia faba* L. (Legumineusae), p. 130.** These de Magister. Univ. Constantine, Algeria.

Brun, N.; M. Jay and M. Merghem (2002). Quantitative estimations of polyphenolic compounds in *Vicia faba* L. (Legumineusae) seeds**. Cedex, France. pp. 65- 69.**

Catherine, R.; J.R. Bernard and V. Charle (2002). **Biopesticides d'Origine Végétale, pp. 170-180**. Ed. TEC et DOC.

Crevieu, N. (1999). Degestion des protéines végétales chez les monogastriques. Exemple des protéines de pois. **INRA Prod. Anim. 12: 147-161.**

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature 227: 680-685.**

Lowry, O.H.; N.J. Rosebroughi; A.L. Farr and R.J. Randall (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent**. J. Biol. Chem. 193: 265-75.**

Merghem, R. (1996). **Les Facteurs Antinutritionnels (F.A.N), Phénoliques de *Pisum sativum* L. et de *Vicia faba* L.** (Legumineusae): aspects structuraux génétiques et phénotypiques, **p. 193.** Thèse Doc. Uni. Claude Bernard Lyon. Univ. Constantine, Algeria.

Payne, P.I. and K.G. Corfield (**1979)**. Subunit composition of glutenin wheat proteins isolated

by gel filtration in a dissociating medium. **Planta 145: 83-88.**
Price, M.L. and L.G. Butler (**1977**). Rapid visual and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain**. J. Agric. Food Chem. 25: 1268-1273.**
Price, M.L.; S. Van and L.G. Butler (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **J. Food Chem. 26: 1214-1218.**

Arab Univ.
J. Agric. Sci.,
Ain Shams Univ.,
Cairo, 16(1), 3-15, 2008

ETUDE DES COMPOSEES PHENOLIQUES ET DES PROTEINES ENTANT QUE MARQUEURS DE LA BIODIVERSITE CHEZ *VICIA FABA* L.

[1]

Belattar, R.[1]; R. Merghem[1] and L. Boudour[1]

1. Laboratoire de Phytochimie, Dept. des Sciences de la Nature et de la Vie, Univ. Mentouri, Constantine, Algérie

RESUME

Notre travail porte sur l'étude d'une collection de 12 variétés de fève (*Vicia faba* L.) de différents provenances.

Après une étude agromorphologique de ces variétés nous avons entrepris; une étude biochimique (Dosages des protéines, proline et électrophorèses des protéines); une étude phytochimique afin d'apprécier la richesse en facteurs antinutritionnels phénoliques de ces graines.

L'analyse des résultas de ces différentes parties a donné

- Au niveau biochimique; d'après nos résultats on a observé une richesse en protéines au sein de l'espèce de *vicia faba* L. quelque soit la variété.
- L'électrophorèses des protéines totales confirme la richesse des protéines de *vicia faba* L [les albumines (67 KDa), Globuline, Vicilline (50 KDa)].
- Enfin l'analyse phytochimique (composées phénoliques) nous a permis de confirmer la richesse des grains colorés en composées phénoliques (tannins condensés) "949 T(183±9.66) mg/g , Aquadulce (132.19±1.53)mg/g". L'effet du temps (les facteurs de l'environnement) influe sur la coloration des grains (oxydation) et sur la polymérisation des tannins.

Mots clés: *Vicia faba* L., Biodiversité, Tannins, Protéines, Electrophorèse.

تحكيم: ا.د أحمد يوسف جبريل