به نام پروردگار بخشنده مهربان

دانشگاه اصفهان

قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی ایران

## ۱۷و۱۸ دی ماه - ۱۳۹۹، دانشگاه اصفهان، ایران

کلیه حقوق این اثر متعلق به قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان می‌باشد.
تمام مقالات صرفا از نظر علمی داوری شده‌اند و مسئولیت ویراستاری آن بر عهده نویسنده(گان) می‌باشد.

# پیام کنفرانس

در عرصه علوم زیستی و علوم زراعی و باغی، آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که دامنه وسیعی از موجودات زنده اعم از پروکایوت ها و یوکاریوت ها، موجودات تک سلولی و پرسلولی جهت حفظ و بقای خود در شرایط طبیعی و یا شرایط نامساعد زندگی از آنها بهره می‌برند. گیاهان یکی از مهمترین منابع غنی ازآنتی اکسیدان ها هستند که برای مقابله با تنش های زیستی و غیر زیستی تولید و بقای خود را تضمین می‌کنند. علاوه بر این سایر موجودات زنده از جمله انسان که امروزه در دنیایی از آلاینده ها بسر می برد و درمعرض انواع تنش های زیستی است که زندگی طبیعی او را با چالش های جدی روبرو ساخته و انواع بیماریها را بر او تحمیل نموده است. در دنیای امروز با توجه به توسعه علوم و فناوری‌های نوین آنتی اکسیدان های گیاهی به دلیل خاصیت شیمیای مطلوب خود ابزار قدرتمندی برای حذف آلاینده ها و توسعه پایدار محیط زیست و خلق صنایع مختلف چشم انداز مطلوبی را نوید می دهد. بنابراین مطالعه و بررسی دقیق علمی این طیف وسیع از تولیدات مطلوب گیاهی بر گزرای همایش ها و کنفرانس های علمی را می طلبد تا پژوهشگران حاصل مطالعات و تجربیات علمی خود را در ابعاد مختلف آنتی اکسیدان های گیاهی به اشتراک گذاشته و دستاورد های ارزشمند خود را در افق دراز مدت فرا روی بشر قرار دهند.

# سخن دبیر کنفرانس

برگزاری اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی به همت اعضا محترم هسته قطب آنتی اکسیدان های گیاهی دانشگاه اصفهان به عنوان یک رویداد علمی ارزشمند فرصت ارزنده ای است تا یافته های علمی اساتید دانشگاه و پژوهشگران در زمینه آنتی اکسیدان های گیاهی در سراسر ایران در قالب مقالات علمی بصورت سخنرانی و پوستر ارائه شود و راه مبادله اطلاعات و تجربیات علمی را بر علاقمندان به تحقیق و پژوهش در عرصه آنتی اکسیدان ها بگشاید. این کنفرانس قدم کوچکی است در جهت نیل به پاسخ دهی به سئوالات اساسی در آنتی اکسیدان ها و هدایت اندیشه ها و یافته ها به سمت هم افزایی علمی و فزونی و توسعه در بهبود محیط زیست، کارآفرینی و خلق سرمایه و ارتقا کمی و کیفی زندگی انسان های قرن حاضر که در انبوهی از تنش ها و چالش های متنوع زیست محیطی در جدال است. بدیهی است حضور اساتید ارجمند، پژوهشگران و دانشجویان عزیز در اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی این مهم را محقق خواهد ساخت و زمینه همکاری های علمی و پژوهشی بین دانشگاه ها و موسسات پژوهشی را در سراسر ایران فراهم خواهد نمود. امید که دستاوردهای این کنفرانس برای مجموعه فرهیخته کشور مفید و در ارتقا جایگاه علمی کشور و کاهش چالش های قرن حاضر قدمی هر چند کوچک بردارد.

بر خود لازم می دانم از یکی از اعضا هسته قطب آنتی اکسیدان های گیاهی مرحوم دکتر سید مجید قادریان به نیکی یاد کنم که به عنوان دبیر اجرایی کنفرانس برگزیده شد ولی با کمال تاسف در اسفند ماه سال ۱۳۹۸ دوستان خود را وانهاد و دیار حق شتافت. روحش شاد و یادش گرامی

علی اکبراحسانپور

دبیر اولین کنفرانس آنتی اکسیدان های گیاهی

# هیات اجرایی اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان‌های گیاهی

## رئیس کنفرانس

جناب آقای دکتر هوشنگ طالبی

## دبیر علمی

دکتر علی اکبر احسانپور

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# اعضای کمیته علمی کنفرانس

آقای دکتر علی‌اکبر احسانپور – استاد فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه اصفهان

آقای دکتر منصور شریعتی- استاد فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه اصفهان

آقای دکتر محسن شریفی- دانشیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه تربیت مدرس تهران

آقای دکتر پرویز احسان زاده- دانشیار زراعت و اصلاح نباتات- دانشگاه صنعتی اصفهان

آقای دکتر سید مجید قادریان- استاد فیزیولوژی گیاهی - دانشگاه اصفهان- یادش گرامی باد

خانم دکتر فائزه قناتی - استاد فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه تربیت مدرس تهران

آقای دکتر نادر چاپارزاده - استاد فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

خانم دکتر لیلا زرندی میاندوآب – استادیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

خانم دکتر مریم شهبازی- دانشیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

آقای دکتر منصور افشارمحمدیان- دانشیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه گیلان

آقای دکتر افشین توکلی- دانشیار زراعت و اصلاح نباتات- دانشگاه زنجان

آقای دکتر علی اکبر قطبی- استادیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه شهید بهشتی تهران

آقای دکتر حمیدرضا عیسوند- دانشیار زراعت اصلاح و نباتات- دانشگاه لرستان

خانم دکتر لیلا شبانی- دانشیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه شهر کرد

خانم دکتر رویا رضوی زاده دانشیار فیزیولوژی گیاهی- دانشگاه پیام نور اصفهان

# اعضای کمیته اجرایی کنفرانس

آقای مهندس جواد نوری پور سی سخت

آقای دکتر امیر حسین فرقانی

آقای محسن نیکبخت

# حامیان کنفرانس

وزارت علوم تحقیقات و فناوری جمهوری اسلامی ایران

پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC)

دانشگاه اصفهان

قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران

# گردآوری و تنظیم مجموعه مقالات

جواد نوری پور سی سخت

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# فهرست

## فهرست سخنرانی‌ها


| کد | عنوان مقاله | صفحه |
|---|---|---|
| ۱ | تشکیل رادیکال‌ها در سیستم های زیستی<br>نادر چاپارزاده و لیلا زرندی میاندوآب | ۱ |
| ۲ | اثر آب مغناطیسی بر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاهچه ذرت در تنش‌های شوری و خشکی<br>ساسان محسن زاده و مریم حق شناس | ۷ |
| ۳ | بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در ریشه های موئین بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus*) تغذیه شده با پوترسین<br>شهلا شامه، بهمن حسینی و خاویر پالازون | ۱۱ |
| ٤ | جلبک های دریایی منبع غنی از آنتی اکسیدان<br>سولماز سلیمانی و مرتضی یوسف زادی | ۱۵ |
| ۵ | مروری بر سنتز نانوذرات با استفاده از آنتی اکسیدان‌ها<br>هاجرالسادات منصوری و مهرناز کیهان‌فر | ۱۶ |
| ٦ | تغییرات فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه سویا تیمار شده با سولفید هیدروژن سدیم در شرایط تنش کادمیوم<br>نازی ستوده نیا، حکیمه علومی و سید محمد جواد آروین | ۲۰ |
| ۷ | ارزیابی کاربرد اسید آمینه گلایسین بر میزان کاروتنوئید و آنتوسیانین گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) تحت تنش خشکی<br>رستم یزدانی بیوکی و ساره خواجه حسینی | ۲٦ |
| ۸ | ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ‌های اندوفیت جداشده از گیاهان داروئی<br>سعید ملائی و مصطفی عبادی | ۳۰ |
| ۹ | کاربرد تکنیک-های بیوتکنولوژی و کشت بافت در تولید آنتی اکسیدان ها<br>لیلا شبانی | ۳٤ |

## فهرست پوسترها


| کد | عنوان مقاله | صفحه |
|---|---|---|
| ۱ | تاثیر تنش کادمیوم بر فعالیت آنتی¬اکسیدانی ارقام مختلف برنج در مرحله رویشی<br>شهریار کاظمی، سمانه افشار مقدم | ٤٠ |
| ۲ | بررسی واکنش خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ارقام مختلف برنج در مرحله رویشی تحت تنش شوری<br>شهریار کاظمی، سمانه افشار مقدم | ٤٧ |
| ۳ | بررسی تاثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گندم تحت شرایط تنش خشکی<br>شهریار کاظمی، مهسا رفعتی آلاشتی | ٥٣ |
| ٤ | معرفی منابع گیاهی بومی مولد آنتی اکسیدان کارواکرول **Carvacrol** در ایران و مقایسه با سایر منابع غیر بومی<br>سعید دوازده امامی، نگین سلطانی، لیلی صفایی | ٥٩ |
| ٥ | معرفی منابع گیاهی بومی مولد تیمول **Thymol** در ایران و مقایسه با سایر منابع غیر بومی<br>سعید دوازده امامی، نگین سلطانی ، شیلا حجه فروش نیا | ٦٢ |
| ٦ | *اثر اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در آریل¬های تازه انار*<br>مهدی رحیمی، مختار حیدری، بابک پاکدامن سردرود، محمدرضا صالحی سلمی، مصطفی رحمتی جنیدآباد | ٦٥ |
| ۷ | ظرفیت آنتی اکسیدانتی، میزان فنول کل و کاروتنوئیدها در توده های گزینش شده اسفناج بومی ایران<br>سیدعبدالله افتخاری، مختار حیدری و محمدابراهیم عازمی | ٧١ |
| ۸ | افزایش مقاومت به تنش خشکی در بادرنجبویه (***Melissa officinalis*** **L**) همزیست با میکوریز آربوسکولار از طریق القای سیستم آنتی‌اکسیدانی<br>سیده زهره صادری، پروانه ابریشم چی، علی گنجعلی، طیبه رجبیان | ٧٦ |
| ۹ | بررسی کمی و کیفی ترکیبات فیتوشیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی گیاه دارویی بادرشبویه<br>محدثه شمس الدین سعید، زهره ناتوان | ٨١ |
| ۱۰ | ارزیابی آنتی اکسیدان چند دانه ی گیاه مورد مصرف در طب سنتی ایران<br>سمیرا جهان تیغ | ٨٦ |
| ۱۱ | بررسی اثر گلیسرول بر سنتز لیپید در جلبک سبز ***Dunaliella salina***<br>نرگس شریفیان، منصور شریعتی | ٨٩ |
| ۱۲ | اثر کمپوست سبز و ریزجلبک کلرلا بر پتانسیل آنتی اکسیدانی گیاه | ٩٣ |

ساسان محسن زاده ومریم کرمی دارنجانی

۱۳ پاسخ‌های آنتی اکسیدانی دو رقم بومی انگور به تیمار قطع کامل آبیاری و آبیاری مجدد ..... ۹۷
افسانه باباجمالی، مهدیه غلامی

۱٤ تاثیر تغذیه با پیش‌ساز اورنیتین بر برخی خصوصیات رشدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus* L). ..... ۱۰۱
زرین صادقی، بهمن حسینی، احد هدایتی

۱۵ تاثیر هورمون ها بر محتوای آنتی اکسیدانی ریشه گل سازوئی ***Scrophularia striata*** ..... ۱۰٦
زینب رستمی ، آرش فاضلی

۱٦ مطالعه فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی گل در دو گونه گل گاوزبان ایرانی رویش یافته در غرب کشور ..... ۱۱۱
یاور وفایی، حسین معروفی

۱۷ بررسی میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت ضداکسایشی عصاره هیدروالکلی ریشه، برگ و گل دو گونه گل گاوزبان ایرانی..... ۱۱٦
یاور وفایی، حسین معروفی

۱۸ مقایسه نقش آنزیم های آنتی اکسیدانی در تحمل به تنش خشکی در گیاهان طبیعی وموتانت **M1** کرچک .... ۱۲۰
سارا شریفی سلطانی، سید کمال کاظمی تبار، غلامعلی رنجبر، علی پاکدین پاریزی، حمید نجفی زرینی

۱۹ بهینه‌سازی تولید فیکوسیانین در ***Spirulina*** با استفاده از روش **RSM** ..... ۱۲٤
لیلا زرندی میاندوآب، انیس رنجبرزاد حق، نادر چاپارزاده

۲۰ نقش مالتوز بر افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی پسته (***Pistacia vera*** L) رقم احمدآقایی ..... ۱۲۹
اکبری افزادی، جواد و پاک کیش، زهرا

۲۱ نقش آهن در بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی میوه توت فرنگی (***Fragaria* × *ananassa*** Duch.) رقم کاماروس ..... ۱۳۲
ضیا ابراهیمی مهدی و پاک کیش، زهرا

۲۲ اثر برهمکنش شوری و جیبرلیک اسید بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه سویا ..... ۱۳۸
بهزاد امرایی

۲۳ ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدان به‌وسیله سه روش **DPPH**، **FRAP** و**ABTS** ..... ۱٤۲
منصوره آقاسی زاده شعرباف، وحیده پیام نور

۲٤ افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی میوه پرتقال : نقش دامینوزاید ..... ۱٤۸
طیبه حیدری و زهرا پاک کیش

۲۵ بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه مورینگا اولیفرا (*Moringa Oleifera*) ..... ۱۵۳
آسیه امامی نژاد، محمد فضیلتی، فاطمه دانشمند، سعید حبیب‌اللهی

۲۶ تیمار سیلیکون سبب تغییر فعالیت آنزیم‌های POD و SOD تحت تنش آبیاری در گیاه گوجه فرنگی می‌شود ۱۵۷
علی پاکدین پاریزی، سیده فاطمه موسوی رینه، بهاره جلالی کلکناری، طوبی احمدی، علی راعی و مصطفی حق‌پناه

۲۷ اثر پرایمینگ بور (B) بر محتوای آنتی‌اسیدانی گیاهچه کینوا (*Chnopodium quinoa* willd) ..... ۱۶۲
علی منصوری، حشمت امیدی، امیر بستانی

۲۸ اثر پرایمینگ بور (B) بر محتوای آنتی اکسیدانی گیاهچه گندم (*Triticum aestivum*) ..... ۱۶۷
علی منصوری، حشمت امیدی

۲۹ تاثیر تیمار پس از برداشت فولیک اسید در افزایش عمر انبار مانی میوه هلو در دمای پایین ..... ۱۷۱
حمید برآوردی و زهراپاک کیش

۳۰ بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شش اکوتیپ آویشن شیرازی، تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، γ-ترپینن و لینالول در برابر گونه‌های فعال اکسیژن ..... ۱۷۵
فاطمه رحیمی، سید مجتبی قوامی

۳۱ تاثیر سطوح مختلف شوری بر روی مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین دانه رست های *Origanum vulgar*..... ۱۷۹
میثم کشتکار گروسی، فروغ سنجریان، علاالدین کردناییج

۳۲ مطالعه برخی ترکیبات آنتی اکسیدان و فعالیت آنتی اکسیدانی پوسته سبز فندق، بادام، گردو و پسته ..... ۱۸۳
فاطمه دانشمند

۳۳ اثر سینامیک اسید بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی و طول اندام هوایی و ریشه گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica* L.) تحت شرایط تنش شوری کشت در شیشه ..... ۱۸۸
الهام محققیان، علی اکبر احسانپور

۳۴ بررسی اثر عنصر روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کینوا (*Chnopodium quinoa* willd) تحت تنش خشکی ..... ۱۹۳
زهرا سلیمانی نیا و احمد مهتدی

۳۵ سنجش فنل کل در گیاه آویشن تحت تنش خشکی ..... ۱۹۷
پوریا احمدی رکابدار کلایی، فروغ سنجریان

۳۶ تاثیر علف کش پاراکوات بر میزان تولید بتاکاروتن و ROS کل در جلبک سبز *Dunaliella*. ..... ۲۰۰
مرضیه صفری، منصور شریعتی

۳۷ اثر ریزوباکتری های محرک رشد بر پرولین و برخی آنزیم های آنتی اکسیدانت در گیاه شیرین بیان تحت تنش شوری ..... ۲۰٤
مدرس آزادی، ستاره امانی فر، محسن ثانی خانی
۳۸ پاسخ برخی از آنتی اکسیدان ها به تنش شوری در گیاه تنباکو(*Nicotiana rustica*)باززایی شده از ریشه .... ۲۰۸
فریبا سادات فاتحی و علی اکبر احسانپور
۳۹ بررسی ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) از نظر محتوای آنتوسیانین ..... ۲۱۲
سمیه وقاری و آرش فاضلی
٤۰ اثر گلایسین بتائین بر برخی از شاخص های فیزیولوژیکی گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica*) تحت تنش شوری در کشت در شیشه ..... ۲۱٦
پروین یاوری، علی اکبر احسانپور
٤۱ ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه‌های موئین غاصول صابونی تیمار شده با نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید ..... ۲۲۰
احد هدایتی، حسین هنری، الناز نوروزی، سیاوش همتی
٤۲ بررسی تأثیر کاربرد همزمان فنیل آلانین و محرک قارچی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در کشت ریشه‌های موئین زرین گیاه ..... ۲۲۵
سودابه محافظی، بهمن حسینی، الناز نوروزی پاکزاد
٤۳ اثرقارچ میکوریزآربوسکولاربر برخی پاسخ های آنتی اکسیداتیو گیاه سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis* L) تحت تنش کم آبی ..... ۲۳۱
سمیه نقدی،زهره طغرانگار، الهه وطن خواه، مهناز وفادار، ستاره امانی فر
٤٤ بررسی میزان پراکسید هیدروژن و محتوای کاروتنوئید کل در دانه رستهای گیاه*Medicago sativa* (رقم قره یونجه) تحت تیمار رنگ نساجی ..... ۲۳٦
کبری نقی بیرانوند، مریم مددکار حق جو، حمیدرضا عیسوند
٤۵ مقایسه اثر نانو ذرات اکسید روی و نمک های سولفات روی و نیترات روی بر آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه سویا ..... ۲٤۱
یلدا قربانی، فرزانه نجفی، رمضانعلی خاوری نژاد، عبدالحمید انگجی
٤٦ اثر تنش شوری بر فعالیت آنتی اکسیدانی دو گیاه دارویی زیره سیاه و سبز ..... ۲٤۵
معروف خلیلی، ابوالفضل توسلی، محمدرضا نقوی
٤۷ اثر جیبرلیک‌اسید بر برخی شاخص های فتوسنتزی موثر بر فعالیت آنتی اکسیدانی نشاء *Cyclamen* "" ۲۵۰

*Mill persicum* .....

بدری غلامیان دهکردی، سعید ریزی، مسعود قاسمی قهساره، پریا دهخدائی

۴۸ بررسی پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ده ژنوتیپ *Lolium perenne* تحت تنش خشکی با و بدون قارچ اندوفایت ..... ۲۵۴

فاطمه رئیسی وانانی، لیلا شبانی، محمدرضا سبزعلیان

۴۹ بررسی میزان ترکیبات فنلی تام، پتانسیل آنتی اکسیدانی وکشندگی سلولی صمغ گیاه*Ferula gummosa* برسلولهای PC-3 ..... ۲۵۹

فاطمه ایزدی فرد، مجید تفریحی،مریم مهاجرانی

۵۰ ارزیابی کاربرد سطوح مختلف دی اکسیدکربن و محلول پاشی اتانول بر میزان پروتئین محلول، فعالیت آنزیم های پلی‌فنل‌اکسیداز، گایاکول پراکسیداز و خواص آنتی اکسیدانی ریحان ..... ۲۶۳

عزت دارابی حسین‌آباد قاینی، محمد مقدم ، محمود شور

۵۱ اثر گلوکز بر روی فعالیت پمپ $H^+$-ATPase جلبک تک سلولی *Dunaliella salina* ..... ۲۶۷

سحر نویدنژاد و منصور شریعتی

۵۲ تغییرات فنول کل، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدان گیاه سالیکورنیا در پاسخ به تنش شوری در شرایط هیدروپونیک ..... ۲۷۲

*هاجر محبتی نژاد، امیر حسین فرقانی، محمد فظیلتی*

۵۳ اثر زمان و نوع محلول‌پاشی بر میزان کاروتنوئید و تانن در گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis*) تحت تنش خشکی ..... ۲۷۶

ساره خواجه حسینی، رستم یزدانی بیوکی، محمّدتقی عبادی

۵۴ فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه جو تحت تاثیر کاربرد کود زیستی، بقایای گیاهی و تنش آبی ..... ۲۸۱

وحید براتی و مریم نیازی

۵۵ اثر محلول‌پاشی نانوکودپتاسیم روی خصوصیات آنتی اکسیدانی و فیتوشیمیایی عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana*) ..... ۲۸۶

مهدی خدمتکار، حبیب شیرزاد، ابوالفضل علیرضالو، راحله طهماسبی

۵۶ اثر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید روی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana*) ..... ۲۹۰

مهدی خدمتکار، حبیب شیرزاد، ابوالفضل علیرضالو، راحله طهماسبی

۵۷ بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر تغییر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز در خیار تحت شرایط بیماری پژمردگی فوزاریومی..... ۲۹۴
مسلم زارع، قربانعلی نعمت زاده، سید کمال کاظمی تبار، علی دهستانی، ولی اله بابایی زاد

۵۸ بررسی اثرات سیتوتوکسیک و آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه مریم نخودی شیرازی (*Teucrium persicum*) بر سلول های ملانومای سرطانی A-375 .....
آناهیتا نعیمی، مجید تفریحی، مریم مهاجرانی

۵۹ اثر کاربرد PGPRو قارچ میکوریزا بر میزان آنتی اکسیدان های بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) ..... ۲۹۹
فاطمه محمدی کامزدی

۶۰ تغییرات فصلی و ارتفاعی آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در برگ گونه بلوطایرانی در جنگل‌های زاگرس جنوبی، ایلام ..... ۳۰۶
کبری عزیزی، حمیدرضا ناجی

۶۱ ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های حساس و متحمل برنج به تنش شوری ..... ۳۱۰
فرهاد باقری، همت اله پیردشتی، مرتضی اولادی، مریم جنابیان

۶۲ تاثیر تنش شوری بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی چند ژنوتیپ برنج ..... ۳۱۵
فرهاد باقری، همت اله پیردشتی، مرتضی اولادی، مریم جنابیان

۶۳ تاثیر کیتوزان بر دفاع آنتی اکسیدانی گیاهچه های زنیان(*Carum copticum*)تحت تنش خشکی در شرایط کشت درون شیشه ..... ۳۱۹
زهرامسیبی، رویا رضوی زاده، امیر حسین فرقانی

۶۴ اثرات کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد موثره زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*) ..... ۳۲۳
رویا رضوی زاده، فاطمه ادب آوازه

۶۵ ارزیابی اثر نانوذره اکسید سیلیس (nano-SiO2) بر صفات آنتی اکسیدانی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کادمیوم ..... ۳۲۷
راضیه رحمتی زاده، رشید جامعی ، محمد جواد آروین

۶۶ تاثیر نانوذره اکسید آهن (nano Fe$_3$O$_4$) بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کادمیوم ..... ۳۳۱
راضیه رحمتی زاده، محمد جواد آروین، رشید جامعی

۶۷ تأثیر سولفات روی و تلقیح قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مرحله جوانه‌زنی گندم ..... ۳۳۵

فاطمه تقوی قاسمخیلی، مریم جنابیان، همت‌اله پیردشتی محمدعلی تاجیک قنبری، سید مصطفی عمادی، یاسر یعقوبیان

۶۸ مطالعه خواص فنولی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی گل اروانه اورامانی (*Hymenocrater longiflorus*Benth.) در ایران ..... ۳۴۰

بصیره فتاح پور، محمد فتاحی، عباس حسنی

۶۹ تأثیر قارچ مایکوریزا و ورمی کمپوست بر محتوای فنولی گیاه گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) در شرایط تنش خشکی ..... ۳۴۴

الناز محمدی، محمد فتاحی، محسن برین، ساناز اشرفی سعیدلو

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# سخنرانی‌ها

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹ – دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# تشکیل رادیکال در سیستم‌های زیستی

**(سخنرانی مدعو)**

**نادر چاپارزاده*، لیلا زرندی میاندوآب**

گروه زیست‌شناسی دانشکده، علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

nchapar@azaruniv.ac.ir

## چکیده

رادیکال‌ها حدواسط‌های شیمیایی بسیار فعال می‌باشند که نقش اساسی در طیفی از فرایندهای زیستی بازی می‌کنند. این حدواسط-ها به شکل‌های مختلف تولید می‌شوند که معمول‌ترین شیوه تولید آنها با دخالت اکسیژن مولکولی ($O_2$) است. رادیکال آزاد، یک اتم یا یک مولکول خنثی (یا حتی باردار) است که در اربیتال خارجی آن الکترون جفت ناشده وجود دارد. به دلیل ناپایداری، رادیکال آزاد با مولکول‌های پایدارتر برهمکنش می‌دهد تا بتواند الکترون ناجفت خود را به حالت جفت درآورد. این واکنش با گرفتن یک الکترون (به عنوان اکسایننده) و یا دادن الکترون (به عنوان کاهنده) اتفاق خواهد افتاد. نتیجه این برهمکنش‌ها تشکیل رادیکال‌های جدید خواهد بود. هنگامی که رادیکال‌ها در یک محیط زیستی تولید می‌شوند، تمایل به واکنش سریع در بخش‌های موضعی را خواهند داشت. همیشه درون سلول‌ها مقداری از انواع رادیکال‌های آزاد تولید می‌شود ولی میزان این تولید تابع شرایط محیطی (نور، دما، مواد غذایی و غیره) و متابولیسمی و رشدی سلول‌هاست. تولید مقادیر تنظیم شده رادیکال‌ها برای تداوم حیات گیاهان ضروری است و نقش آن در طیفی از فرایندهای بیوشیمیایی روشن شده است. تولید مازاد ظرفیت مصرف یا مازاد ظرفیت سمزدایی رادیکال‌ها به تنش اکسیداتیو در سلول‌ها منجر خواهد شد. در این مقاله به طور خلاصه چگونگی تولید و اثرات رادیکال‌های آزاد اکسیژن بر زیست مولکول‌های درون سلولی گیاهی بحث خواهد شد.

**واژه‌های کلیدی**: رادیکال آزاد، گونه‌های اکسیژن فعال، تنش اکسیداتیو، پروتئین.

## مقدمه

در مولکول‌های پایدار خنثی، الکترون‌ها در اربیتال‌های مولکولی مربوطه به حالت جفت قرار دارند. رادیکال مولکولی است که در ساختار آن حداقل یک الکترون ناجفت وجود داشته باشد. به همین دلیل رادیکال‌ها بسیار واکنش دهنده می‌باشند [۱]. اصولاً رادیکال‌ها زمانی تشکیل می‌شوند که یک پیوند کووالانسی یگانه بشکند و یک الکترون ناجفت روی یکی یا هر دو اتم یا مولکول حاصل باقی بماند (تجزیه هومولیتیک). بهترین مثال برای تجزیه هومولیتیک شکستن پیوند O-O در ساختار یک پراکسید (R-O-O-R) می‌باشد. دانش ما از نحوه تولید و اثرات رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های زیستی در سال‌های اخیر بسیار افزایش یافته است. از بدو پیدایش زندگی غلظت اکسیژن در جو به دلیل تولید اکسیژن در فرایند فتوسنتز در حال افزایش است [۲]. اگرچه حیات بدون اکسیژن امکان پذیر نیست ولی شواهد حاکی از اثرات مخرب آن بر سیستم‌های زیستی است. موجودات زنده برای مقابله با اثرات مخرب اکسیداتیو بر روی خود مکانیسم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی را در طول تکامل به دست آورده‌اند. در مقاله حاضر بخشی از روند تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) و تاثیر آنها بر زیست مولکول‌ها را بررسی خواهیم کرد.

**رادیکال‌های اکسیژن**

اگرچه اکسیژن یکتایی (Singlet) به شکل O=O یا ($^1O_2$) نشان داده می‌شود ولی در حالت پایه یا سه تایی (Triplet)، اکسیژن (•O:O•) یک رادیکال محسوب می‌شود. دو اتم اکسیژن هر کدام با شش الکترون ظرفیتی با تشکیل پیوند دوگانه (یک پیوند π و یک پیوند σ) اکسیژن مولکولی را می‌سازند. در حالت سه تایی مولکول اکسیژن دارای دو الکترون ناجفت (و همسو) است. به همین خاطر به اکسیژن عنصر دو رادیکالی (Biradical) نیز گفته می‌شود. اکسیژن به دلیل ویژگی‌های پارامغناطیس (محدودیت اسپین) خود با مولکول‌های آلی برهمکنش ضعیفی دارد مگر آنکه با گرفتن انرژی به طور طبیعی یا مصنوعی فعال گردد (از محدودیت اسپین عبور نماید). با این همه، با تبدیل آن به یکی از حدواسط‌های خود طی متابولیسم، آن با زیست مولکول‌ها واکنش داده و به آنها آسیب می‌زند. به دلیل حضور این الکترون‌های ناجفت، در سیستم‌های زیستی سرعت واکنش آن پایین است. دو الکترون ناجفت در اربیتال‌های π ضدپیوندی ($\pi^*$) قرار دارند.

رادیکال‌های اکسیژن نیز همانند بقیه رادیکال‌ها دارای یک الکترون ناجفت می‌باشند و عبارتند از رادیکال هیدروکسیل (HO•) رادیکال‌های آلکوکسید (RO•) و رادیکال آنیونی سوپراکسید ($^{-}O_2$•).

**رادیکال‌های بر پایه کربن**

رادیکال‌های بر پایه کربن به دو دسته کربوکاتیون (دارای یک اوربیتال P خالی) و کربوآنیون (دارای یک اوربیتال P پر شده یا دارای دو الکترون) تقسیم می‌شوند. در اینجا، وقتی روی هر اوربیتال P تنها یک الکترون غیر مشارکتی وجود داشته باشد، ترکیب یک رادیکال است و در شیمی آلی آن را به شکل R3C• نشان می‌دهند. با سه پیوند کووالانسی و یک الکترون مازاد•R3C یک ترکیب پرانرژی و یک حدواسط بسیار واکنش‌دهنده می‌باشد [۳]. با این نگاه، رادیکال کربن را می‌توان به عنوان یک گونه سه ظرفیتی دارای یک الکترون منفرد در اوربیتال P (یعنی اتمی که در یکی از اربیتال‌هایش یک الکترون دارد)، تلقی نمود. از نظر واکنش‌پذیری، این رادیکال ممکن است غنی از الکترون یا فقیر از الکترون باشد. با لحاظ کردن خصوصیات فقر الکترونی می‌توان در بیشتر واکنش‌ها محصولات را پیش‌گویی نمود. از طرف دیگر، همچون رادیکال‌هایی نمی‌توانند هسته دوست باشند. در تجزیه هومولیتیک، به طور معمول یک رادیکال موجود با یک ترکیب خنثی (کربن‌دار) واکنش می‌دهد.

**تشکیل رادیکال در سیستم‌های زیستی**

برای اکسیژن چهار حالت اکسیداسیونی وجود دارد: $(O_2)^n$، در این رابطه n عبارت است از صفر (۰) برای اکسیژن مولکولی ($O_2$)، یک (+۱) برای کاتیون دی اکسیژن ($^{+}O_2$)، منهای یک (−۱) برای یون سوپراکسید ($^{-\bullet}O_2$) و منهای دو (−۲) برای آنیون (دی آنیون) پراکسید ($^{\bullet 2-}O_2$). وجود اکسیژن برای زندگی هوازی همه اشکال حیاتی ضروری است. همانطور که قبلا نیز ذکر شده اکسیژن مولکولی بسیار پایدار است و به سختی الکترون پذیرش می‌کند. ولی با پذیرش اولین الکترون و تشکیل آنیون سوپراکسید، الکترون‌های بعدی به آسانی پذیرش می‌شوند.از طرف دیگر، اکسیژن به دلیل ویژگی‌های پارامغناطیس خود برای موجودات زنده بالقوه یک عنصر مضر نیز می‌باشد. ویژگی پارامغناطیسی موجب می‌شود که تعدادی حدواسط اکسیژن فعال در سیستم‌های حیاتی تشکیل بشوند. به این ترکیبات گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یا گونه‌های فعال شده اکسیژن ( Activated Oxygen Species=AOS) گفته می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن یا خود رادیکال آزاد هستند و یا پیش‌ساز رادیکال‌های آزاد می‌باشند. تولید ROS در سیستم‌های زیستی به‌عنوان محصول جانبی برخی مسیرهای متابولیکی یا آبشارهای کاهش– اکسید، یک فرایند دایمی است.

منبع اصلی تولید ROS در سلول‌های گیاهی زنجیره‌های انتقال الکترون (کلروپلاست‌ها، میتوکندری‌ها، پراکسیزوم‌ها و غشای پلاسمایی)، انواع واکنش‌های کاهش– اکسایش زیستی و تغییر محل درون سلولی آهن (تولید رادیکال هیدروکسیل فراوان) می‌باشد.

**تولید رادیکال‌های آزاد**

در کلروپلاست‌های سلول‌های گیاهی طی روند انتقال الکترون در سیستم نوری ۲ و ۱، آنیون سوپراکسید و در سیستم نوری ۲ اکسیژن یکتایی تولید می‌شود [٤]. همچنین تولید آنیون سوپراکسید در کمپلکس‌های ۱ و ۳ میتوکندری‌ها اتفاق می‌افتد [٥]. تولید سوپراکسید و هیدروژن پراکسید در پراکسیزوم‌ها و هچنین تولید سوپراکسید در اثر کاتالیز NADPH اکسیداز غشایی (انفجار اکسیداتیو) نیز در غشای سلولی صورت می‌گیرد. برای مثال، در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی، مقصد نهایی الکترون‌ها $O_2$ می‌باشد ولی احیای بخشی از آن منجر به تشکیل سوپراکسید می‌شود. بدین شکل نحوه تشکیل اکسیژن‌های فعال را می‌توان به شرح زیر نشان داد.

آنیون سوپراکسید قادر به انجام انواع واکنش‌های دپروتونه کردن، انتقال تک‌الکترونی، جایگزینی‌های نوکلئوفیلی و دیسموتاسیون می‌باشد. در دپروتونه کردن ترکیبات شیمیایی آنیون سوپراکسید با یک پروتون یا ترکیب پروتون دهنده برای تشکیل رادیکال هیدروپراکسیل یا پرهیدروکسیل ($HO_2^{\bullet}$) واکنش می‌دهد یعنی خود آنیون سوپراکسید پروتونه می‌شود. ترکیبات آلی و معدنی زیادی به‌عنوان دهنده پروتون در طیف وسیعی از واکنش‌ها قادر به این عمل هستند.

تشکیل $HO_2^{\bullet}$ در سیستم‌های زیستی و شیمیایی مختلف اتفاق می‌افتد. برای مثال در یک سیستم ساده شیمیایی با انتقال یک پروتون از یک فنول بر روی آنیون سوپراکسید یک مولکول $HO_2^{\bullet}$ می‌تواند تشکیل شود. برای آنیون سوپراکسید دو حالت استاندارد پتانسیل احیا–اکسید (ردوکس) وجود دارد که به همین دلیل این آنیون می‌تواند هم به عنوان یک احیا کننده ( $E^{\circ}\ O_2/O_2^{\bullet-}$ = -0.33 V) و هم به عنوان یک اکسیدکننده ($E^{\circ}\ O_2^{\bullet-}/H_2O_2$ = + 0.93 V) عمل نماید. توانایی دپروتونه کردن آنیون سوپراکسید به شدت به نوع حلال وابسته است. در محلول‌های آبی آنیون سوپراکسید به علت قدرت حل‌پذیری بالا یک عامل دپروتونه کننده ضعیفی است. محاسبات نشان می‌دهند که در pH فیزیولوژیک حدود ٪۲۵ از آنیون سوپراکسید می‌تواند پروتونه باشد. پروتونه شدن آنیون سوپراکسید در حضور یک ترکیب پروتون دار (HA) موجب احیای $HO_2^{\bullet}$ به آنیون هیدروپراکسیل در یک واکنش دو مرحله‌ای می‌شود.

دیسموتاسیون یک واکنش احیا–اکسید می‌باشد که طی آن یک ترکیب با حالت اکسیداسیون حدواسط به دو ترکیب یکی با حالت اکسیداسیونی پایین و دیگری با حالت اکسیداسیونی بالا تبدیل می‌شود. برای مثال کلرید جیوه یک ظرفیتی (با درجه اکسیداسیون ۱+) در اثر نور فرابنفش به جیوه (درجه اکسیداسیون صفر) و کلرید جیوه دو ظرفیتی تبدیل (دیسموته) می‌شود.

آنیون سوپراکسید به دلیل خاصیت هسته دوستی (نوکلئوفیلی) بالا تمایل به حمله به ترکیبات آلی دارای بار مثبت در عدم حضور پروتون دارد. در محلول‌های آبی به دلیل حضور پروتون و خاصیت قلیایی (بازی)، آنیون سوپراکسید سریعاً به آب و اکسیژن یا $HO^{2-}$ دیسموته می‌شود. به عبارت بهتر در این واکنش آنیون سوپراکسید به عنوان باز برونشتد برای تولید رادیکال پرهیدروکسیل عمل می‌کند.

**واکنش هابر–ویس–فنتون**

در واکنش (Haber-Weiss-Fenton Reaction) با حضور برخی عناصر واسطه انواع رادیکال ها تولید می‌شوند. در واکنش هابر–

ویس $H_2O_2+ O_2^{\bullet-} \rightarrow HO^{\bullet} + OH^- + O_2$ در اثر واکنش هیدروژن پراکسید و آنیون سوپراکسید رادیکال هیدروکسیل تولید می‌شود ولی واکنش فنتون $H_2O_2+Fe^{2+} \rightarrow HO^{\bullet}+OH^- + Fe^{3+}$ در برگیرنده تولید رادیکال پراکسید از هیدروژن پراکسید می‌باشد. این واکنش‌ها در کل به چهار مرحله تقسیم می‌کنند. همانطور که در این واکنش‌ها دیده می‌شود تولید رادیکال خطرناک پراکسیل در حضور عناصر واسطه آهن، منگنز و مس می‌تواند در کلروپلاست، میتوکندری، دیواره سلولی و سیتوزول اتفاق بیافتد [٦]. این گونه فعال اکسیژن به دلیل سمیت بالا در مقایسه با بقیه نشان اثر اکسیداتیو تلقی می‌شود اگرچه برخی از اکسیژن‌های فعال در غلظت پایین برای فعالیت‌های سلولی ضروری هستند.

**تشکیل ماده چوب**

از بین این گونه‌های فعال اکسیژن به دلیل پایداری و طول عمر بیشتر $H_2O_2$ توانایی طی فاصله از محل تولید (برای مثال میتوکندری‌ها) را دارند. این مسئله باعث شده که در غلظت‌های تنظیم شده آن به‌عنوان مولکول سیگنال یا دفاعی عمل نماید. برای انجام یک تعداد از فرایندهای زیستی حضور این مولکول ضروری است. برای مثال، انجام چند نوع واکنش از اختصاصات واکنش‌های رادیکالی است. در واکنش‌های توام دو رادیکال برای تشکیل یک پیوند کربنی جدید ترکیب می‌شوند. برای مثال الکل-های چوب بوسیله واکنش‌های توام پلیمریزه می‌شوند. رادیکال‌ها در محل دیواره سلولی توسط پراکسیدازها (با استفاده از $H_2O$) یا لاکّاز (با استفاده از $O_2$) تولید می‌شوند. این رادیکال‌های رزونانسی در نهایت می‌توانند به شکل‌های مختلف دیمریزه و یا پلیمریزه شوند [۳].

**پراکسیداسیون چربی‌ها**

در سلول‌های گیاهی در اثر تخریب چربی‌های غشاهای سلولی، اسیدهای چرب آزاد تشکیل می‌شوند. در اثر مهیا شدن سوبسترا به آنزیم لیپواکسیژناز یا به شکل غیر آنزیمی، پراکسیداسیون این ترکیبات اتفاق می‌افتد که نتیجه آن تولید رادیکال‌های پراکسی و آلکوکسی است. فرایند پراکسیداسیون چربی‌ها که بیشتر در اسیدهای چرب نا اشباع اتفاق می‌افتد با حمله یک رادیکال (مانند رادیکال هیدروکسیل) آغاز می‌شود. این رادیکال مجدداً طی سلسله واکنش‌های تکثیری باز تولید می‌شود. نتیجه حمله رادیکال هیدروکسیل تولید رادیکال لیپیدی (رادیکال آللیل) است که با دخالت اکسیژن در مرحله بعدی رادیکال پراکسی تشکیل خواهد شد. انتقال اتم هیدروژن از یک چربی دیگر باعث می‌شود که آن چربی خود به رادیکال جدید و رادیکال پراکسی به یک هیدروپراکسید تبدیل شود. این واکنش‌ها به شکل سلسله وار تکرار می‌شوند. با تجزیه آنها مرتب رادیکال‌های جدید تشکیل می-گردند. اکسیداسیون‌های بعدی منجر به تشکیل انواع کتون‌ها و در نهایت انواع آلدهیدهای نااشباع می‌گردد. یکی از محصولات تولید شده ٤-هیدروکسی -۲- نونن آل (٤-هیدروکسینون-۲-اِنال) می‌باشد که این ترکیب با زنجیره‌های جانبی برخی اسیدهای-آمینه مثل تیروزین و سیستئن واکنش داده و موجب آسیب می‌گردد. مالون دی آلدهید محصول دیگر از فرایند پراکسیداسیون چربی‌ها با اسیدهای آمینه مانند سرین و تیروزین واکنش داده و باعث تخریب ساختار پروتئین‌ها می‌شود [۷, ۸].

**واکنش با اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتیدها**

رادیکال هیدروکسل به روش‌های مختلف موجب آسیب به حلقه‌های هتروسیکل و قندهای DNA می‌شود. بین بازهای نوکلئوتیدی گوانین دارای کمترین پتانسیل ردکس می‌باشد. بنابراین گوانین یک الکترون دهنده مناسب برای رادیکال‌های آزاد می-باشد. با حمله رادیکال هیدروکسیل به کربن‌های مختلف گوانین انواع رادیکال‌های گوانینی تشکیل می‌شود. این رادیکال‌ها دارای

ویژگی‌های اکسیدانی یا احیایی هستند. تغییر کنفورماسیون های بعدی و انواع واکنش‌های دیگر موجب تشکیل رادیکال‌های ثانویه از گوانین می‌شوند که برخی از آنها بسیار اکسیدکننده می‌باشند. پتانسیل ردوکس آدنین بیشتر از گوانین می‌باشد، بنابراین آن به شدت گوانین اکسید نمی‌شود. همانند گوانین در اثر واکنش رادیکال هیدروکسیل با آدنین انواع رادیکال‌ها تشکیل می‌شوند. واکنش‌های مشابه با شدت کمتر رادیکال‌های هیدروکسیل با تیمین و سیتوزین نیز انجام می‌دهند. بنابراین، طیف وسیعی از ترکیبات در اثر واکنش رادیکال هیدروکسیل با بازهای مولکول DNA تشکیل می‌گردد. در درون سلول‌ها تشکیل محصولات حاصل از واکنش با رادیکال‌های آزاد به حالت ردوکس سلولی، نوع تیمار، توان ترمیم DNA، توان حذف رادیکال‌ها و غیره بستگی دارد. آسیب رادیکال‌های آزاد به اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتیدها با حمله رادیکالی به کربن آنومری (محل اتصال به بازهای آلی) و دیگر کربن‌های قند دی‌اکسی‌ریبوز نیز اتفاق می‌افتد. در نتیجه استخراج پروتون از این کربن‌ها انواع رادیکال‌ها تشکیل می‌شوند. این مسئله با تجزیه پیوند قند فسفات ادامه پیدا می‌کند و موجب شکست رشته DNA یا آزادی باز پیریمیدن می-گردد [۹]. در مورد پروتئین‌های کروماتین هم تحقیات حاکی است که اسیدهای آمینه تیروزین، سرین و ترئونین بیشترین آسیب را می‌بینند. تشکیل اتصالات عرضی بین بازهای آلی و تیروزین به شکل‌های مختلف از جمله آنهاست.

**واکنش با پروتئین‌ها**

پروتئین‌ها، به‌ویژه در محل گروه‌های تیول، بیشترین آسیب را در واکنش با رادیکال‌های آزاد متحمل می‌شوند. در اثر واکنش گروه‌های تیول با رادیکال‌های آزاد، در ساختار پروتئین‌ها رادیکال جدید تیل (Thiyl) تشکیل می‌شود. این رادیکال‌ها (R-S•) مجدداً با همدیگر واکنش داده و موجب تشکیل پیوندهای دی سولفیدی (R-S-S-R) می‌شود. با تشکیل پیوند دی سولفیدی تغییر کنفورماسیون در پروتئین القا شده و آسیب جدی به عملکرد آن وارد می‌شود (برای مثال فعالیت آنزیم از بین می‌رود). تشکیل پیوندهای دی سولفیدی در پروتئین‌ها در اثر واکنش‌های تنش اکسیداتیو حالت غیراختصاصی داشته و می‌تواند آسیب برگشت ناپذیر به ساختار و عملکرد آنها وارد آورد. در سلول‌های گیاهی سیستم‌های خاصی در میتوکندری، کلروپلاست و واکوول‌ها در ایجاد پیوندهای دی‌سولفیدی با همدیگر همکاری می‌نمایند تا پل‌های دی‌سولفیدی ویژه در ساختار پروتئین‌ها ایجاد شود. تعدادی از پروتئین‌ها توسط ROS ها برای پاسخ دهی به تنش اکسیداتیو در موجودات زنده فعال می‌شوند که فعالسازی آنها مستلزم تشکیل پل‌های دی‌سولفیدی است. در برخی پروتئین‌ها گروه‌های سولفیدریل موجود در سیستئین‌ها در اثر ROS به سولفنیک‌اسید، سولفینیک اسید و سولفونیک اسید تبدیل می‌شوند. سولفنیک اسید تشکیل پل‌های دی‌سولفیدی با یک سیستئین دیگر را تسریع می‌کند. در برخی پروتئین‌ها به دلیل برگشت‌پذیر بودن پیوندهای دی‌سولفیدی نقش کلیدی دارند ولی با اکسیداسیون بیشتر و تشکیل سولفینیک‌اسید و سولفونیک‌اسید حالت برگشت پذیر از بین می‌رود [۱۰, ۱۱].

زنجیره جانبی هموسیستئین می‌تواند به صورت حلقه پنج ضلعی پایدار تیولاکتون در بیاید (تیولاکتون هموسیستئین تشکیل شود). در این حالت آن با گروه آمین زنجیر جانبی باقیمانده‌های لیزین برای تشکیل پیوند ایزوپپتیدی در پروتئین واکنش می‌دهد (یک هوموسیستامید تشکیل می‌شود). با تشکیل یک رادیکال تیل و انتقال یک هیدروژن، در نهایت یک رادیکال α-آمینه کربن محور تشکیل می‌شود که یک رادیکال تجمع دهنده و احیا کننده است. این رادیکال می‌تواند پروتون‌های کربن آلفا را از باقیمانده اسیدهای آمینه مجاور پروتئین‌ها استخراج و در واکنش بعدی با اکسیژن سوپراکسید و کربونیل تولید نماید که نتیجه نهایی آن قطعه قطعه شدن پروتئین هاست.

**فهرست منابع:**

[1] Lobo, V., Patil A., Phatak A. and Chandra N. (2010) Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews. 4: 118-126.
[2] Kitadai, N. and Maruyama, S. (2018) Origins of building blocks of life: A review. Geoscience Frontiers. 9: 1117-1153.
[3] Smith, M. B. (2020) Biochemistry: An Organic Chemistry Approach. CRC Press, Boca Raton, USA.
[4] Buchanan, B. B., Gruissem, W. and Jones, R. L. (2015) Biochemistry and molecular biology of plants. John Wiley & Sons, Chichester, West Sussex, UK.
[5] Kehrer, J. P. (2000) The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicology. 149: 43-50.
[6] Richards, S.L., Wilkins, K.A., Swarbreck, S.M., Anderson, A.A., Habib, N., Smith, A.G., McAinsh M. and Davies, J.M. (2015) The hydroxyl radical in plants: from seed to seed. Journal of experimental botany, 66: 37-46.
[7] Jové, M., Mota-Martorell, N., Pradas, I., Martín-Gari, M., Ayala, V. and Pamplona, R. (2020) The advanced lipoxidation end-product malondialdehyde-lysine in aging and longevity. Antioxidants, 9 (1132): 1-20.
[8] Uchida, K., Sakai, K., Itakura, K., Osawa, T. and Toyokuni, S. (1997) Protein modification by lipid peroxidation products: Formation of malondialdehyde-derivedε-(2-propenal) lysine in proteins. Archives of biochemistry and biophysics, 346: 45-52.
[9] Dizdaroglu, M. and Jaruga, P. (2012) Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. Free radical research, 46: 382-419.
[10] Aller, I. and Meyer, A.J. (2013) The oxidative protein folding machinery in plant cells. Protoplasma, 250: 799-816.
[11] Ryu, S.E. (2012) Structural mechanism of disulphide bond-mediated redox switches. The Journal of Biochemistry, 151: 579-588.

## *Invited lecture on* "Radical formation in biosystems"

***Nader Chaparzadeh**, Leila Zarandi-Miandoab**

*Department of Biology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran*
*Corresponding author's Email: nchapar@azaruniv.ac.ir*

**Abstract**

Radicals are highly active chemical intermediates that play an important role in a range of biological processes. There are several ways for generating radicals, and the most common of which is involved molecular oxygen (O2). A free radical is a neutral (or even charged) atom or molecule that contains at least one unpaired electron in its outer orbital. Due to its instability, the free radical interacts with more stable molecules to pair its unpaired electrons. The reaction will occur by taking an electron (as an oxidant) or donating an electron (as a reducing agent). The result of these interactions will be the formation of new radicals. Once radicals are generated in a biological environment, they tend to react quickly in a localized environment. Some types of free radicals are always produced inside the cells, but the quantity of production depends on the environmental conditions (light, temperature, nutrients, etc.) and the metabolism and growth conditions of the cells. The regulated production of radicals is essential for the survival of plants and its role has been elucidated in a range of biochemical processes. If radicals overwhelm the cells ability to consumption them or when the level of radicals exceeds the detoxification capacity, can eventually lead to cell damage. The present article will briefly discuss how oxygen free radicals are produced in plant cells and the effects of radicals on plant intracellular biomolecules.

**Key words:** Free Radical, Oxidative Stress, Protein, Reactive Oxygen Species.

# اثر آب مغناطیسی بر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاهچه ذرت در تنش‌های شوری و خشکی

*ساسان محسن زاده* و مریم حق شناس*
*بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز*
*mohsenz@shirazu.ac.ir

**چکیده**

تنش‌های محیطی از عمده عوامل کاهنده رشد و عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. پس از تنش خشکی،تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌ها به شمار می‌آید. برای اعمال شوری از کلرید سدیم استفاده گردید. برای اعمال تنش خشکی در گلدان‌ها آبیاری بر اساس تعداد روزعدم آبیاری (خشکی سطح کم ٦ روز و خشکی سطح بالا ۱۲روز) انجام شد. همچنین تنش شوری در چهار سطح ( ۰،۵۰،۱۵۰،۲۵۰ میلی مولار ) اعمال شد. آزمایش ها با طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. در هر دو آزمایش به منظور مغناطیسی کردن آب از آهنربا با شدت ٤٨٠٠ گوس استفاده شد. آب مغناطیسی در مقدار فنل و آنتی‌اکسیدان فقط در شرایط شاهد سبب افزایش معنی دار شد. تنش های خشکی و شوری میزان محتوای آنتی اکسیدانی و فنلی را به طور معنی داری افزایش داده است.

**واژگان کلیدی**: آب مغناطیسی،تنش شوری،تنش خشکی،گیاهچه ذرت

**مقدمه**

پالایش آب از طریق اعمال میدان مغناطیسی که جزء روش‌های تصفیه فیزیکی به شمار می‌رود، برخی ویژگی‌های آن مانند آرایش بارهای الکتریکی مولکول‌های آب، چگالی، کشش سطحی و سرعت تبخیررا تغییر می‌دهد (Kordas, 2002) . به بیان دیگر، بعضی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب مانند کشش سطحی، قابلیت حل نمک‌ها،ضریب شکست نور و اسیدیته آبی که در معرض میدان مغناطیسی قرار گرفته است، تغییر می‌کند (Morejon *et al*., 2007). تغییرات حاصل از اعمال میدان مغناطیسی بر آب آبیاری به عواملی مانند شدت میدان□ جهت میدان□ مدت زمان در معرض گذاری مغناطیسی□ کیفیت آب و pH آب بستگی دارد (Chibowski *et a*l., 2005). خشکی یکی ازمهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده‌ی تولید ذرت در جهان است که هر ساله عملکرد جهانی ذرت را به طور متوسط ۱۷ درصد کاهش می‌دهد و در بعضی مناطق این کاهش تا ۷۰ درصد نیز گزارش شده است. خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی و عامل محدود کننده تولید موفقیت‌آمیز محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرآیندهای متابولیکی دارد. تنش خشکی از طریق تاثیر برخی از فرآیندهای متابولیسمی باعث تغییر در رفتار و نهایتا مقاوم سازی گیاه در مقابل برخی تنش‌ها می‌شود (Mohsenzadeh et al., 2006). تنش‌های شوری از رشد گیاهان می‌کاهد و تولید محصول هم در نتیجه بر هم خوردن تعادل در جذب عناصرضروری آب و ایجاد تنش اکسیداتیو کاهش می‌یابد (Molassiotis *et al*., 2006). شوری روابط آبی و یونی را توسط اثرات یونی و اسمزی

خود تحت تاثیر قرار می‌دهد. به علاوه تنش های محیطی نظیر شوری و خشکی منجر به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند در نتیجه تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد. پاسخ گیاهان به تنش شوری پیچیده است و بستگی به عوامل گوناگونی نظیر نوع و غلظت املاح□ مرحله رشد گیاه□ پتانسیل ژنتیکی گیاه و عوامل محیطی دارد. رشد گیاه و زیتوده به میزان فتوسنتز خالص بستگی دارد و تنش شوری بسته به شدت آن بر فتوسنتز تاثیر می‌گذارد (Parida and Das, 2005).

## مواد و روش ها

بذرهای تهیه شده را درون ۷۲ گلدان حاوی ۱۵۰۰ گرم خاک رسی و ماسه بادی و کودبرگ (به نسبت ٦ □۳ □۱). چیدمان گلدان‌ها برای انجام مطلوب آنالیزهای آماری به شیوه تصادفی در گلخانه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم دانشگاه شیراز انجام شد. و آبیاری به صورت هفته‌ای ۳ بار به میزان ۱۰۰میلی‌لیتر از زمان شروع کاشت انجام شد. و گیاهچه‌های ذرت در گلخانه با دمای حداقل ۱۵و حداکثر ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نور ملایم نگه‌داری شدند که این شرایط موجب عملکرد بالای گیاه ذرت در شرایط گلخانه‌ای شد. دستگاه آب مغناطیسی□ دستگاهی با ابعاد کوچک است که از دو آهنربا تشکیل شده که به موازات هم قرار گرفته و میدان مغناطیسی با شدت ٤٨٠٠ گوس (٤٨/ تسلا) ایجاد می‌کند. این دستگاه روی شیلنگ آب ۱/۲ قرار می‌گیرد. این دستگاه ساخت شرکت تابا مگنت است. به منظور اعمال تنش شوری چهار سطح از NaCl (S0, S1, S2, S3) انتخاب شد به طوری‌که در سطح S0 نمکی اضافه نشد. در سطح S1 مقدار ۲,۹۲ گرم در یک لیتر آب اضافه شد. در سطح S2 مقدار ۸,۷۷ گرم در یک لیتر آب اضافه شد. در سطح S3 مقدار ١٤,٦١گرم در یک لیتر آب اضافه شد. محلول شوری فقط یک بار در شروع اعمال تنش به گیاه داده شد. بر اساس آزمایشی که بر روی گیاهچه‌های ذرت انجام شد سطح تنش خشکی ٦ و ۱۲ روز و سطح شوری (۲۵۰,۱۵۰,۵۰,۰) انتخاب گردید. به گلدان ۱ تا ۳٦ هفته‌ای سه بار با آب شهری و به گلدان ۳۷ تا ۷۲ هفته ای سه بار با آب شهری که از دستگاه مغناطیسی رد شده به مدت ۳ ماه آبیاری شد. تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال پایدار DPPH، طبق روش توصیف شده توسط Shimada و همکاران،به صورت زیر انجام شد (Shimada *et al*., 1992). ترکیبات فنلی عصاره گیاهی با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu مطابق روش Kim و همکاران (۲۰۰۷) تعیین شد. محلول ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گالیک اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. در پژوهش حاضر از طرح آماری کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل استفاده شد. اعداد جذب شده با استفاده از اسپکتوفتومتر مدل Spekol شرکت Analytic jena ساخت ژاپن خوانده شد. برای تجزیه و تحلیل اعداد از نرم افزار SPSS استفاده شد و در آخر برای مقایسه داده ها با درنظر گرفتن سطح معنی‌دار $p<0.05$ از آزمون Dancan استفاده شد.

## نتایج و بحث

همان‌گونه که در شکل ۱ (بالا) نشان داده شده است با افزایش تنش خشکی و شوری محتوای فنولی افزایش یافت. همچنین در سطح بالا تنش خشکی بیشتر از تنش شوری محتوا ی فنلی را افزایش داد و زمانی که در سطح بالا با هم اعمال شدند بیشترین تاثیر را در افزایش محتوای فنلی داشتند. همچنین آب مغناطیسی در شرایط شاهد سبب افزایش معنی دار در محتوای فنلی شد. همان‌گونه که در شکل ۱ (پایین) نشان داده شده است با افزایش تنش خشکی و شوری محتوای آنتی اکسیدانی افزایش یافت.

شکل ۱- اثر آب مغناطیسی برمحتوای آنتی اکسیدانی در شرایط تنش خشکی و شوری. هر عدد میانگین سه تکرار ±SE است. M0 آب معمولی،M1 آب مغناطیسی،D0 تنش خشکی صفر،D1 تنش خشکی شش روز،D2 تنش خشکی دوازده روز،S0 تنش شوری صفر،S1 تنش شوری سطح کم (۵۰ گرم در لیتر نمک NaCl)، S2 تنش شوری سطح متوسط (۱۵۰ گرم در لیتر نمک NaCl)، S2 تنش شوری سطح زیاد (۲۵۰گرم در لیتر نمک NaCl).

همچنین تنش خشکی و شوری به یک نسبت محتوای آنتی اکسیدانی را نسبت به شاهد افزایش داد و در شرایطی که در سطح بالا با هم اعمال شدند بیشترین تاثیر را در افزایش محتوای آنتی اکسیدانی داشتند. همچنین آب مغناطیسی در شرایط شاهد سبب افزایش معنی دار در محتوای آنتی اکسیدان شد. در تنش های خشکی و شوری با افزایش شدت تنش، میزان محتوای آنتی اکسیدانی و فنلی بالا رفته است. ولی آب مغناطیسی هیچ تاثیر معنی‌داری نداشته است. تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده وغیر زنده سبب تولید رادیکاهای آزاد اکسیژن می‌شوند از جمله این تنش‌ها می‌توان به تنش شوری اشاره کرد. گیاهان برای کاهش اثر مخرب انواع اکسیژن فعال اکسیژن فعال مکانیزم‌های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیزم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی اشاره نمود. بسیاری از متابولیت‌های ثانویه فنلی جزء مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی مقابله کننده با تنش‌های اکسیداتیو هستند (War *et al.*, 2011).

## منابع

Kim, Y., et al. (2007) A conserved phosphatase cascade that regulates nuclear membrane biogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 104(16): 6596-6601.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura T. (1992) Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cylcodextrin emulsion. J. Agr. Food Chem. 40: 945–948.

Kordas, L. (2002). The effect of magnetic field on growth, development and the yield of spring wheat. Pol. J. Environ. Stud. 11(5): 527-530.
Morejon, L. P., Castro Palacio, J. C., Velazquez Abad, L. and Govea, A. P. (2007). Stimulation of *Pinus tropicalis* M. seeds by magnetically treated water. Int. Agrophys. 21(2): 173.
Chibowski, E., Szczes, A. and Holysz, L. (2005). Influence of sodium dodecyl sulfate and static magnetic field on the properties of freshly precipitated calcium carbonate. Langmuir. 21(18): 8114-8122.
Mohsenzadeha, S., Malboobia, M.A., Razavia, K. and Farrahi-Aschtianib S. (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. Environ. Exp. Bot. 56: 314–322.
Molassiotis, A. N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, E. (2006). Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. Biol. Plant. 50(3): 331-338.
Parida, A. K. and Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60(3): 324-349.
War, A. R., Paulraj, M. G., War, M. Y. and Ignacimuthu, S. (2011). Jasmonic acid-mediated-induced resistance in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) against *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Plant Growth Regul. 30(4): 512-523.

## Effect of magnetic water on antioxidant potential of maize seedling in salinity and drought stresses

***Sasan Mohsenzadeh*** [*] ***and Maryam Hagshenas***
***Biology Department of Shiraz University***
***mohsenz@shirazu.ac.ir**

**Abstract**
Environmental stresses are one of the major factors driving the growth and performance of agricultural products worldwide. After drought stress, salinity is one of the most important stresses. In pot experiment, drought was applied by day of no irrigation (Low level with 6 days and high level with dryness of 12 days). Salinity stress was applied at four levels (0, 50, 150, 250 mM). In two experiments, a magnet with 4800 Gaussian power was used to magnetize water. Phenol and antioxidant significantly increased only in the control condition. In addition, salinity and drought increase antioxidant and phenol significantly.

**Keywords:** Magnetic water, Salinity stress, Drought stress, Corn seedling

# بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus*) تغذیه شده با پوترسین

**شهلا شامه [۱]، بهمن حسینی [۲*] خاویر پالازون [۳]**

[۱] دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[۲] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

استاد گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده داروسازی، دانشگاه بارسلون، اسپانیا

* پست الکترونیک نویسنده مسئول:b.hosseini@urmia.ac.ir

**چکیده:** اخیرا به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی شناخته شده‌ی ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها، توجه بسیار زیادی به افزودن آن‌ها در صنایع غذایی و دارویی شده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر تغذیه با پیش ساز (پوترسین) بر میزان فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک است. براساس نتایج، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز با افزایش غلظت پیش ساز افزایش یافته است. بنابراین می‌توان گفت که تغذیه با پیش سازها منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

**کلمات کلیدی**: بذرالبنج مشبک، پیش ساز، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

**مقدمه**

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهمترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب‌گر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) هستند و نخستین راه مقابله با تنش‌های اکسیداتیو می‌باشند (Pan et al., 2006). در گیاهان عالی سیستم جاروب‌گر گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS)از آنزیم-های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) تشکیل شده‌اند، که می‌توانند گونه¬های فعال اکسیژن تولید شده در شرایط تنش را از بین ببرند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از غشاها در مقابل اثرات مخرب ROS که در برابر تنش تولید می‌شوند، محافظت نموده و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر انواع تنش‌ها می‌شوند (مرآتی و همکاران، ۱۳۹۴). بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus*) گیاهی یک ساله یا دو ساله متعلق به خانواده بادمجانیان (Solanaceae) است (Moharrami et al., 2017). مهمترین ترکیبات این گیاه هیوسیامین و آسکوپولامین بوده که این مواد از نظر داروشناسی به عنوان ترکیبات آنتی کلینرژنیک گروه بندی می‌شوند و به طور گسترده در درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می گیرند(دهقان و همکاران، ۱۳۸۸). کشت ریشه موئین القا شده به کمک آگروباکتریوم رایزوژنز از مهمترین روشهای زیست فنآوری گیاهی هستند که در تولید متابولیت¬های ثانویه با ارزش مورد استفاده قرار می¬گیرند (Palazon et al., 2008). رویکردهای متعددی از جمله استفاده از محرک‌ها (زنده و غیر زنده)و افزودن پیش سازها از مهمترین عوامل موثر در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه درکشت ریشه موئین می‌باشد (Omidi and Farzin 2012) . ازطرفی دیگر، افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان شده و بقای گیاهان را تضمین می‌کند (Shi et al., 2020). طبق گزارشات قبلی، استفاده از پیش سازها(پلی آمین‌ها)منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در

شرایط تنش اکسیداتیو می‌شود(Liu et al., 2017). در این مطالعه تأثیر پوترسین به‌عنوان پیش ساز، در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف تیمار، بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های موئین گیاه بذرالبنج مشبک موردبررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها**

**کشت بذر و تهیه ریز نمونه**

بذرهای گیاه بذرالبنج مشبک از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید.بعد از ضدعفونی بذرها، بذرها در داخل محیط کشت MS تکمیل شده با ۳٪ ساکارز و ۷٪ آگار، کشت و در اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. به‌منظور تلقیح ریزنمونه‌های گیاهی، کوتیلدون‌ها از گیاهچه‌های مادری استریل جدا و به درون فالکن حاوی سوسپانسیون *Agrobacterium rihzogenes* سویه A4 منتقل شدند. سپس فالکن به مدت ۲۰ ثانیه در دستگاه التراسونیک قرار داده شد. ریزنمونه‌های تلقیح شده به محیط کشت MS جامد(محیط هم‌کشتی) منتقل و به‌مدت ۴۸ ساعت، داخل انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در شرایط تاریکی نگهداری شدند. سپس به‌منظور حذف باکتری، از آب مقطر استریل حاوی سفوتاکسیم ( ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. ۴ هفته پس از تلقیح ، به تدریج ریشه‌های موئین ظاهر شدند. واکشت ریزنمونه‌ها در محیط جدید هر ۱۰ روز یکبار انجام شد. از میان ۵۴ لاین ریشه موئین القاء شده، یک لاین پر رشد برای انجام مراحل بعدی آزمایش انتخاب گردید.

**تغذیه با پیش ساز**

برای انجام این آزمایش محیط کشت‌های MS مایع حاوی غلظت‌های صفر،۱ ،۲، ۳ و۴ میلی مولار پوترسین تهیه گردید. یک گرم ریشه‌های موئین ۲۰ روزه داخل هر یک از ارلن مایرهای مایع ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS مایع حاوی غلظت‌های مختلف پوترسین، در ۳ تکرار، منتقل و داخل شیکر انکوباتور با ۱۲۰ دور در دقیقه، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری شدند. پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت از زمان تیمار، ریشه‌های موئین از محیط کشت MS خارج و به محیط کشت MS مایع عاری از پیش ساز انتقال یافتند. پس از گذشت یک هفته،ریشه‌های موئین برداشت و بعد از شستشو با آب مقطر و حذف رطوبت اضافی ریشه‌ها به‌وسیله کاغذ صافی، جهت اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی به یخچال ۳۰- درجه سانتی گراد منتقل شدند.

**عصاره گیری و اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی**

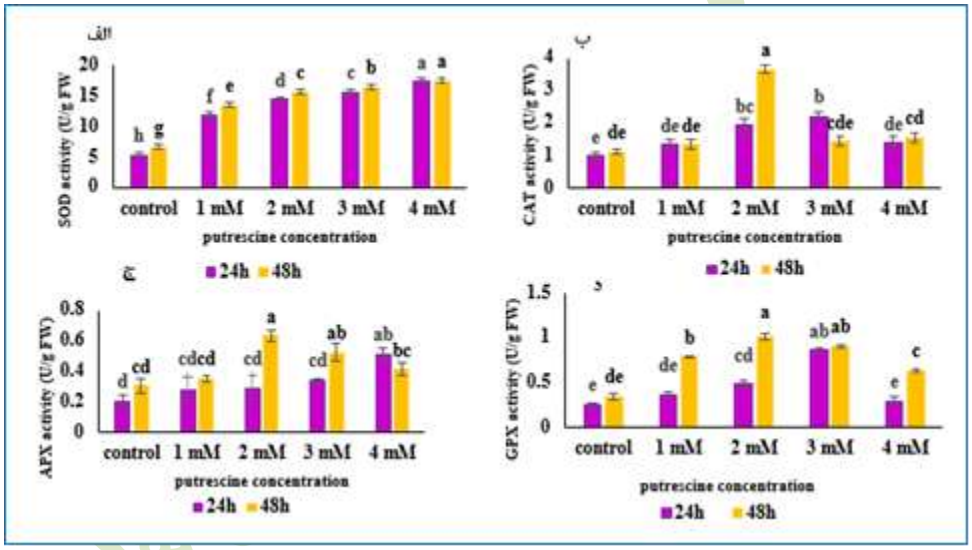
برای تهیه عصاره گیری جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیدز (GPX) از روش از روش Kangو Saltveit (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات استفاده شد. پس از تهیه عصاره، فعالیت آنزیم SOD به روش Giannopolitis و Reis (۱۹۹۷)،فعالیت آنزیم CAT به روش Aebi (۱۹۸۴)، فعالیت آنزیم APX به روشNakano و Asada (۱۹۸۷)و GPX به روش MacAdam و همکاران (۱۹۹۲) با اندکی تغییرات اندازه-گیری شد.

**نتایج و بحث**

مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف غلظت و زمان تیمار با پوترسین نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک در سطح احتمال ۵ درصد به طور معنی‌درای تحت تاثیر غلظت و زمان پوترسین قرار گرفته

است. مطابق شکل (۱ الف)، با افزایش غلظت پوترسین و مدت زمان میزان فعالیت آنزیم SOD افزایش یافت. بطوریکه بیشترین (۱۷،۴۶ U g-1 FW ۰،۴۴±در ۴ میلی مولار)و کمترین (۵،۲۵ U g-1 FW ۰،۳۶±در شاهد) میزان فعالیت آنزیم SOD بترتیب بعداز ۴۸ و ۲۴ ساعت بدست آمد. بیشترین (۳،۶۴ U g-1 FW ۰،۱۳± در ۲ میلی مولار) و کمترین (۰،۹۶ U g-1 FW ۰،۱۴± در شاهد) میزان فعالیت آنزیم CAT بترتیب بعداز ۴۸ و ۲۴ ساعت بدست آمد(شکل ۱ ب). بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم‌های APX و GPX بترتیب در ۲ میلی مولاز بعد از ۴۸ ساعت و ریشه‌های شاهد بعد از ۲۴ ساعت قرائت شد(شکل ۱ ج ود). طبق نتایج بدست آمده می‌توان گفت که کاربرد پیش سازها در محیط کشت ریشه‌های موئین منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به ریشه‌های موئین شاهد می‌شود.

در تعامل گیاه–میکروب دو سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی وجود دارد (Gheisary et al., 2018). با توجه به اینکه پوترسین نقش مهمی در حفاظت غشای سلولی، سنتز پروتئین و تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در شرایط تنش اکسیداتیو دارند (Mandal et al., 2013). بنابراین کاربردخارجی پوترسین بعنوان جاروبگر رادیکال‌های آزاد در پاسخ به تنش‌های گیاهی عمل می‌کنند.




شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت و زمان تیمار با پوترسین بر فعالیت آنزیم SOD، CAT، APX و GPX ریشه موئین بذرالبنج مشبک
حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح۵ درصد است.

## فهرست منابع:

دهقان /ا، عبادی/م، نقدی بادی/ ح، شهریاری/ف، عزیزی/ م و اصغری غ. (۱۳۸۸). مروری بر تکنیک های نوین در تولید آلکالوئیدهای تروپانی .فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۴۹-۱۶۴.

مرآتی /م.ج، نیکنام /و. حسن پور/ح. و میرمعصومی م (۱۳۹٤). مقایسه تاثیر تنش شوری بر رشد و پاسخ های آنتی اکسیدانی در اندام های مختلف گیاه پونه معطر (*Mentha pulegium* L) مجله پژوهش های گیاهی. ۲۸(۵)، ۱۰۹۷-۱۱۰۷.

Aebi/ H. (1984). In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.), Catalase in Vitro. Methods in Enzymology. Florida: Acad., pp. 114–121.

Giannopolitis/C. N. and Ries/ S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59(2), 309-314.

Kang/ H.M. and Saltveit/ M.E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum, 115: 571-576.
Liu/ M. Chen/ J. Guo/ Z. and Lu/ S. (2017). Differential responses of polyamines and antioxidants to drought in a centipedegrass mutant in comparison to its wild type plants. Front. Plant Sci. 8, 1-11.
MacAdam/ J. W. Nelson/ C. J. Sharp/ R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. Plant Physiol. 99(3), 872-878.
Mandal/ C. Ghosh/ N. Adak/ M. and Dey/ N. (2013). Interaction of polyamine on oxidative stress induced by exogenously applied hydrogen peroxide in Salvinia natans Linn. Theor. Exp. Plant Physiol. 25(3), 223-230.
Moharrami/ F. Hosseini/ B. Sharafi/ A. and Farjaminezhad/ M. (2017). Enhanced production of hyoscyamine and scopolamine from genetically transformed root culture of Hyoscyamus reticulatus L. elicited by iron oxide nanoparticles. In Vitro Cell. Dev. Biol. 53(2), 104-111.
Nakano/Y. and Asada/ K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by mono dehydro ascorbate radical. Plant Cell Physiol. 28(1), 131-140.
Omidi/ M. and Farzin, N. (2012). Biotechnology approaches for improvement of medicinal plants. Modern Genetics Journal 7:209-220 (In Farsi).
Palazón/ J. Navarro-Ocaña/ A. Hernandez-Vazquez/ L. and Mirjalili/ M. H. (2008). Application of metabolic engineering to the production of scopolamine. Molecules. 13(8), 1722-1742.
Pan/ Y. Wu L/ J .and Yu/ Z.L. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis fisch). Plant Growth Regul. 49: 157-165.
Shi/ M. Liao/ P. Nile/ S. H. Georgiev/ M. I. and Kai/ G. (2020). Biotechnological exploration of transformed root culture for value-added products. Trends in Biotechnology.

## Evaluation of antioxidant enzyme activity in hairy toot of *Hyoscyamus reticulatus* feeding by putrescine

***b.hosseini@urmia.ac.ir*** **, *Shahla Shameh [1], Bahman Hosseini [*2] ,Author (s)***

*[1] PhD students, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University*

*2 Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University*

*3. Professor, Department of Plant Physiology, Faculty of Pharmacy University of Barcelona Barcelona Spain,*

**Abstract**:

Abstract: Recently, due to the known antioxidant activity of plant compounds and their derivatives, much attention has been paid to their addition in the food and pharmaceutical industries. The aim of this study was to investigate the effect of feeding precursor (putrescine) on the activity of antioxidant enzymes in hairy roots of *Hyoscyamus reticulatus*. According to the results, the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase increased with increasing precursor concentration. Therefore, it can be said that feeding precursors increases the activity of antioxidant enzymes.

**Keywords**: *Hyoscyamus reticulatus*, precursor, antioxidant enzymes activity

# جلبک های دریایی منبع غنی از آنتی اکسیدان

**سولماز سلیمانی، مرتضی یوسف زادی**

گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی اشکال سرطان اهمیت داشته باشند. رادیکال‌های آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند که اکسیژن مرکزی آن‌ها، به‌عنوان ROS شناخته می‌شوند. مهار آن‌ها، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانیسم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب موثر می‌باشند. بهره‌گیری‌های صنعتی از گیاهان دریایی در دهه‌های گذشته رشد بالایی را نشان می‌دهد. کاربردهای غذایی به خصوص در ترکیبات غذای انسانی و کاربردهای درمانی از مهم‌ترین این بهره‌مندی‌ها محسوب می‌گردند. ارگانیسم‌های دریایی منبع بسیار عالی برای ترکیبات فعال زیستی هستند. جلبک ها حاوی مقادیر بالایی از ویتامین ها، مواد معدنی، پروتئین ها، کارتنوئیدها، فیبرهای خوراکی و اسیدهای چرب ضروری هستند و به طور گسترده در صنایع مختلف غذایی، آرایشی و پزشکی مورد استفاده قرار می گیرند.

**کلیدواژه:** آنتی اکسیدان طبیعی، جلبک، رادیکال آزاد، استرس اکسیداتیو

# Seaweed as a rich source of antioxidants

**Soolmaz Soleimani, Morteza Yousefzadi**

Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

Natural antioxidants can be important in preventing cardiovascular disease and some cancers by neutralizing free radicals. Free radicals have one or more unpaired electrons in the empty orbital whose central oxygen is known as ROS. Inhibiting them is effective in preventing and treating some chronic and destructive diseases to reduce the level of oxidative stress in the body. Industrial exploitation of marine plants has shown high growth in recent decades. Food applications, especially in human food compositions and therapeutic applications are among the most important of these benefits. Marine organisms are an excellent source of bioactive compounds. Algae contain high amounts of vitamins, minerals, proteins, carotenoids, dietary fiber and essential fatty acids and are widely used in various food, cosmetic and medical industries.

**Keywords:** Natural antioxidant, Seaweed, Free radical, Oxidative stress

# مروری بر سنتز نانوذرات با استفاده از آنتی اکسیدان‌ها

**هاجرالسادات منصوری*، مهرناز کیهان‌فر**

دانشکده علوم و فن آوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان

*hajar_mansouri@yahoo.com

**چکیده**

در سلول‌های زنده، حین فرآیند اکسایش، رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند. رادیکال‌های آزاد به دلیل وجود تک الکترون، بسیار واکنش پذیر و فعال بوده و برای سلول بسیار سمی هستند. آنتی اکسیدان‌ها (طبیعی و سنتزی) ترکیباتی هستند که مانع از آسیب‌رسانی رادیکال‌های آزاد به سلول می‌شوند. از خاصیت احیاکنندگی آنتی اکسیدان‌های گیاهی می‌توان برای ساخت نانوذرات فلزی به روش سبز استفاده کرد. این نانوذرات سبز علاوه بر پایداری بیشتر و دامنه محدود اندازه ، خواص زیستی بهبود یافته دارند.

**کلمات کلیدی**: رادیکال آزاد،آنتی اکسیدان، عصاره گیاهی، نانوذرات

**مقدمه**

اکسایش فرآیندی طبیعی و ضروری است که در تمام سلول‌های زنده اتفاق می‌افتد. در حین این فرآیند، رادیکال آزاد هم تولید می‌شود. اتم یا مولکول مستقلی که دارای یک الکترون جفت نشده باشد، رادیکال آزاد است. رادیکال‌های آزاد، به حالت‌های کاتیونی، آنیونی یا خنثی هستند و به دلیل وجود تک الکترون، بسیار واکنش پذیر و فعال هستند. این ترکیبات به طور دائم در سلول‌های زنده در حال سنتز هستند و به دلیل فعالیت بالا، بسیار سمی بوده و با مولکولهای زیستی حاضر در سلول مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک به سرعت واکنش می‌دهند. رادیکال‌های آزاد از نظر سطح انرژی ناپایدار بوده، طول عمر کوتاهی دارند و با حذف یا جفت کردن الکترون‌های خود، پایدار می‌شوند. بنابراین باقیمانده مولکولی که به آن حمله کرده است، دارای یک الکترون جفت نشده می‌گردد وتبدیل به یک رادیکال آزاد می‌شود. به این ترتیب یک رادیکال آزاد می‌تواند منشأ یک سری واکنش‌های زنجیره‌ای انتقال الکترون باشد (McCord, 2000). با توجه به عوارض سوء رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش‌های اکسایش، حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی برای ادامه حیات وجودات زنده ضروری به نظر می‌رسد. از مکانیسم‌های تاثیرگذاری آنتی اکسیدان‌ها می‌توان به خاصیت احیاکنندگی آنها اشاره کرد که با دادن یک اتم H به رادیکال آزاد، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش جلوگیری می‌کنند و همچنین این مواد می‌توانند با دادن الکترون به رادیکال آزاد، آنها را به شکل پایدار خود تبدیل کنند و مانع از اثرهای مخرب آنها شوند. به این ترتیب کارایی و درجه تأثیر یک آنتی اکسیدان، به سهولت جداشدن این اتم H یا الکترون از آن مربوط می‌شود (Ou, Huang, Hampsch-Woodill, Flanagan, & Deemer, 2002).

**انواع آنتی‌اکسیدان‌ها**

از اواخر دهه ۱۹۴۰ توانایی ترکیبات فنلی به عنوان آنتی اکسیدان در جلوگیری از اکسایش چربی‌ها شناخته شد. آنتی‌اکسیدان‌ها به

دو دسته سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند. شناخته شده‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و کارتینوئیدها هستند که همگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان می‌باشند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی، عمدتا ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنها است که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس از یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن سه گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسایش را مهار می‌کنند. در سال های اخیر تحقیقات زیادی روی استخراج آنتی اکسیدان های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. در میان آنها اسید آسکوربیک و توکوفرول ها رایج ترین آنتی اکسیدان های طبیعی تجاری هستند. از دیگر منابع آنتی اکسیدانی طبیعی، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها هستند که از گیاهان استخراج می شوند (Krishnaiah, Sarbatly, & Nithyanandam, 2011).

**سنتز سبز نانوذرات فلزی**

نانوساختارها حداقل در یک بعد اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر دارند و خواص متفاوت از شرایط توده ای دارند. دلیل اصلی خواص جدید در نانوساختارها، افزایش نسبت سطح به حجم در آن‌ها نسبت به حالت توده‌ای است. نانوذرات ساخته شده با روش های شیمیایی به دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و سمی و آسیب های زیست محیطی حاصل از آنها، نگرانی های زیادی را ایجاد کرده‌اند. همچنین تولید نانوذرات با استفاده از احیاگرهای شیمیایی منجر به باقی ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی در محصول می‌گردد و باعث عدم امکان استفاده از نانوذرات حاصل در کاربردهای زیستی می شود. امروزه تولید نانوذرات فلزی با روش های زیستی و مخصوصا با استفاده از اصول شیمی سبز و عصاره گیاهان جایگاه ویژه ای در پژوهش ها پیدا کرده است .گیاهان به عنوان منابع تجدیدپذیر و ارزان برای تولید نانوذراتی از فلزات مختلف یا اکسید آن‌ها مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته اند. در اکثر موارد این نانوذرات نسبت به نمونه مشابه ساخته شده به روش شیمیایی دارای مزیت هایی از قبیل پایداری بیشتر، زیست سازگاری و داشتن خواص مفید از جمله آنتی اکسیدانی هستند. برخی از این مزیت ها به دلیل پوشیده شدن نانوذرات با ترکیبات موجود در عصاره گیاهی است که نه تنها باعث پایداری بیشتر نانوذرات می گردد، بلکه باعث کاراتر شدن این نانوذرات برای استفاده های زیستی می گردد. به عنوان مثال این پوشش با عث می شود که خواص ضد باکتریایی یا آنتی اکسیدانی این نانوذرات افزایش پیدا کند (Mohamad, Arham, Jai, & Hadi, 2014; Mousavi-Khattat, Keyhanfar, & Razmjou, 2018). آزمون FTIR بر روی برخی نانوذرات فلزی سنتز شده با عصاره گیاهی ، پیک مربوط به گروه فنلی را تایید می کند که مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره گیاهی است. به عنوان مثال در سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی با استفاده از عصاره چای سبز، پیک مشخص در ناحیه ۱۶۲۷ $cm^{-1}$ تاییدی بر حضور گروه های C=O و C=C در حلقه آروماتیک و ترکیبات پلی‌فنلی بود (Senthilkumar & Sivakumar, 2014).

**نقش آنتی اکسیدان های گیاهی در تولید سبز نانو ذرات**

آنتی اکسیدان‌ها از ترکیبات مهم موجود در عصاره‌های گیاهی هستند که به‌واسطه قابلیت انتقال الکترون، خاصیت احیاکنندگی دارند. از اینرو می‌توانند باعث احیا یون فلزی در محلول آبی نمک فلزی شده، در شرایط مناسب باعث تولید نانوذرات فلزی یا اکسید فلزی گردند (Thakkar, Mhatre, & Parikh, 2010). از طرفی حضور مولکول های آنتی اکسیدان در محیط تولید نانوذره

باعث کنترل سایز ذرات و همچنین پوشش دهی با مولکول‌های آنتی اکسیدان سبب پایداری بیشتر نانوذرات در محلول می‌گردد (Senthilkumar & Sivakumar, 2014). معمولا نانوذرات فلزی خود خواص آنتی اکسیدانی دارند (Bedlovičová, Strapáč, Baláž, & Salayová, 2020; Kuppusamy, Yusoff, Maniam, & Govindan, 2016; Thakkar et al., 2010) و نانوذراتی که با مولکول‌های آنتی اکسیدان گیاهی پوشش‌دهی می شوند، نه تنها خاصیت زیست سازگاری بیشتری دارند، بلکه می توانند خاصیت آنتی اکسیدانی مضاعفی هم داشته باشند. به منظور اندازه‌گیری و مقایسه خواص آنتی اکسیدانی و انتقال الکترون عصاره های گیاهی از تست‌هایی مانند DPPH و Folin-Ciocalteu assays استفاده می شود (Goodarzi, Zamani, Bajuli, & Moradshahi, 2014). در مطالعه گودرزی و همکاران، تاثیر هفت عصاره گیاهی با خواص آنتی اکسیدانی متفاوت بر سنتز سبز نانوذرات نقره مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاهانی که خواص آنتی اکسیدانی بیشتری داشتند، پیک جذبی بالاتری در محدوده ٤١٠ نانومتر نشان دادند. این نتایج تایید کننده سنتز سبز بیشتر نانوذرات نقره در حضور عصاره گیاهان با خواص آنتی اکسیدانی بیشتر است (Goodarzi et al., 2014). در مطالعه ای دیگر، برای سنتز نانوذرات طلا از عصاره چند نوع برگ گیاه استفاده شد که از نظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی با هم متفاوت بودند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نانوذرات طلای ساخته شده با عصاره برگی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت، دارای اندازه ذرات کوچکتر، افزایش تعداد ذرات با سایز کمتر از ۵ نانومتر و کاهش در تعداد ذرات با سایز ۵۰-۳۱ نانومتر، افزایش در زتا پتانسیل و همچنین بهبود خواص نوری بود. بنابراین به نظر می‌رسد که میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهی در کیفیت نانوذره حاصل از سنتز سبز نانوذره با عصاره گیاهی بسیار موثر است (Stozhko et al., 2019). با توجه به خاصیت احیاکنندگی قوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، در یک مطالعه برای سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ گیاه *Eucalyptus leucoxylon*، ابتدا عصاره حاصل را فرکشن بندی کرده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر فرکشن را بررسی کردند و سپس از فرکشنی برای سنتز سبز نانوذره نقره استفاده کردند که بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را داشت و بدین ترتیب نانوذرات نقره با خواص مطلوب سنتز شد (Rahimi-Nasrabadi, Pourmortazavi, Shandiz, Ahmadi, & Batooli, 2014).

**نتیجه‌گیری و پیشنهادات**

در سنتز سبز نانوذرات توجه و علاقه‌مندی به استفاده کمتر از احیاکننده‌های شیمیایی، به استفاده بیشتر از مشتقات طبیعی و به ویژه گیاهی منجر شده است. کشور ایران با دارا بودن ۸۰۰۰ گونه گیاهی و نزدیک به ۲۳۰۰ گونه از گیاهان دارویی و معطر، مکان مستعدی برای بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و تاثیرات آنها بر سنتز نانوذرات است (سلیمانی و درویشی ۱۳۹۷). مروری بر مطالعات صورت گرفته بر روی استفاده از آنتی اکسیدان‌های گیاهی در سنتز نانوذرات فلزی نشان می‌دهد که اغلب مطالعات بر روی استفاده از عصاره‌های گیاهی در سنتز سبز نانوذرات بوده است و با توجه به کاراتر بودن آنتی‌اکسیدان‌ها نسبت به عصاره‌های تام گیاهی در خاصیت احیاکنندگی، پیشنهاد می‌گردد با استخراج آنتی‌اکسیدان‌ها از عصاره های گیاهی، از این مواد برای سنتز نانوذرات استفاده گردد.

**منابع:**

سلیمانی ده دیوان، نجمه و درویشی زیدآبادی، داود، ۱۳۹۷، نقش آنتی اکسیدان های گیاهی در مهار رادیکال های آزاد و بهبود ایمنی غذایی، فصلنامه ایمنی زیستی، سال یازدهم شماره ۱، صفحات:۲۲ –۱۱

Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020). A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, *25*(14), 3191 .

Goodarzi, V., Zamani, H., Bajuli, L., & Moradshahi, A. (2014). Evaluation of antioxidant potential and reduction capacity of some plant extracts in silver nanoparticles' synthesis. *Molecular biology research communications*, *3*(3), 165 .

Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, *89*(3), 217-233 .

Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications–An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *24*(4), 473-484 .

McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*, *108*(8), 652-659 .

Mohamad, N. A. N., Arham, N. A., Jai, J., & Hadi, A. (2014). *Plant extract as reducing agent in synthesis of metallic nanoparticles: a review.* Paper presented at the Advanced Materials Research.

Mousavi-Khattat, M., Keyhanfar, M., & Razmjou, A. (2018). A comparative study of stability, antioxidant, DNA cleavage and antibacterial activities of green and chemically synthesized silver nanoparticles. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, *46*(sup3), S1022-S1031 .

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(11), 3122-3128 .

Rahimi-Nasrabadi, M., Pourmortazavi, S. M., Shandiz, S. A. S., Ahmadi, F., & Batooli, H. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using Eucalyptus leucoxylon leaves extract and evaluating the antioxidant activities of extract. *Natural Product Research*, *28*(22), 1964-1969 .

Senthilkumar, S., & Sivakumar, T. (2014). Green tea (Camellia sinensis) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities. *Int J Pharm Pharm Sci*, *6*(6), 461-465 .

Stozhko, N. Y., Bukharinova, M. A., Khamzina ,E. I., Tarasov, A. V., Vidrevich, M. B., & Brainina, K. Z. (2019). The effect of the antioxidant activity of plant extracts on the properties of gold nanoparticles. *Nanomaterials*, *9*(12), 1655 .

Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, *6*(2), 257-262 .

## A review of nanoparticle synthesis using antioxidants

**Hajar Alsadat Mansouri Tehrani❊, Mehrnaz Keyhanfar**

Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan

Free radicals are produced during oxidation reactions in cells. Due to the presence of unpaired electron in the free radicals, they are highly reactive and toxic. Antioxidants (natural and synthetic) are compounds that prevent damage to cells caused by free radicals. In addition, the plant antioxidants can be used as reducing agents in the green synthesis of nanoparticles. These green nanoparticles are more stable, have narrow-ranged size and exhibit improved biological properties.

**Key words**: Free radicals, Antioxidants, Plant extracts, Nanoparticles

# تغییرات فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه سویا تیمار شده با سولفید هیدروژن سدیم در شرایط تنش کادمیوم

نازی ستوده نیا[۱]، حکیمه علومی[۱*]، سید محمد جواد آروین[۲]
[۱]گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
[۲]گروه تولیدات گیاهی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

## چکیده

در این پژوهش اثر سولفید هیدروژن برون‌زا بر ترکیبات آنتی اکسیدان گیاهچه سویا تحت تنش متوسط و شدید کادمیوم در طرح فاکتوریل کامل تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. محلول پاشی غلظت‌های صفر و ۵۰ میکرومولار سولفید هیدروژن سدیم بعنوان عامل آزادکننده $H_2S$ بر روی گیاهچه سویا تحت تنش ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم کلراید انجام شد. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در حضور NaHS افزایش نشان داد درحالیکه فعالیت پراکسیداز تحت تاثیر آن قرار نگرفت. سولفید هیدروژن سدیم همچنین باعث افزایش محتوای گلوتاتیون کل و آنزیم گلوتاتیون در گیاهچه‌های تحت تنش کادمیوم شد. تیمار گیاهچه با سولفید هیدروژن منجر به کاهش میزان پراکسید هیدروژن تولید شده در شرایط تنش شد. این نتایج در حالی بود که جذب کادمیوم در تیمار NaHS تغییری نشان نداد. بر اساس نتایج به نظر می‌رسد هیدروژن سولفور از طریق تاثیر بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان و چرخه گلوتاتیون، تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کادمیوم را تخفیف داده و منجر به حفظ محتوای آب و بهبود رشد گیاهچه سویا می‌شود.

کلمات کلیدی: گلوتاتیون، سویا، هیدروژن سولفور، نسبت ریشه به ساقه

## مقدمه

کادمیوم را می‌توان یکی از اصلی ترین فلزات سنگینی به شمار آورد که در گیاهان ایجاد تنش اکسیداتیو می‌کند و سمیت ناشی از این عنصر فلزی تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین، شناخته شده است. اگرچه وجود این فلز سنگین ضرورتی برای رشد گیاه ندارد، با این حال به‌راحتی از طریق ریشه جذب گیاه می‌شود. یکی از مهمترین پیامدهای مخرب جذب این فلز توسط گیاه، اختلال در عملکرد طبیعی آنزیم ها و در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ایجاد تنش اکسیداتیو است که خود به ترکیبات حیاتی سلول مانند اسیدهای چرب غیراشباع پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب جدی وارد می کند (۱).

هیدروژن سولفور ($H_2S$)، در مقادیر کم در سلول‌ها تولیدشده و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی به عنوان پیام رسان مشارکت دارد. این ترکیب در گیاهان به‌صورت درون‌زا تولید می‌شود و در بسیاری از فرایندهای رشد و نمو گیاه، از جوانه‌زنی بذر تا پیری و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارد. تیمار سولفید هیدروژن سدیم بعنوان منبع آزاد کننده هیدروژن سولفور بصورت برون‌زا اثرات مخرب بسیاری از تنش‌های محیطی را تخفیف می‌دهد. در گیاهان، هیدروژن سولفور در پیام‌رسانی در بسیاری از تنش‌ها ازجمله فلزات سنگین نقش دارد و معمولاً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در چنین شرایط تنشی را تنظیم می‌کند (۲).

مسیرهای متابولیکی مختلف در پاسخ به استفاده از منابع گوگردی مختلف برای تولید $H_2S$ درگیر هستند. استفاده از سولفید هیدروژن سدیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات-پراکسیداز و غلظت $H_2O_2$ و فعالیت لیپواکسیژناز را در گیاه افزایش می‌دهد. در هیپوکوتیل خیار این ترکیب سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ازجمله سوپر اکسیداز دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز شده است. کاربرد هیدروژن سولفور در دانه رست‌های گندم، تنش ناشی از سمیت نیکل را تخفیف می‌دهد. همچنین گزارش‌شده کاربرد سولفید هیدروژن سدیم تنش کادمیوم را در گیاه برنج تخفیف می‌دهد (۳).

اگرچه در حال حاضر گزارش‌های متعددی در خصوص کارایی سولفید هیدروژن سدیم در کاهش خسارات تنش فلزات سنگین وجود دارد، عملکرد و تأثیر این ترکیب در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای گلوتاتیون گیاه سویا کمتر موردتوجه قرارگرفته است. در این پژوهش نقش سولفید هیدروژن (نمک سولفید هیدروژن سدیم) به‌عنوان یک مولکول سیگنال در پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه سویا بررسی‌شده است.

**مواد و روش ها**

این پژوهش به صورت طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار و شرایط گلخانه دانشگاه تحصیلات تکمیلی و فناوری پیشرفته کرمان در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. بذر گیاه سویا *Glycin max* رقم امیر از مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان واحد نهال و بذر تهیه شد و پس از کاشت در گلدان در محیط هیدروپونیک و بستر پرلیت، کادمیوم با غلظت‌های ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار و سولفید هیدروژن با غلظت‌های ۰ و ۵۰ میکرو مولار اعمال شد. پس از گسترش برگ سوم تیمار سولفید هیدروژن سدیم سه مرتبه بصورت پاششی و دو روز درمیان روی سطح رویی و زیرین برگ گیاهچه انجام شد. اعمال تنش کادمیوم نیز همزمان با تیمار سولفید هیدروزن در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار در آب آبیاری شروع و به مدت ده روز ادامه یافت. پس از برداشت گیاهچه، نسبت طول ریشه به ساقه اندازه‌گیری و یادداشت شد. برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ، برگ رفرنس (برگ سوم) بلافاصله درون یخ قرارگرفته و در آزمایشگاه وزن‌تر آن‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. بافت‌های فریز شد در ازت مایع تا زمان انجام سایر آزمایشات در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مطالعات بیوشیمیایی روی برگ گسترش یافته چهارم انجام شد.

سنجش محتوای پراکسیدهیدروژن با استفاده از روش Velikova (2000) انجام شد (٤). محتوای پراکسیدهیدروژن هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی ٤٣,٦ $M^{-1}cm^{-1}$ در ٢٤٠ نانومتر محاسبه و برحسب میکرو مول بر گرم وزن‌تر گزارش شد. عصاره گیری آنزیمی و سنجش مقدار پروتئین از روش Bradford (1978) در طول موج ۵۹۵ نانومتر و با رسم منحنی استاندارد آلبومین انجام شد (۵). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول‌موج ٢٤٠ نانومتر و روش اصلاح شده Velikova (2000) انجام گرفت . یک واحد فعالیت آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که یک میلی مول آب‌اکسیژنه را در مدت ۱ دقیقه تجزیه کند. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول انجام شد. یک واحد فعالیت پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میکرومول گایاکول را در مدت ۱ دقیقه اکسید کند. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس روش Nakano and Asada, 1981 انجام شد. یک واحد فعالیت APX مقدار آنزیمی است که یک میکرومول آسکوربیک اسید را در

مدت یک دقیقه اکسید کند. فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR) به‌وسیله اکسیداسیون NADPH تعیین شد (٦). برای سنجش مقدار گلوتاتیون کل از روش Griffith (۱۹۸۰) استفاده شد (۷).

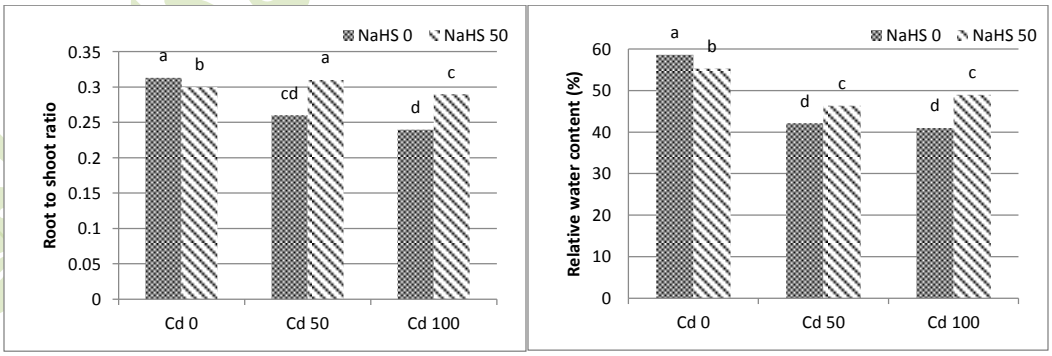
به‌منظور اندازه‌گیری غلظت کادمیوم از بافت خشک و روش شعله استفاده شد. سنجش یون توسط دستگاه جذب اتمی Graphite Tube Atomizer GTA-110 مدل Graphite Tube Atomizer، Spectra aa 220Varian ساخت کشور استرالیا انجام گرفت.

بررسی‌های آماری: داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS مورد آنالیز واریانس (ANOVA) قرارگرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

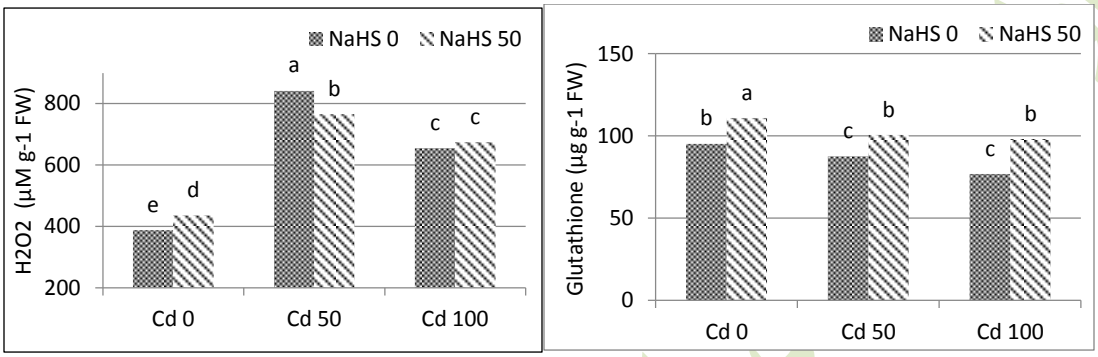
بر اساس نتایج آنالیز واریانس، اثر تنش متقابل NaHS و کادمیوم بر ویژگیهای نسبت ریشه به ساقه، محتوای نسبی آب برگ، پراکسید هیدروژن، گلوتاتیون کل و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، APX و گلوتاتیون ردااکتاز در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل NaHS و کادمیوم بر فعالیت گایاکول پراکسیدازو جذب کادمیوم تغییر معنی‌داری نشان نداد.

مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن، نشان داد که تیمار کادمیوم به طور قابل توجه باعث کاهش نسبت ریشه به اندام هوایی می شود در حالیکه تیمار با سولفید هیدروژن سدیم، این ویژگی را در تنش متوسط و شدید کادمیوم بهبود بخشید. محتوای نسبی آب برگ نیز در تیمار کادمیوم کاهش یافت، درحالیکه NaHS بطور معنی‌داری باعث حفظ این ویژگی در گیاهان تحت تنش کادمیوم شد. این نتایج درحالی است که محلول پاشی NaHS بر گروه کنترل، نسبت طول ریشه به اندام به ساقه و محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد (شکل ۱، الف و ب). بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزنه‌های برگ را می‌بندند، درنتیجه جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند. محققان بر این عقیده‌اند که تجمع فلزات سنگین در ریشه موجب می‌شوند که انتقال آب و مواد محلول از ریشه به اندام هوایی متوقف گردد و اندام هوایی دچار تنش خشکی شوند. این داده‌ها کاهش محتوای آب را در شرایط تنش کادمیوم در گیاه سویا توجیه میکند. کاهش رشد و فعالیت ریشه و افزایش میزان تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی از عوامل مؤثر در کاهش محتوای نسبی آب شناخته‌شده‌اند. بنابراین علت کاهش نسبت ریشه به ساقه می‌تواند مربوط به اختلال عملکرد آبی گیاه باشد.




شکل ۱– تأثیر سولفید هیدروژن بر نسبت ریشه به ساقه و محتوای آب نسبی گیاه سویا تحت تنش کادمیوم. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) است.

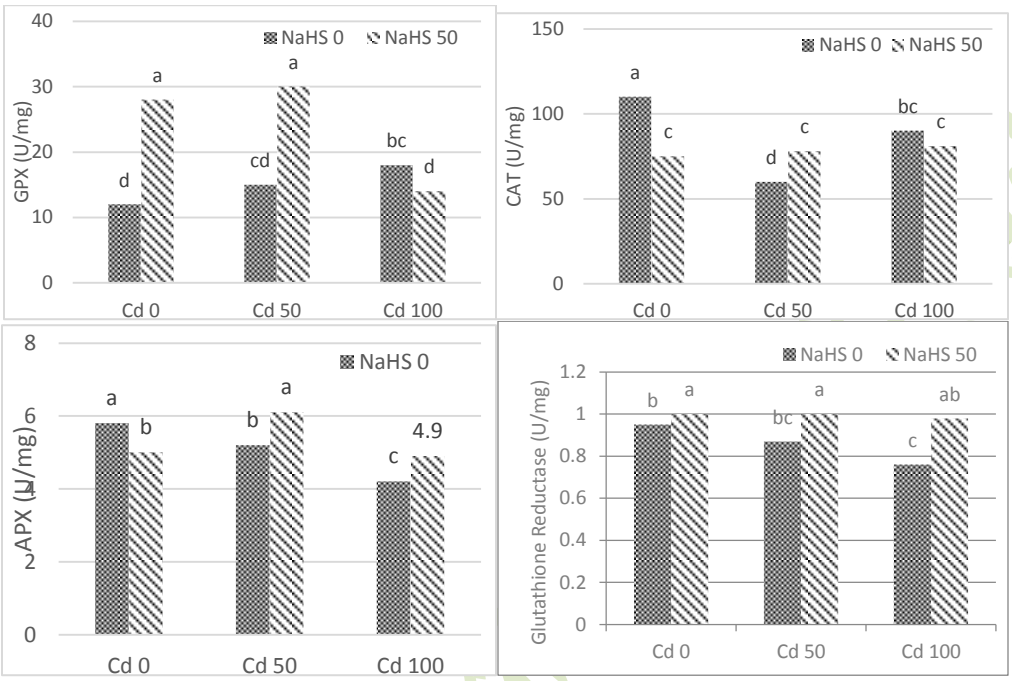
مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کادمیوم منجر به افزایش پراکسید هیدروژن برگ سویا می‌شود درحالیکه محتوای گلوتاتیون در شرایط تنش کادمیوم کاهش یافت. تیمار سولفید هیدروژن سدیم منجر به کاهش تولید پراکسید هیدروژن در شرایط تنش کادمیوم شد. همچنین NaHS محتوای گلوتاتیون را در گیاهان شاهد و تحت تنش افزایش داد. گزارش شده است پیش‌تیمار گیاهان نخود با NaHS، به طور معنی‌داری غلظت $H_2O_2$ را در گیاهان تحت تنش کمبود اکسیژن نسبت به گیاهان شاهد کاهش داده است. افزایش محتوای پراکسیدهیدروژن در شرایط تنش کادمیوم می تواند بعلت اختلال در عملکرد آنزیم های آنتی اکسیدان باشد.




شکل ۲- تأثیر سولفید هیدروژن بر محتوای پراکسیدهیدروژن و گلوتاتیون گیاه سویا تحت تنش کادمیوم. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) است.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش کادمیوم شدید کاهش یافت، اما فعالیت گایاکول پراکسیداز در حضور کادمیوم فزایش نشان داد. آنزیم‌های مذکور بطور قابل توجهی در تنظیم میزان پراکسید هیدروژن در گیاه نقش دارند. بنابراین کاهش فعالیت این آنزیم ها در شرایط تنش می‌تواند دلیل افزایش پراکسید هیدروژن باشد. تنش کادمیوم همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردکتاز را کاهش داد. اثر تیمار NaHS در شرایط تنش شدید و متوسط کادمیوم متفاوت بود بطوریکه باعث بهبود فعالیت CAT و GPX در تنش متوسط شد اما در شرایط تنش شدید کادمیوم منجر به کاهش فعالیت این دو آنزیم گردید. اما NaHS فعالیت گلوتاتیون ردکتاز را در شرایط تنش شدید و متوسط کادمیوم افزایش داد. کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در حضور NaHS می‌تواند بعلت بهبود فعالیت آنزیم‌های درگیر در چرخه گلوتاتیون از جمله گلوتاتیون ردکتاز و آسکوربات پراکسیداز باشد. همچنین افزایش محتوای گلوتاتیون کل، اثر تنظیمی سولفید هیدروژن سدیم را در شرایط تنش کادمیوم نشان می‌دهد. از آنجاییکه NaHS تاثیر معنی‌داری بر جذب کادمیوم در شرایط تنش نداشت، نتایج آورده نشده است. اما با بررسی کلی نتایج این پژوهش می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاهش رشد گیاه ناشی از کادمیوم بدلیل بروز تنش اکسیداتیو و اختلال در علمکرد آنزیم‌های آنتی اکسیدان بوده که این اختلالات بویژه در غلظت‌های کم کادمیوم توانسته است توسط تیمار سولفید هیدروژن سدیم جبران شود. این نتایج در حالی است که سولفید هیدروژن بر جذب کادمیوم در شرایط تنش تاثیری ندارد.

آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) مولکول‌های ضروری آسکوربات / گلوتاتیون هستند که برای حذف پراکسیدهیدروژن به‌طور عمده در کلروپلاست‌ها و سایر اندام‌های سلولی تولید می‌شود و برای حفظ حالت ردوکس سلول عمل می‌کند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در حضور NaHS توسط محققان دیگر هم تایید شده است. در مطالعه مشابهی که توسط گلوآکا و همکاران (۲۰۱۹) صورت گرفته است کادمیوم باعث کاهش فعالیت تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موردمطالعه (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) شده است. در مطالعه مذکور نیز فعالیت کادمیوم وابسته به غلظت بوده است.




شکل ۳ تأثیر سولفید هیدروژن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه سویا تحت تنش کادمیوم. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) است.

**نتیجه گیری:**

سولفید هیدروژن سدیم با بهبود محتوای آب و اثر بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه سویا در شرایط تنش کادمیوم می‌تواند تنش اکسیداتیو و سمیت کادمیوم را کاهش داده و منجر به بهبود رشد گیاه شود.

منابع:

Haing U, Nam-HoSeo C, 2005, Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogenperoxide accumulation. Plant Science. 168: 113-120

Kaya C, Ashraf M, Nasse Alyemeni r M, Ahmad P, 2018, Responses of nitric oxide and hydrogen sulfide in regulating oxidative defence system in wheat plants grown under cadmium stress. Environmental Science and Pollution Research 25, 12612–12618

Akhilesh K. Pandey, Arti Gautam, 2020, Stress responsive gene regulation in relation to hydrogen sulfide in plants under abiotic stress, Physiologia Plantarum, 168: 511-525.

Velikova, V., Yordanov, I. & Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines, *Plant Science*, 151 (1):59-66

Bradford, Marion M. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding." Analytical biochemistry 72.1-2 (1976): 248-254.

Nakano O, Asada, K, 1981, Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts, *Plant and Cell Physiology*, 22: 867–880

Griffith, Owen W. "Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine." Analytical biochemistry 106.1 (1980): 207-212.

Głowacka, Katarzyna, et al. "The Effect of Cadmium on the Activity of Stress-Related Enzymes and the Ultrastructure of Pea Roots." Plants 8.10 (2019): 413.

# Changes on antioxidant defense system of NaHS-treated soybean plants under cadmium stress

**Nazi Sotoodenia[1], Hakimeh Oloumi[1*], Mohammad Javad Arvin[2]**

**[1]Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran**
**[2]Plant Products Division, Agriculture Department, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran**

**Abstract**
In this study, the effect of exogenous application of hydrogen sulfide on antioxidant compounds of soybean seedlings under moderate and severe cadmium stress was investigated in a randomized factorial design. Foliar application of zero and 50 µM of sodium hydrogen sulfide as a $H_2S$ releasing agent was performed on soybean seedlings under 50 and 100 µM $CdCl_2$ stress. The results showed that the activity of catalase and ascorbate peroxidase increased in the presence of NaHS while peroxidase activity was not affected. Sodium hydrogen sulfide also enhanced the content of total glutathione and the glutathione reductase activity in seedlings under cadmium stress. Seedlings treatment with hydrogen sulfide also mitigated the amount of hydrogen peroxide under Cd stress conditions. NaHS treatment did not have any significant effect on cadmium uptake of soybean seedlings. Based on the results, it seems that hydrogen sulfide through alleviating the oxidative stress, regulation of antioxidant enzymes activity and the glutathione cycle, and also maintaining relative water content of leaves mitigates cadmium toxicity effects on soybean seedlings growth.

**Keywords:** glutathione, *Glycine max*, hydrogen sulfide, root to shoot ratio

# ارزیابی کاربرد اسیدآمینه گلایسین بر میزان کاروتنوئید و آنتوسیانین گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) تحت تنش خشکی

**رستم یزدانی بیوکی[1*]، ساره خواجه حسینی[2]**

[1*] استادیار، مرکز ملی تحقیقات شوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد

[2] دانش آموخته دکتری گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

r.yazdani@areeo.ac.ir

**چکیده:**

به منظور ارزیابی اثر اسیدآمینه گلایسین بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) تحت تنش خشکی، تحقیقی در استان یزد به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۸ به اجرا درآمد. تنش خشکی درسه سطح (۳۰ ، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی اسیدآمینه گلایسین در دو سطح (۰ و ۲/۵ در هزار) بودند. نتایج نشان داد افزایش سطح خشکی، کاهش ۶/۳۲ درصد و ۲۱/۳۷ درصد در میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد را در بر داشت. محلول‌پاشی گلایسین، در تقابل با تیمار شاهد تنش، بیشترین میزان کاروتنوئید (۹/۴۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و در تقابل با تیمار تنش شدید بیشترین میزان آنتوسیانین (۰/۰۵۵ جذب در گرم وزن تر) را سبب گردید. در مجموع، این ماده، با افزایش ۳/۰۵ درصدی میزان کاروتنوئید و ۳۰/۹۵ درصدی میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شیرین بیان، تاثیرگذار بود.

**کلمات کلیدی**: اکسیژن فعال، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، گیاهان دارویی

## مقدمه

شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*)، گیاهی چندساله، از خانواده لگوم‌ها (Leguminosae)، ملین و خلط‌آور **بوده و** در درمان زخم‌های معده و اثنی عشر، بیماری‌های دستگاه تنفس کاربرد دارد (یزدانی و همکاران، ۱۳۹۹؛ امید بیگی، ۱۳۸۵).

کمبود آب، از مهم‌ترین، محدودیت‌های تولید در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می‌آید (Reddy *et al.*,2004). تنش خشکی، تغییر در متابولیسم گیاهی، تعادل هورمونی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال که خاصیت اکسید کننده قوی داشته و باعث خسارت به چربی‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاء سلولی می‌گردند، را موجب می‌شود (حیدری و همکاران، ۱۳۹۲). یکی از راهکارهای مقابله گیاهان با اثرات مخرب اکسیژن فعال، بکارگیری ترکیبات آنتی‌کسیدانی غیرآنزیمی همانند کاروتنوئیدها، اسید آسکوربات، آنتوسیانین، گلوتاتیون، توکوفرول و فلاونوئید می‌باشد (AL-Aghabary *et al.*, 2004). در چنین شرایطی که ساخت اسیدهای آمینه در گیاهان مشکل و یا متوقف شده، استعمال این گونه مواد، نیاز ساخت آن را توسط گیاه مرتفع کرده و این امکان را در گیاه ایجاد کرده که، انرژی ذخیره شده خود را صرف رشد، بالا بردن عملکرد و کیفیت محصول نماید (Thomas *et al.*, 2009). اسیدآمینه گلایسین (NH2-CH2-COOH) از جمله اسیدآمینه‌هایی است که در جریان تنش‌های محیطی سنتز می‌شود.

تحقیق حاضر با هدف بررسی تغیرات در ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در واکنش به تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدآمینه، مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در استان یزد در سال زراعی ۱۳۹۸، به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تنش خشکی درسه سطح (۳۰ ، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی اسیدآمینه گلایسین در دو سطح (۰ و ۲/۵ در هزار) اعمال گردید. پس از سه ماه از اعمال تیمارها، نمونه‌برداری برگی جهت سنجش کاروتنوئیدها از روش (Arnon, 1949) و همچنین آنتوسیانین (Nogues and Baker. 2000) انجام شد. داده‌ها با نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل و مقایسات میانگین نیز با آزمون LSD در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده سطوح مختلف خشکی (P<۰/۰۱) بر میزان کاروتنوئید، اسیدآمینه گلایسین (P<۰/۰۵) بر میزان آنتوسیانین و همچنین اثرات متقابل تیمارهای خشکی و اسیدآمینه گلایسین (P<۰/۰۵)، بر میزان پارامترهای مذکور، معنی‌دار بودند (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، با افزایش تنش خشکی، کاهش ٦/٣٢ درصدی و ٢١/٣٧ درصدی در میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد مشاهده گردید. کاهش در محتوای کاروتنوئیدها را می‌توان به اکسیدشدن آن‌ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختارهایشان نسبت داد (Akbari *et al.*, 2016). در همین راستا نتایج مشابهی در مارتیغال (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۷) گزارش شد.

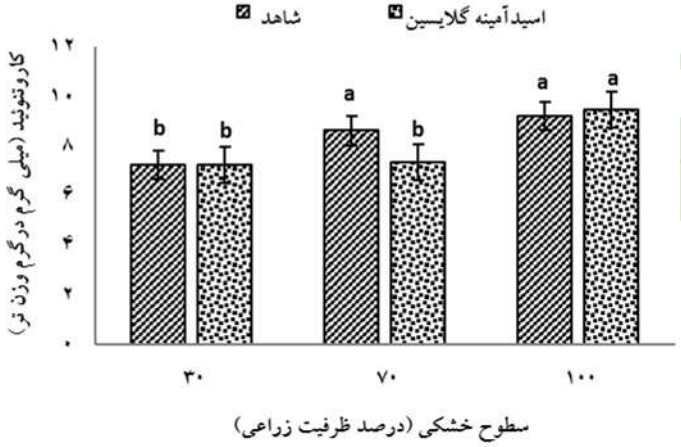
**جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس کاروتنوئید و آنتوسیانین در گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) تحت تنش خشکی و اسیدآمینه گلایسین**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | کاروتنوئید | آنتوسیانین |
|---|---|---|---|
| خشکی | ۲ | ٦/٧٧ ** | ٦/٤٩ ns |
| گلایسین | ۱ | ۰/٤٩ ns | ۰/۰۰۰۳ * |
| خشکی و گلایسین | ۲ | ۱/۰۵ * | ۰/۰۰۰٤ * |
| خطا | ۱۲ | ۰/۲۵ | ٥/٣٤ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ٦/۰۳ | ۱۷/٦٨ |

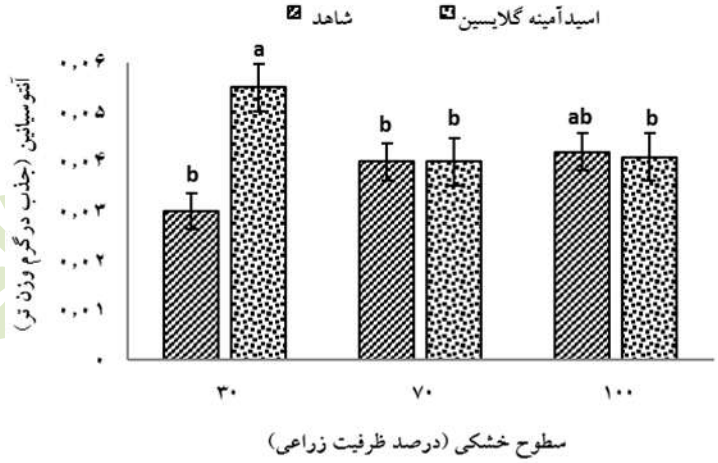
****: معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ ، *: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ، ns: عدم معنی‌داری**

محلول‌پاشی گلایسین افزایش معنی‌داری درمیزان هر دو پارامتر داشت، بطوریکه در بر همکنش با تیمار شاهد تنش، بیشترین میزان کاروتنوئید (۹/٤٥ میلی‌گرم در گرم وزن تر) (شکل ۱) و در بر همکنش با تیمار تنش شدید بیشترین میزان آنتوسیانین (۰/۰۵۵ جذب در گرم وزن تر) را باعث گردید (شکل ۲). بعبارتی این اسیدآمینه باعث افزایش ۳/۰۵ درصد میزان کاروتنوئید و افزایش ۳۰/۹۵ درصد میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد گردید. در همین راستا نیز پژوهشگران نتایج مشابهی را گزارش کردند (یزدانی

بیوکی و خواجه حسینی،۱۳۹۹). با نظر به اینکه اسید آمینه گلایسین توانایی بالابردن آنزیم‌هایی نظیر پلی فنل اکسیداز (PPO) که از جمله آنزیم‌هایی کاتالیز کننده مسیر تبدیل چالکون‌ها به آرون‌ها که گروهی از ترکیبات فلاونوئیدی همچون آنتوسیانین است را باعث می‌گردد (Khoshsokhan mozaffar *et al*., 2013)، بنابراین افزایش در میزان آنتوسیانین‌ها، در نتیجه کاربرد این ماده در گیاه قابل انتظار می‌باشد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و برتری که اسیدآمینه گلایسین در افزایش میزان آنزیم‌های گیاهی دارد، بنابراین کاربرد خارجی این ماده در گیاهان دارویی تحت تنش کمبود آب، در راستای تحمل به شرایط نامساعد محیطی، می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب در مناطق با شرایط آب و هوایی گرم و خشک که با پدیده کمبود آب مواجه هستند، مطرح گردد.




شکل ۱– تاثیر تنش خشکی و اسیدآمینه گلایسین بر میزان کاروتنوئید در گیاه شیرین بیان




شکل ۲– تأثیر تنش خشکی و اسیدآمینه گلایسین بر میزان آنتوسیانین در گیاه شیرین بیان

## منابع

حیدری، م.، میری، ح.ر.، مینایی، آ. ۱۳۹۲. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago Officinalis* L.) در واکنش به تیمارهای تنش خشکی و اسید هیومیک. تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۶(۲): ۱۷۰– ۱۵۹.

یزدانی بیوکی، ر.، بناکار، م. ح.، خواجه حسینی، س. ۱۳۹۹. مروری بر توسعه کاشت هالوفیت دارویی شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) جهت احیای اراضی شور. دومین همایش بین المللی شورورزی. یزد. ص ۹۸۹-۹۸۴.

یزدانی بیوکی، ر.، خواجه‌حسینی، س. ۱۳۹۹. اثر هم‌افزایی تنش خشکی و تیمار اسیدآمینه گلایسین بر واکنش‌های ساختاری وآنتی اکسیدانی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*). نشریه تولید گیاهان زراعی. ۱۳(۱): ۱۵۸-۱۴۷.

یعقوبیان، ا.، قاسمی گلعذانی، ک.، راعی، ی. ۱۳۹۷. تغییرات پوشش سبز و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) در واکنش به پیش‌تیمار آبی بذر و کمبود آب. علوم و تحقیقات بذر ایران. ۵(۲): ۵۹-۷۰.

Akbari, Sh., Kafi, M., and Rezvan Beidokhti, Sh.(2016). The Effect of Drought Stress and Plant Density on Biochemical and Physiological Characteristics of Two Garlic (*Allium sativum L.*) Ecotypes. J.Field.Crops.Res.14:4. 665-674.

Arnon, D., (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology. 24:1-15.

AL-Aghabary, K., Zhujun, Z. and Qinhua, S. (2004) Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. Journal of Plant Nutrition. 27: 2101-2115.

Khoshsokhan mozaffar, M., Jafari, L., and Vatankhah, E., (2013). The effect of Anthracene on oxidative stress factors in (*Medicago sativa* L.). Journal of Scientific Research Applied Biology. 3(12): 58-82.

Nogues S., and Baker N R. (2000). Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants growth under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany.51: 1309-1317.

Reddy, A.R.,K.V.Chiatanya, and M. Vivekanandan. (2004). Drought induced responses ofphotosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants.Journal ofPlantPhysiology. 161: 1189-1202.

Thomas J, Mandal AKA, Raj Kumar R and Murugan, AC, (2009). Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of Tea (*Camellia* sp.). International Journal of Agricultural Research. 4(7): 228-36.

## Evaluation the glycine amino acid application on carotenoid and anthocyanin content on Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) under drought stress

**Rostam Yazdani Biouki [1], Sarah Khajeh Hosseini[2]**

[1] *Assistant Professor, National Salinity Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran*

[2]*Ph.D.Graduated, Department of Agriculture, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.*

*r.yazdani@areeo.ac.ir*

**Abstract**:

In order to evaluate the effect of glycine amino acid on the amount of antioxidant enzymes of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) under drought stress, a factorial experiment was conducted in Yazd province based on a completely randomized design with three replications in 2019. The drought stress was at three levels (30, 70 and 100% of field capacity) and glycine foliar application was at two levels (0 and 2.5 per thousand). The results showed that the drought stress reduced the levels of carotenoids (6.32%) and (21.37%) compared to the control. Glycine foliar application caused the highest amount of carotenoids (9.45 $mg.g^{-1}$.FW) in contrast to the control and the highest amount of anthocyanins (0.055 absorption per g FW) in contrast to the severe stress treatment. In general, this substance was effective in increasing the antioxidant capacity of licorice plant by increasing the amount of carotenoids by 3.55% and the amount of anthocyanins by 30.95% compared to the control.

**Keywords**: Reactive oxygen, Antioxidant compounds, Medicinal plants

# ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ‌های اندوفیت جداشده از گیاهان داروئی

*سعید ملائی*[*1]، *مصطفی عبادی*[2]
[1]تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی
[2]تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی
E-mail: s.mollaei@azaruniv.ac.ir

**چکیده:**
قارچ‌های اندوفیت میکروارگانیسم‌هایی هستند که در داخل سلول‌های گیاهی هستند و منبع بالقوه متابولیت‌های ثانویه گیاهی با خاصیت های آنتی اکسیدانی هستند. ازاین‌رو، در این پژوهش، خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برخی از قارچ‌های اندوفیت جداشده از گیاهان داروئی به روش تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH موردبررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، ارتباط مستقیمی بین محتوای ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها موجود بود و عصاره متانولی قارچ های *Alternaria tenuissima* و *Fusarium tricinctum* بیشترین بازده را در فعالیت‌های آنتی اکسیدانی، فنول و فلاونوئید از خود نشان دادند. درنتیجه، با توجه به زمان تولید کوتاه مدت و نرخ رشد بالای قارچ‌های مذکور و عدم نیاز به تخریب اکوسیستم نسبت به حفظ ذخایر گیاهان دارویی، این اندوفیت ها می تواند منبع خوبی برای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی باشد.

**کلمات کلیدی**: فلاونوئید، فنول، قارچ های اندوفیت، گیاهان داروئی.

**مقدمه**

اندوفیت ها میکروارگانیسم‌های هستند که در داخل گیاه بخصوص برگ ها، ساقه ها و ریشه ها به صورت همزیست زندگی می‌کنند و هیچ آسیبی آشکاری به میزبان نمی‌رسانند (Duan et al., 2010). تقریبا همه رده‌های گیاهان آوندی و گیاهان داروئی موردبررسی قرار گرفته تا به امروز میزبان موجودات اندوفیت هستند (Aly et al., 2011). قارچ‌های اندوفیت مخزن متابولیت‌های ثانویه میزبان خود بوده و حاوی ترکیبات فعال زیستی می‌باشند. قارچ‌های اندوفیت گیاهان دارویی درنتیجه همزیستی طولانی‌مدت با این گیاهان می‌توانند توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه جدید را به دست آورند (Arbaayah et al., 2013). محققین باور دارند، دلیل این‌که چرا قارچ‌های اندوفیت برخی ترکیبات شیمیایی شبیه به گیاهان را تولید می‌کنند این است که یک نوترکیبی ژنتیکی در طی تکامل بین اندوفیت و میزبانش رخ داده است (Shahiri et al., 2016). علاوه بر این مشخص شده که تولید ترکیبات ثانویه با ارزش از منبع میکروبی آسان‌تر، با سرعت بالاتر و اقتصادی‌تر بوده و در کاهش قیمت فروش آن‌ها موثر است. همچنین بسیاری از گزارش‌ها و مطالعات در مورد فعالیت‌های بیولوژیکی اندوفیت‌ها مانند اثرات ضدسرطان و اثرات ضد میکروبی منتشر شده در صورتی‌که خواص آنتی‌اکسیدانی قارچ اندوفیت گیاهان دارویی به میزان بسیار کم مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

با توجه به اینکه قارچ های اندوفیت جداشده از گیاهان داروئی بدلیل دارا بودن ترکیبات فنولی می توانند منبع مهمی برای متابولیت های ثانویه با خاصیت آنتی اکسیدانی باشند اما تا به امروزه، مطالعه اندکی بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی قارچ های اندوفیت جداشده از گیاهان داروئی انجام گرفته است. لذا، در این پژوهش، خواص آنتی‌اکسیدانی برخی قارچ‌های اندوفیت جداشده از گیاهان داروئی مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

### تهیه عصاره قارچ های اندوفیت

پس از خشک کردن قارچ های اندوفیت کشت داده شده، یک گرم از آنها خرد شدند و با استفاده از متانول (۱۰ میلی لیتر) در دمای اتاق به مدت ۷ روز عمل استخراج انجام گرفت. عصاره‌های حاصل فیلتر و خشک شدند و سپس در ٤ °C نگهداری شدند.

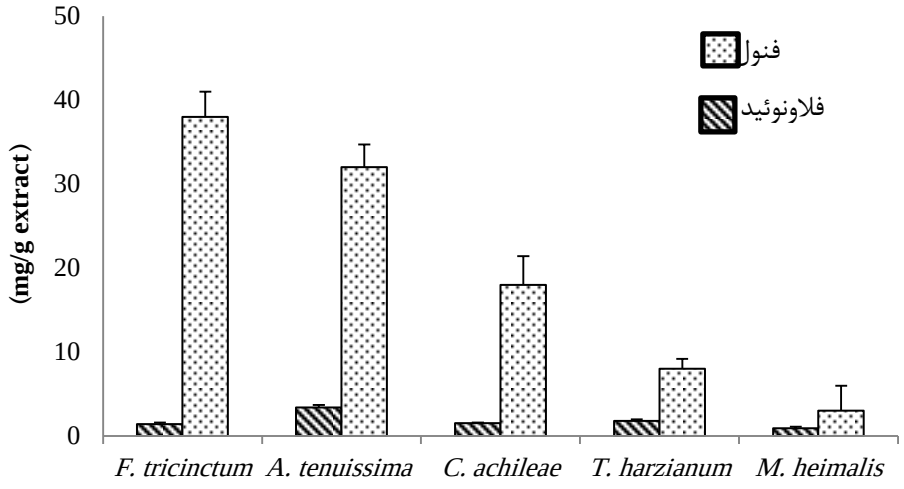
### فعالیت مهار رادیکال آزاد با استفاده از DPPH

برای اندازه گیری **خاصیت آنتی اکسیدانی**، ۵۵۰ میکرولیتر از محلول DPPH (۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر) با ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های متفاوت از عصاره (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ٦۲,۵، ۳۱,۲ و ۱۵,٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مخلوط شد. مخلوط در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد و میزان جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. درصد فعالیت حذف رادیکال با توجه به معادله زیر محاسبه شد:

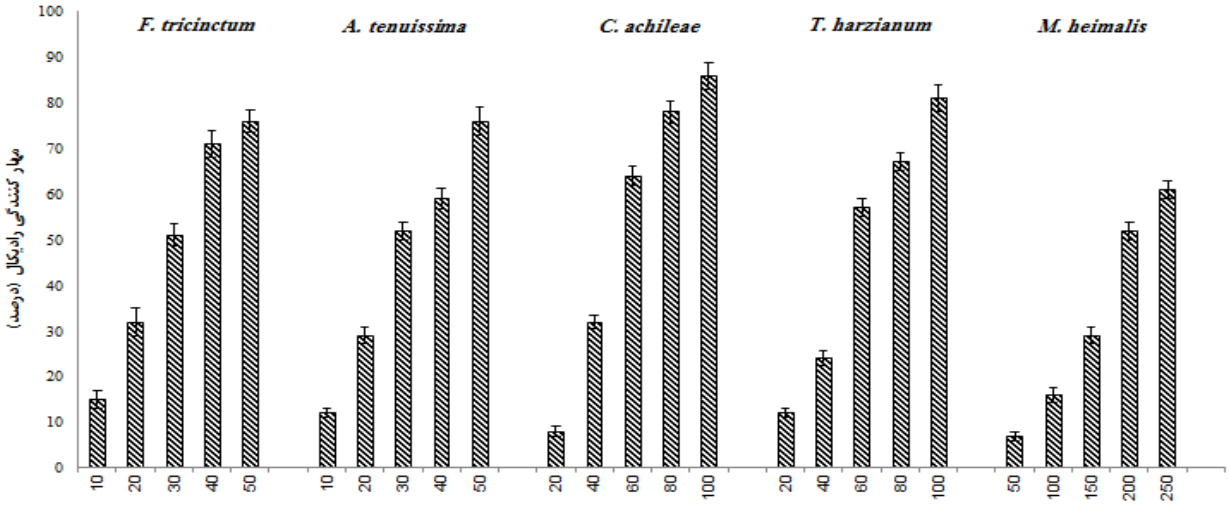
$$RSC\ (\%) = [(A\ control - A\ sample)/A\ control] \times 100$$

## نتایج

برای محاسبه محتوای کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره قارچ ها از منحنی استاندارد گالیک اسید و معادله بدست آمده از آن استفاده گردید. شکل ۱ محتوای کل ترکیبات فنلی موجود در یک گرم از عصاره ها را نشان می دهد. بر اساس نتایج، بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به عصاره های *Fusarium tricinctum* و *Alternaria tenuissima* بودند و عصاره *Mucor hiemalis* نیز دارای کمترین میزان ترکیبات فنولی بود. همچنین، از منحنی استاندار کوئرستین و معادله بدست آمده از آن برای تعیین میزان فلاونوئید کل استفاده گردید. طبق نتایج بدست آمده (شکل ۱)، بیش‌ترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به عصاره *A. tenuissima* و کمترین آن مربوط به *M. hiemalis* می باشد.




شکل ۱: میزان فنول کل موجود در عصاره متانولی قارچ های اندوفیت جدا شده از گیاهان داروئی




شکل ۲: درصد مهارکنندگی رادیکالی عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی قارچ ها از روش DPPH استفاده گردید. بر اساس نتایج مشاهده شده (شکل ۲)، درصد مهارکنندگی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، افزایش می یابد و مقادیر $IC_{50}$ عصاره قارچ های *F. tricinctum* ، *A. tenuissima* ، *Chaetosphaeronema achileae*، *Trichoderma harzianum* و *M. heimalis* به ترتیب ۲۹/۹، ۲۸/۲، ٤٧/٦، ٥٢/٤، ١٩١/٣ و ١٧٨/٦ میکروگرم بر میلی لیتر می باشند. بنابراین عصاره قارچ های *F. tricinctum* و *A. tenuissima* بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را داشتند.

بحث

ترکیبات فنلی نوعی متابولیت ثانویه هستند که در گیاهان و قارچ ها یافت می شوند و دارای اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند. آنها به چندین دسته شامل فنل های ساده، اسیدهای فنولیک، کومارین ها، فلاونوئیدها، استیلبن ها، تانن ها، لیگنان ها و لیگنین ها طبقه بندی شده اند (Naczk and Shahidi, 2004). بعلاوه، ثابت شده است که این ترکیبات در جاروب کردن مولکول های اکسید کننده، از جمله اکسیژن منفرد و رادیکالهای آزاد که در چندین بیماری نقش دارند بسیار موثر هستند. بر اساس تحقیقات انجام گرفته، این ترکیبات مانع از فعالیت برخی از آنزیم ها همچون سیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز، گزانتین اکسیداز، الکل دهیدروژناز و ایزوفرم های مختلف سیتوکرم P450 که در تولید گونه های اکسیژن فعال دخیل هستند می شوند و از این طریق می توانند دارای فعالیت آنتی اکسیدانی باشند (Valentao et al., 2003). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که عصاره قارچ های *Alternaria tenuissima* و *Fusarium tricinctum* دارای محتوای بالای ترکیبات فنلی و از جمله فلاونوئیدها می باشد (شکل ۱) و عصاره این قارچ ها دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر قارچ ها می باشد. نتایج حاصل از برخی مطالعات انجام شده نشان دهنده همبستگی محتوای ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی است (Siddique *et al.*, 2010). در نتیجه، طبق نتایج بدست آمده از این تحقیق، شاید بتوان حدس زد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره قارچ

های *Alternaria tenuissima* و *Fusarium tricinctum* مربوط به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در آن است و میزان فنول و فلاونوئید کل در این تحقیق می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره قارچ ها را توجیه نماید.

**فهرست منابع:**

Aly, A.H., Debbab, A. and Chaidir, C. (2011) Fungal endophytes: Unique plant inhabitants with great promises. Applied Microbiology and Biotechnology, 90(6):1829-45.

Arbaayah, H.H. and Umi K.Y. (2013). Antioxidant properties in the oyster mushrooms (*Pleurotus spp*.) and split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) ethanolic extracts. Mycosphere, 4 (4):661-673.

Duan, X.J., Zhang, W.W., Li, X.M. and Wang, B.G. (2006) Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, Polysiphonia urceolata. Food Chemistry, 95:37-43.

Naczk, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A, 1054(1–2): 95–111.

Shahiri Tabarestani, M., Rahnam, K., Nasrollanejad. S. and Fatemi. M.H. (2016) Identification of Volatile Organic Compounds from Trichoderma virens (6011) by GC-MS and Separation of a Bioactive Compound via Nanotechnology. International Journal of Engineering, 29:1347-1353.

Siddique, N.A., Mujeeb, M., Najmi, A.K., and Akram, K. (2010). Evaluation of antioxidant activity quantitative estimation of phenols and flavonoids in different parts of Aegle marelos. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 4: 1-5.

Valentao, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Seabra, R.M., and Bastos, M.L. (2003). Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small centaury Centaurium erythraea infusion. Phytomedicine, 10:517-522.

## Evaluation of antioxidant activity of endophytic fungi isolated from medicinal plants

***Saeed Mollaei*[*1], *Mostafa Ebadi*[2]**

[1]*Tabriz, Azarbaijan Shahid Madani University, Department of chemistry*

[2]*Tabriz, Azarbaijan Shahid Madani University, Department of Biology*

*Email: s.mollaei@azaruniv.ac.ir*

**Abstract**:

Endophytic fungi are microorganisms that are present inside the plant cells and are a good source of secondary metabolites with antioxidant activities. Therefore, in this study, the antioxidant properties of some endophytic fungi isolated from medicinal plants was evaluated by DPPH free radicals method. According to the results, there was a direct relationship between the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of the extracts, and the methanolic extract of ME7 and ME4 fungi had high antioxidant activity as well as phenol and flavonoid content. Finally, considering short-term production and the high growth rate of *Alternaria tenuissima* and *Fusarium tricinctum* fungi, these endophytes can good choices for the production of antioxidant compounds.

**Key words:** Antioxidant, Flavonoids, Medicinal plants, Phenols.

# کاربرد تکنیک‌های بیوتکنولوژی و کشت بافت در تولید آنتی اکسیدان‌ها

**لیلا شبانی**

**گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد**

چکیده:

آنتی‌اکسیدان‌ها گروه متنوعی از ترکیبات هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند و بنابراین به جلوگیری از بیماری‌هایی که نتیجه استرس اکسیداتیو هستند کمک می‌کنند. رایج‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عبارتند از ویتامین‌ها (A– کاروتنوئیدها، C و E)، مولکول‌های دارای گروه تیول (تیوردوکسین‌ها، گلوتاتیون)، ترکیبات فنلی (اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها)، آنزیم‌ها و یون-های فلزی و غیره. گیاهان منبع بسیار خوبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کاروتنوئیدها، پلی‌فنل‌ها، ویتامین‌ها و بتالائین‌ها هستند. غنی‌سازی آنتی‌اکسیدان‌ها در محصولات کشاورزی از طریق مهندسی ژنتیک و تولید محصولات تراریخته حاصل می‌شود. از طرف دیگر، برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را می‌توان برای کاربرد درمانی با استفاده از روش کشت سلول گیاهی (کالوس، سوسپانسیون سلولی، کشت بافت/ اندام و غیره) تولید کرد. گزارش‌های الهام بخش و امیدوار کننده بی شماری در مورد امکانات بیوتکنولوژی گیاهی وجود دارد که باعث جهت دهی تحقیقات بیشتر راجع به تولید آنتی اکسیدان از گیاهان شده است. مولکول-های آنتی اکسیدانی برونزا که برای سلامت انسان مهم هستند (از آنجا که آنتی اکسیدان‌های درون زا می‌توانند توسط سلول‌های انسانی تولید شوند) و استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک و کشت سلول‌های گیاهی در تولید آنتی‌اکسیدان در محصولات زراعی در این بررسی ارائه می‌شود.

کلید واژه ها: آنتی اکسیدان ها، بیوتکنولوژی، مهندسی ژنتیک، کشت بافت گیاهی.

**مقدمه:**

استرس اکسیداتیو نتیجه ای از عدم تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم حفاظتی آنتی اکسیدان است که می‌تواند منجر به بروز انواع مختلف بیماری ها گردد. قرارگیری در معرض بسیاری از تنش‌های محیطی موجب تولید ROSها شامل رادیکال سوپر-اکسید ($O^{2-}$)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{-}$)، هیدروژن پراکسید ($H_2O_2$)، رادیکال‌های آلکوکسی (RO) و اکسیژن سینگلت می‌شود. تنش اکسیداتیو به‌عنوان یک تنش ثانویه شناخته‌شده و سبب آسیب اکسیداتیو در سلول‌ها می‌گردد. بسیاری از اجزای سلول مانند کلروپلاست‌ها، میتوکندری‌ها، پراکسی‌زوم‌ها در طی فعالیت‌های طبیعی سلول و در طی تنش ROS تولید می‌کنند. تجمع ROS سبب شکستگی DNA، اکسیداسیون اسیدهای آمینه، پروتئین و رنگدانه‌های فتوسنتزی و پراکسیداسیون لیپیدی و ... می‌گردد. بنابراین تعادل میان رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان‌ها برای همئوستازی سلول مورد نیاز است. آنتی اکسیدان‌ها مواد سنتتیک یا طبیعی هستند که با مکانیسم های زیادی اکسیداسیون سایر مولکول‌ها را مهار می کنند. آنها از واکنش ROS و RNS با ماکرومولکول ها (پروتئین ها، لیپیدها و DNA) جلوگیری می کنند. همئوستازی سلولی با فعالیت هم افزایی آنتی اکسیدان های

غیر آنزیمی و آنزیمی حفظ می‌شود. ازجمله مکانیسم‌ها برای جلوگیری از آسیب‌رسانی توسط ROS سیستم دفاع آنتی اکسیداتیو است که شامل اجزای آنزیمی و غیر آنزیمی است. SOD، CAT، POD، APX و GR از آنزیم‌های دخیل در پاسخ آنتی اکسیداتیو گیاهان است. گلوتاتیون، آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها و آلفا توکوفرول از اجزای غیر آنزیمی هستند. آنتی اکسیدان‌های تولید شده توسط سلول های انسانی را آنتی اکسیدان های درون زا (آنزیم ها و پروتئین ها) می نامند، در حالی که آنتی اکسیدان‌های دریافت شده توسط غذا را آنتی اکسیدان های برون زا یا آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی می نامند.

با توجه به اهمیت مولکول‌های آنتی اکسیدان برونزا برای سلامت انسان (از آنجا که آنتی اکسیدان های درون زا می توانند توسط سلول های انسانی تولید شوند)، در این مقاله استفاده از تکنیک های مهندسی ژنتیک و کشت سلول های گیاهی در تولید آنتی اکسیدان در محصولات گیاهی ارائه شده است.

**مهندسی ژنتیک/ متابولیک در گیاهان**

مهندسی ژنتیک برای بهبود تغذیه ای محصولات گیاهی استفاده می شود. برای این منظور، باید یک ژن خارجی در گیاه برای تولید گیاه تراریخته از طریق استفاده از تکنیک های ژنتیک و مهندسی متابولیک وارد شود تا بتوان گیاهانی با صفات مطلوب (مانند تولید بیشتر ترکیبات آنتی اکسیدانی) تولید کرد. گیاهان تراریخته یا محصولات اصلاح شده از نظر ژنتیکی را می توان از طریق انتقال ژن با واسطه *Agrobacterium tumefaciens* ایجاد کرد.

مهندسی ژنتیک/ متابولیک ترکیبات فلاونوئیدی

فلاونوئیدها دسته بسیار متنوعی از ترکیبات فنلی هستند که فعالیت های آنتی اکسیدانی انجام می دهند. آنها را می توان به زیر گروه های مختلفی مانند فلاون، فلاونول، فلاوانون، فلاوانول، یا کاتچین و آنتوسیانین تقسیم کرد. میوه ها و سبزیجات، همراه با چای و آب انگور، منابع اصلی غذایی فلاونوئیدها برای انسان هستند. نشان داده شده است که غذاهای غنی شده با فلاونوئیدها اثرات پیشگیرانه ای بر سلامتی انسان دارند که نتیجه خواص آنتی اکسیدانی آنهاست. مسیر بیوسنتز فلاونوئید شناخته شده است، بنابراین، می توان فرآیندهای ژنتیکی و تنظیمی را در سلول ها بهینه کرد تا تولید فلاونوئیدها را افزایش دهد. مهندسی ژنتیکی/ متابولیکی ترکیبات فلاونوئیدی را می توان از طریق سه روش مختلف بدست آورد: ۱) با سنتز درون زا فلاونوئیدها با استفاده از ژن های ساختاری و تنظیم کننده، ۲) مسدود کردن مسیر فلاونوئید با روش تداخل RNA و ۳) تولید فلاونوئیدهای جدید با ایجاد شاخه های جدید در مسیر.

مهندسی ژن‌های تنظیمی

دو نوع پروتئین تنظیم کننده وجود دارد که برای مهندسی بیوسنتز فلاونوئیدها مهم هستند – یکی از خانواده های c-MYB و دیگری از خانواده فاکتور رونویسی c-MYC. فاکتور رونویسی AtMYB12 (از خانواده c-MYB) یک فعال کننده رونویسی خاص

فلاونول در *Arabidopsis thaliana* است، که مسیر بیوسنتز پلی فنل ها، اسید کلروژنیک و فلاونول ها را در گوجه فرنگی ترانسفورمه فعال می کند. AtMYB12 برای بهبود محتوای پلی فنول در محصولات مهم از نظر صنعتی بسیار امیدوار کننده است.

مهندسی ژن‌های ساختاری

ورود دو ژن ساختاری naringenin-8-dimethilally-transferase (N8DT) و چالکون ایزومراز (CHI) به گوجه فرنگی و بیان بیش از حد آنها منجر به تجمع روتین در مقایسه با گوجه فرنگی های نوع وحشی شده است.

متوقف کردن مراحل خاص در بیوسنتز فلاونوئید با استفاده از روش تداخل RNA

این روش از مولکول RNA استفاده می کند که مکمل نسخه RNA برخی ژن های مهم در مسیرهای بیوسنتز فلاونوئیدها است. ژن تنظیم کننده DET1 (De-etiolated1) با استفاده از فناوری RNAi مهار شد و نتیجه آن افزایش سطح فلاونوئیدها (β کاروتن و لیکوپن) بود.

ورود شاخه های جدید در مسیرهای بیوسنتز فلاونوئید (تولید استیلبن و ایزوفلاون)

استیلبن ها ترکیبات فنلی با خاصیت آنتی اکسیدانی هستند و ترانس–رسوراترول جزء این ترکیبات است. آنزیم اصلی در سنتز رسوراترول استیلبن سنتاز (StSy) است، اما به طور کلی گیاهان فاقد StSy هستند زیرا هیچ ژن StSy ندارند، بنابراین اگر ژن های StSy در محصولات وارد شود ممکن است تولید رسوراترول حاصل شود. ژن StSy از انگور به گوجه فرنگی وارد شد که منجر به تولید رسوراترول و مشتقات آن شد. با این دستکاری ژنتیکی، محتوای سایر ترکیبات فنلی (مانند نارینجنین و اسید کلروژنیک) در گوجه فرنگی تغییر نکرد.

مهندسی ژنتیک/ متابولیک کاروتنوئیدها

کاروتنوئیدها یا تتراترپنوئیدها رنگدانه های آلی زرد، نارنجی و قرمز رنگ هستند که توسط گیاهان سنتز می شوند. برخی از آنها مانند α–کاروتن، β–کاروتن و β–کریپتوکسانتین، کاروتنوئیدهای پرووِیتامین A هستند که به این معنی است که می توانند توسط بدن به رتینول (ویتامین A) تبدیل شوند. لوتئین، زآگزانتین و لیکوپن هیچ فعالیت ویتامین A ندارند. کاروتنوئیدها مولکول های مهم آنتی اکسیدانی در یک محیط لیپیدی به همراه α توکوفرول هستند و به همین دلیل، آنها مواد مهمی در رژیم غذایی انسان هستند. به منظور افزایش میزان کاروتنوئیدهای مرتبط با تغذیه در گیاهان زراعی، درک مسیرهای بیوسنتز و تنظیم این مسیرها مهم است، بنابراین می توان از استراتژی های مختلف استفاده کرد. مهندسی متابولیک، همراه با مهندسی ژنتیک ژن های ساختاری، عمدتا برای افزایش محصولات کاروتنوئید استفاده می شود. ژن ساختاری crtB (phytoene synthase محصول این ژن است)، که از *Erwinia uredovora* جدا شده است، در گوجه فرنگی تراریخته بیش از حد بیان شده است. نتیجه افزایش محتوای کاروتنوئید کل تا ۲/٤ برابر در مقایسه با شاهد بود. گوجه فرنگی تراریخته به دست آمده برای تولید محصولات فرآوری شده مناسب است.

**کشت بافت گیاه**

سالها پیش تصور می شد که به دلیل سرعت کم تکثیر سلولهای گیاهی، آنها نمی‌توانند از نظر تولید متابولیتهای مهم با سلولهای میکروارگانیسم ها رقابت کنند. با این حال، تولید متابولیت های ثانویه منحصر به فرد گیاهان مستلزم استفاده از کشت‌های سلول-های گیاهی است، بنابراین از انواع مختلفی از کشت‌های بافت گیاهی، هم برای محصولات گیاهی تجاری و هم در تحقیقات اولیه گیاه استفاده شد. از کشت سلولهای گیاهی، بافتها یا اندامها می‌توان برای تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط کاملاً کنترل شده استفاده کرد. در ادامه به راهکارهایی برای افزایش تولید ترکیبات آنتی اکسیدان از طریق کشت بافت گیاهی اشاره می‌کنیم. بهینه سازی بیوسنتز از طریق شرایط کشت: عوامل محیطی و تغذیه‌ای بر مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تأثیر می‌گذارد. ترکیب محیط کشت باید برای افزایش زیست توده و تجمع متابولیت مورد نظر بهینه شود. تعیین اینکه آیا متابولیت مورد نظر در سلولهای تمایزیافته یا تمایز نیافته بیشتر تولید می شود. انتخاب لاین‌های سلولی با تولید بالا با یک عامل انتخاب. تغذیه پیش‌ساز و بیوترانسفورماسیون: عدم وجود پیش ساز در کشت ممکن است به دلیل بیان ناکافی ژن درگیر در سنتز متابولیت‌ها به دلیل عدم وجود محرک در محیط باشد. الیسیتیشن و تولید القاء شده با استرس. ترانسفورمیشن با *Agrobacterium rhizogenes* و تولید ریشه موئینه. به برخی از ترکیبات آنتی اکسیدانی تولید شده در شرایط این ویترو اشاره خواهیم کرد.

تولید اسید فنولیک توسط کشت بافت گیاهی

رزمارینیک اسید، ترکیبی فنلی است و کاربرد فراوانی در پزشکی و داروسازی دارد. این ترکیب از کشت سوسپانسیون سلولی، کشت کالوس و از ریشه‌های تغییر شکل یافته گونه‌های مختلف تولید شده است. محققان موفق به تولید اسید رزمارینیک با استفاده از کشت سوسپانسیون سلول *Lavandula vera* MM با استفاده از وانادیل سولفات به عنوان الیسیتور غیرزیستی شدند، و تولید آن ۲/۸ برابر بیشتر در مقایسه با کشت های شاهد گزارش شد. سینارین و اسیدکلروژنیک ترکیبات آنتی اکسیدانی فنلی با فعالیت ضد میکروبی هستند. در تحقیقی این ترکیبات را از کالوس *Cynara cardunculus var. cardunculus* تولید کردند.

تولید فلاونوئید توسط کشت بافت گیاهی

فلاونوئیدها را می‌توان با استفاده از کشت کالوس، کشت سوسپانسیون سلولی و یا کشت اندام تولید کرد. در بین فلاونوئیدها، گلیکوزیدهای فلاونی مولکول‌های درمانی بسیار مهمی برای اختلالات مربوط به استرس اکسیداتیو هستند. گلیکوزیدهای فلاونی در گیاهان نادر است، اما می‌توان آنها را با کشت کالوس *Passiflora quadrangularis* تولید کرد. تابش اشعه ماورا بنفش روی کالوس‌ها منجر به افزایش میزان اورینتین، ایزو اورینتین، ویتکسین و ایزوویتکسین می‌شود، و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی کالوس-های تحت تیمار در مقایسه با کالوس های تیمارنشده حدود ۵۰٪ بیشتر بود.

روتین، از گروه فلاونوئیدهای فلاون، از کشت های ریشه موئینه گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) تولید شد. محققان تاثیر محیط‌های کشت مختلف و تأثیر هورمون گیاهی اکسین را بر روی تولید روتین بررسی کردند و نتیجه گیری کردند که کشت‌های

ریشه موئینه یک روش جایگزین مناسب برای تولید روتین است. آنتوسیانین‌ها نیز از کشت کالوس انتخاب شده از *Ajuga reptans* و همچنین با استفاده از کشت کالوس و کشت سوسپانسیون سلولی *Glehnia littoralis* و *Ipomoea batatas* تولید شده اند.

تولید کاروتنوئید توسط کشت بافت گیاهی

تولید کاروتنوئیدها از کالوس گل های زرد و سفید *Tagets erecta* حاصل شد. از کالوس گل زرد، کاروتنوئیدهای اصلی لوتئین و زئاگزانتین حاصل شد، در حالی که در کالوس گل سفید لوتئین، زاگزانتین، β- کریپتوکسانتین و β کاروتن ایجاد شد. می توان نتیجه گرفت که کالوس سفید این گیاه می تواند به عنوان منبع خوبی از کاروتنوئیدهای مختلف مورد استفاده قرار گیرد.

بتالائین‌ها

بتالائین‌ها رنگدانه‌های حاوی نیتروژن هستند که به طور گسترده به عنوان رنگ دهنده‌های غذایی غیر سمی استفاده می‌شوند. بتالائین‌ها دو دسته هستند – بتازانتین‌ها و بتاسیانین‌ها. بتالائین از کشت ریشه موئینه *Beta vulgaris* L. (چغندر قرمز) تولید شده‌اند.

**نتیجه گیری**

ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها در میوه‌ها و سبزیجات وجود دارد. غنی سازی آنتی اکسیدان ها در محصولات کشاورزی از طریق مهندسی ژنتیک و تولید محصولات تراریخته حاصل می شود. از طرف دیگر، برخی از ترکیبات آنتی اکسیدانی را می توان برای کاربرد درمانی با استفاده از روش کشت سلول گیاهی (کالوس، سوسپانسیون سلولی، کشت بافت / اندام و غیره) تولید کرد. مفهوم غذای کاربردی به ما این فرصت را می‌دهد تا در مورد امکانات تکنیک‌های مهندسی ژنتیک و روش کشت سلول‌های گیاهی تحقیق کرده و این کار را در جهت‌های دلخواه پیش ببریم.

منابع

Ivanovic, L., Milasevic, I., Đurovic, D., Topalović, A., Knežević, M., Mugoša, B., Vrvić, M.M. 2016. Application of plant biotechnology techniques in antioxidant production. Agriculture & Forestry. 62: 325-342.
Matkowski, A. 2008. Plant in vitro culture for the production of antioxidants. Biotechnology Advances 26: 548–560

# پوسترها

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# تاثیر تنش کادمیوم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام مختلف برنج در مرحله رویشی

*شهریار کاظمی*[1]، سمانه افشار مقدم[2]*
[1] استادیار، بخش علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
[2] مربی گروه آمار، دانشگاه پیام نور، ایران
*shahryarkazemi56@yahoo.com*

**چکیده**

تنش کادمیوم یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان محسوب می‌گردد. به همین منظور جهت بررسی تاثیر تنش کادمیوم بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌ای ارقام مختلف برنج، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که اختلاف زیادی بین ارقام مختلف از نظر صفات مورد اندازه‌گیری وجود داشت. تجزیه کلاستر ارقام مورد بررسی را به سه گروه مجزا تفکیک نمود. تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز نشان داد که در مولفه اول رنگدانه‌های فتوسنتزی به همراه آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بیشترین میزان بار عامل را به خود اختصاص دادند. همچنین نتایج نشان داد که آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با صفات سوپراکسید دیسموتاز (۰/۹۶)، کلروفیل a (۰/۹۲)، کلروفیل b (۰/۹۲)، کلروفیل کل (۰/۹۳) و کاروتنوئید (۰/۹۲) همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت.

**کلمات کلیدی**: تنش کادمیوم، تجزیه کلاستر، آنزیم، کلروفیل

## مقدمه

یکی از نگرانی‌های بشر در عصر حاضر آلودگی‌های زیست‌محیطی به خصوص آلودگی عناصر سنگین می‌باشد. از سویی دیگر گیاهان نیز با مواجهه‌ی با عناصر سنگین دچار اختلالات عدیده در رشد و نمو می‌گردند. در بین فلزات سنگین کادمیوم از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا به راحتی توسط ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن در مقایسه با دیگر عناصر سنگین به مراتب بیشتر است (Santos et al., 2018). عنصر کادمیوم اگرچه برای رشد گیاه ضروری به نظر نمی‌رسد، اما به آسانی توسط پوست ریشه جذب می‌شود و سپس از طریق مسیر آپوپلاستی یا سیمپلاستی وارد بافت چوب می‌شود. محققان نشان دادند که گیاهان برای حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از کادمیوم مجهز به یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال آزاد می‌باشد. این سیستم جاروب‌کننده شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز می‌باشد (Shakirova et al., 2016). در اثر ورود کادمیوم به بافت گیاه آثار متفاوتی از خود به جای می‌گذارد که شامل کاهش رشد ریشه و برگ، بازدارندگی فعالیت برخی آنزیم‌ها، کاهش سطح برگ و ماده خشک می‌باشد (Shahid et al., 2019). از سویی دیگر برنج یکی از محصولات راهبردی مور نیاز بشر می‌باشد و افزایش در میزان تولید آن با حفظ کیفیت و سلامتی آن از اهداف مهم محققان به شمار می‌رود. با توجه به این که تا کنون مطالعه‌ای در خصوص تاثیر تنش کادمیوم بر ارقام مختلف برنج در مرحله رشد رویشی و تاثیر آن بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌ای صورت نگرفته است، آزمایش حاضر انجام گردید.

**مواد و روش**

به منظور بررسی تاثیر تنش کادمیوم بر خصوصیات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و رنگدانه‌های فتوسنتزی در ارقام مختلف برنج آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در مرحله رویشی و در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. در این آزمایش از ۱۱ رقم مختلف برنج شامل طارم هاشمی (G1)، ندا (G2)، شفق (G3)، شیرودی (G4)، خزر (G5)، پردیس (G6)، پژوهش (G7)، طارم محلی (G8)، عنبربو (G9)، دم‌سیاه (G10) و نعمت (G11) استفاده شد. بذور پس از ضدعفونی در گلدان‌های با طول، عرض و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند و پس از دو هفته تنش کادمیوم اعمال گردید. سه هفته پس از اعمال تنش کادمیوم نمونه‌گیری از برگ بوته‌های تیمار شده صورت گرفت و صفات مختلف شامل صفات آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌ای مورد اندازه‌گیری قرار گفت. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. علاوه بر این جهت انجام تجزیه کلاستر و تجزیه به مولفه‌های اصلی از نرم‌افزار XLSTAT استفاده شد. همچنین برای مقایسه بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر از طرح کاملا تصادفی نامتعادل استفاده شد، به طوری که گروه‌ها به عنوان تیمار و ارقام موجود در هر گروه به عنوان تکرار در نظر گرفته شدند. جهت مقایسه میانگین بین داده‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

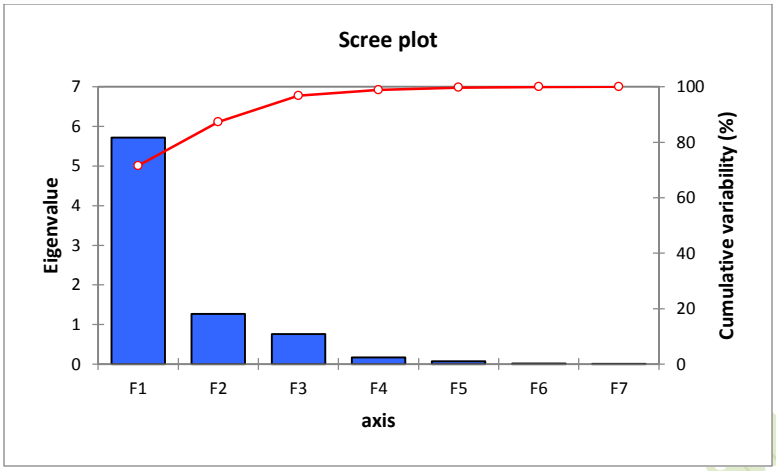
**نتایج و بحث**

تنش کادمیوم یکی از تنش‌های غیرزیستی اثرگذار بر رشد و نمو گیاهان می‌باشد که با تغییر در خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی موجب مختل شدن رشد گیاهان می‌گردد. نتایج آماره‌های توصیفی مربوط به کلیه صفات مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شد. آماره‌های توصیفی نشان داد که اختلاف قابل توجهی بین ارقام مختلف مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی وجود دارد.

جدول (۱). آماره‌های توصیفی مربوط به کلیه صفات مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش کادمیوم

| صفات | خطای معیار | میانگین | بیشینه | کمینه |
|---|---|---|---|---|
| کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.018 | 0.025 | 0.074 | 0.011 |
| آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.226 | 0.203 | 0.682 | 0.060 |
| گلوتاتیونپراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.009 | 0.021 | 0.032 | 0.011 |
| سوپر اکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.024 | 0.049 | 0.088 | 0.023 |
| کلروفیل a (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 1.577 | 6.182 | 8.569 | 4.699 |
| کلروفیل b (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.559 | 1.692 | 2.396 | 1.106 |
| کلروفیل کل (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 2.131 | 7.874 | 10.965 | 5.805 |
| کاروتنوئید (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.325 | 1.287 | 1.824 | 0.940 |

نتایج مربوط به تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که دو مولفه اول و دوم دارای مقدار ویژه بالاتر از یک بودند (شکل ۱) و بیشترین میزان واریانس نسبی را به خود اختصاص دادند. بر پایه نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی مولفه اول و دوم به ترتیب با ۷۱/۵۱ و ۱۵/۸۱ درصد بیشترین میزان واریانس نسبی را دارا بودند و در مجموع ۸۷/۳۱ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص دادند.

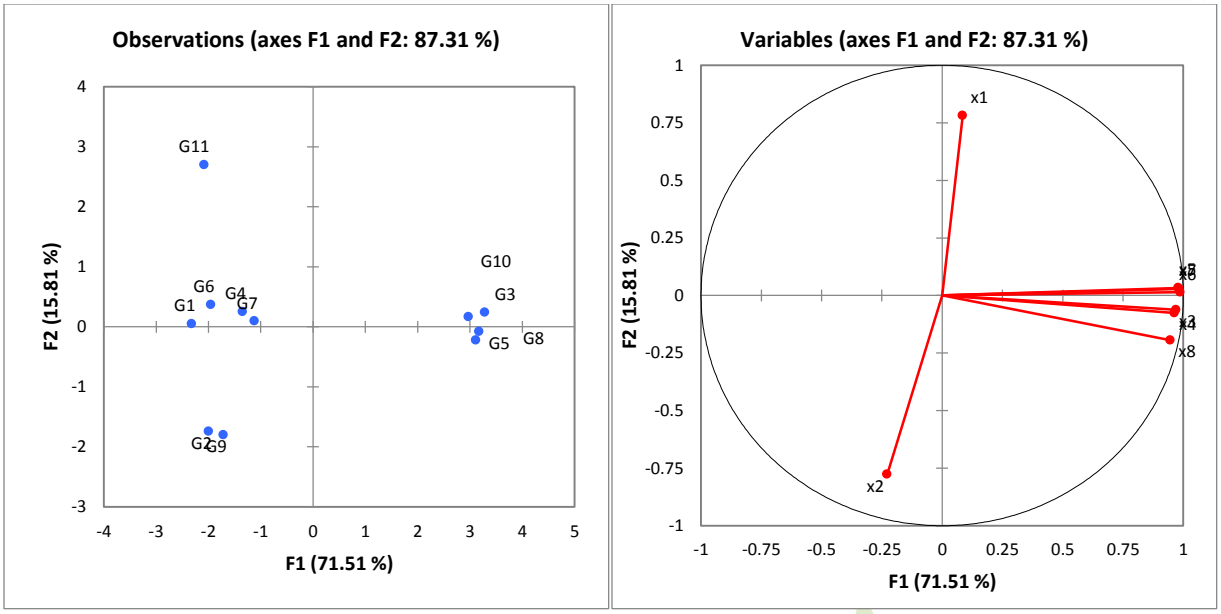



شکل (۱). نمودار سنگریزه (Scree plot) مربوط به مولفه‌های حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه

ضرایب بار عامل مربوط به مولفه‌های اول و دوم در جدول ۲ نشان داده شد.نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که در مولفه اول صفات گلوتاتیونپراکسیداز (۰/۹۶)، سوپر اکسید دیسموتاز (۰/۹۶)،کلروفیل a (۰/۹۷)،کلروفیل b (۰/۹۸)،کلروفیل کل (۰/۹۸) و کاروتنوئید (۰/۹٤) بیشترین میزان بار عامل را دارا بودند. در مقابل در مولفه دوم صفات کاتالاز (۰/۷۸) و آسکوربات پراکسیداز (۰/۷۷-) بیشترین میزان بار عامل را به خود اختصاص دادند. علاوه بر این بای‌پلات حاصل از مولفه اول و دوم در شکل ۲ نشان داده شد. بر مبنای بای‌پلات حاصل از مولفه اول و دوم مبتنی بر کلیه صفات مورد مطالعه مشاهده شد که ارقام G10، G3، G5 و G8 با صفات گلوتاتیونپراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید همبستگی بالایی داشتند. محققین از روش تجزیه به مولفه‌های اصلی جهت کاهش داده‌ها و همچنین گروه‌بندی تیمارهای مورد مطالعه مبتنی بر مولفه‌های مختلف به دست آمده استفاده می‌کنند (Gour et al., 2017).

جدول (۲). نتایج مربوط به تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در گیاه برنج تحت تنش کادمیوم

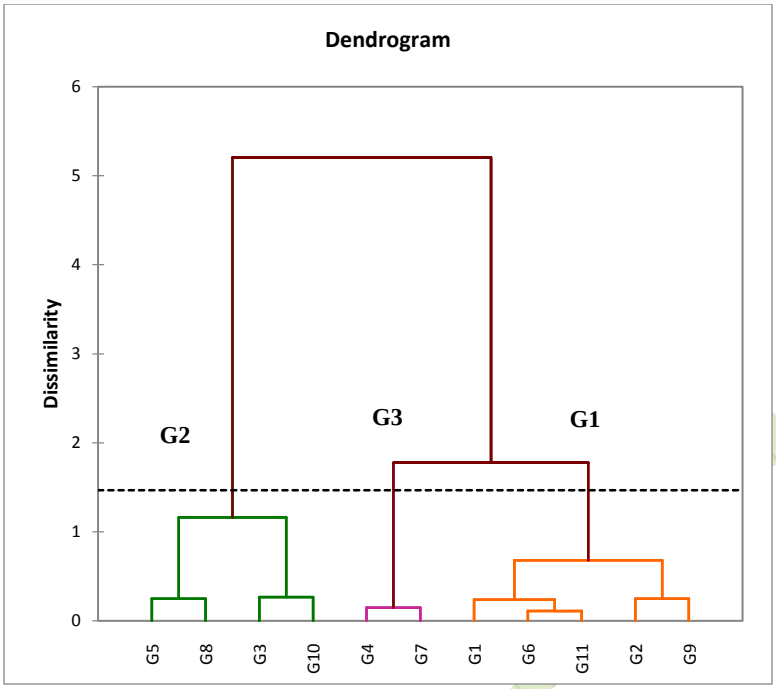
| صفات | مولفه اول | مولفه دوم |
|---|---|---|
| کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.084 | 0.781 |
| آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | -0.228 | -0.778 |
| گلوتاتیونپراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.969 | -0.062 |
| سوپر اکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.963 | -0.076 |
| کلروفیل a (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.979 | 0.033 |
| کلروفیل b (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.987 | 0.015 |
| کلروفیل کل (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.983 | 0.028 |
| کاروتنوئید (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.946 | -0.195 |
| مقادیر ویژه | 5.721 | 1.265 |
| واریانس نسبی (٪) | 71.507 | 15.808 |
| واریانس تجمعی (٪) | 71.507 | 87.315 |




شکل (۲). بای‌پلات حاصل از مولفه اول و دوم بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش کادمیوم

به منظور گروه‌بندی ارقام مختلف مورد مطالعه از تجزیه کلاستر مبتنی بر روش UPGMA و ماتریس فاصله اقلیدسی استفاده شد. نتایج تجزیه کلاستر بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در شکل ۳ نشان داده شد. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که ارقام برنج مورد مطالعه تحت تنش کادمیوم بر اساس کلیه صفات مورد بررسی به سه گروه مجزا از هم تفکیک شدند، به طوری که در گروه اول تعداد پنج رقم، در گروه دوم تعداد چهار رقم و در گروه سوم تعداد دو رقم جای گرفتند. به منظور بررسی دقیق‌تر بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر مقایسه میانگین صورت گرفت که در جدول ۳ نشان داده شد. بر پایه نتایج حاصل از مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر مشاهده شد که بیشترین میزان صفت آنزیم کاتالاز مربوط به گروه اول و دوم بود و گروه سوم به میزان ۰/۰۱٤ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه کمترین مقدار کاتالاز را به خود اختصاص داد.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی




شکل (۳). دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش کادمیوم

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین و کمترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب مربوط به گروه‌های اول و سوم بود. از سویی دیگر نتایج مربوط به آنزیم گلوتاتیونپراکسیداز تا حدودی متفاوت بود و گروه دوم بیشترین میزان را دارا بود. بیشترین میزان سوپر اکسید دیسموتاز نیز در گروه دوم به میزان ۰/۰۷۹ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که بیشترین میزان صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید مربوط به گروه دوم بود. محققان متعددی نشان دادند که تنوع زیادی در بین ارقام مختلف تحت شرایط تنش‌های غیر زیستی از نظر صفات بیوشیمیایی وجود دارد (Zafar et al., 2020).

جدول (۳). نتایج مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر در ارقام مختلف برنج تحت تنش کادمیوم

| صفات | گروه | | |
|---|---|---|---|
| | اول | دوم | سوم |
| کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.027 a | 0.028 a | 0.014 b |
| آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.304 a | 0.141 b | 0.075 c |
| گلوتاتیونپراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.014 b | 0.032 a | 0.013 b |
| سوپر اکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.033 b | 0.079 a | 0.029 b |
| کلروفیل a (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 4.810 b | 8.085 a | 5.805 b |
| کلروفیل b (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 1.198 b | 2.373 a | 1.566 c |

| | | | |
|---|---|---|---|
| کلروفیل کل (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 6.008 c | 10.458 a | 7.371 b |
| کاروتنوئید (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 1.067 b | 1.677 a | 1.060 b |

ردیف‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج مربوط به تجزیه همبستگی بین کلیه صفات مورد مطالعه در جدول ٤ نشان داده شد. بر اساس نتایج ضریب همبستگی مشاهده شد که بین آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با صفات سوپراکسید دیسموتاز (۰/۹٦)، کلروفیل a(۰/۹۲)، کلروفیل b(۰/۹۲)، کلروفیل کل(۰/۹۳)و کاروتنوئید (۰/۹۲) همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد. همچنین کاروتنوئید با آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (۰/۹۲)، سوپراکسید دیسموتاز (۰/۹۵)، کلروفیل a (۰/۸۸)، کلروفیل b(۰/۹۱) و کلروفیل کل(۰/۸۹) همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت. در نهایت مشاهده شد که تحت تنش کادمیوم ارقام مختلف دارای مقادیر متفاوتی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رنگدانه‌های فتوسنتزی بودند و می‌توان از ارقام با پتانسیل بالا در تولید آنزیم-های آنتی‌اکسیدان و رنگدانه‌های فتوسنتزی جهت استفاده در طرح‌های بهنژادی آینده و همچنین کشت در شرایط سمیت کادمیوم استفاده نمود.

جدول (٤). نتایج تجزیه همبستگی مربوط به کلیه صفات مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش کادمیوم

| صفات | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ٥ | ٦ | ۷ | ۸ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کاتالاز (۱) | **1** | | | | | | | |
| آسکوربات پراکسیداز (۲) | -0.269 | **1** | | | | | | |
| گلوتاتیونپراکسیداز (۳) | 0.109 | -0.105 | **1** | | | | | |
| سوپر اکسید دیسموتاز (٤) | 0.058 | -0.144 | **0.966** | **1** | | | | |
| کلروفیل a (٥) | 0.069 | -0.270 | **0.929** | **0.894** | **1** | | | |
| کلروفیل b (٦) | 0.063 | -0.258 | **0.928** | **0.919** | **0.988** | **1** | | |
| کلروفیل کل (۷) | 0.067 | -0.268 | **0.931** | **0.903** | **0.999** | **0.994** | **1** | |
| کاروتنوئید (۸) | -0.020 | -0.034 | **0.921** | **0.952** | **0.881** | **0.918** | **0.893** | **1** |

اعداد برجسته موجود در جدول حداقل در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشند.

## منابع

Gour, L., Maurya, S. B., Koutu, G. K., Singh, S. K., Shukla, S. S., and Mishra, D. K. (2017). Characterization of rice (Oryza sativa L.) genotypes using principal component analysis including scree plot & rotated component matrix. *International Journal of Chemical Studies*, *5*(4), 975-83.

Santos, L. R., Batista, B. L., and Lobato, A. K. S. (2018). Brassinosteroids mitigate cadmium toxicity in cowpea plants. *Photosynthetica*, *56*(2), 591-605.

Shahid, M., Javed, M. T., Mushtaq, A., Akram, M. S., Mahmood, F., Ahmed, T., and Azeem, M. (2019). Microbe-mediated mitigation of cadmium toxicity in plants. In *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants* (pp. 427-449). Academic Press.

Shakirova, F. M., Allagulova, C. R., Maslennikova, D. R., Klyuchnikova, E. O., Avalbaev, A. M., and Bezrukova, M. V. (2016). Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. *Environmental and experimental botany*, *122*, 19-28.

Zafar, S. A., Hameed, A., Ashraf, M., Khan, A. S., Li, X., and Siddique, K. H. (2020). Agronomic, physiological and molecular characterisation of rice mutants revealed the key role of reactive oxygen species and catalase in high-temperature stress tolerance. *Functional Plant Biology*, *47*(5), 440-453.

# Evaluation of the effect of cadmium stress on the antioxidant activity of different rice cultivars in the vegetative stage

*Shahryar Kazemi*[*1]*,Samaneh Afsharmoghaddam*[2]
[1] *Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University, Iran.*
[2] *Department of Statistics, Payame Noor University, Iran*

**Abstract**
Cadmium stress is one of the limiting factors for plant growth.For this purpose, in order to investigate the effect of cadmium stress on antioxidant and pigment properties of different rice cultivars, an experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in greenhouse conditions.The results showed that there was a difference between different cultivars in terms of measured traits. Cluster analysis divided the studied cultivars into three separate groups.Principal component analysis also showed that in the first component, photosynthetic pigments along with catalase and ascorbate peroxidase had the highest factor loading. The results also showed that glutathione peroxidase was positively correlated with superoxide dismutase (0.96), chlorophyll a (0.92), chlorophyll b (0.92), total chlorophyll (0.93) and carotenoids (0.92).

**Keywords:** Cadmium stress, Cluster analysis, Enzyme, Chlorophyll

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# بررسی واکنش خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ارقام مختلف برنج در مرحله رویشی تحت تنش شوری

*شهریار کاظمی*[1]، سمانه افشار مقدم[2]
[1] استادیار، بخش علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
[2] مربی گروه آمار، دانشگاه پیام نور، ایران
*shahryarkazemi56@yahoo.com*

**چکیده**

تنش شوری یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان محسوب می‌گردد. از این رو آزمایشی در شرایط گلخانه‌ای در مرحله گیاهچه‌ای در ارقام مختلف برنج تحت تنش شوری انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که بین ارقام مختلف مورد بررسی در همه صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. تجزیه کلاستر ارقام مختلف مورد بررسی را به سه گروه مجزا تفکیک نمود. مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که بیشترین میزان صفات کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مربوط به گروه اول بود. بر اساس یافته‌های حاصل از ضرایب همبستگی مشاهده شد که بین آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با صفات سوپر اکسید دیسموتاز (R=0.90)، کلروفیل a (R=0.92)، کلروفیل b (R=0.93)، کلروفیل کل (R=0.92) و کاروتنوئید (R=0.90) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. آزمایش حاضر نشان داد که ارقام مختلف مورد بررسی دارای تنوع زیادی از نظر صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش شوری بودند.

**کلمات کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، برنج، تجزیه کلاستر، کاتالاز

## مقدمه

شوری خاک و آب یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی بازدارنده رشد محصولات در سراسر جهان محسوب می‌گردد و به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک میزان محدودیت در رشد گیاهان بیشتر مشهود است (Kachout et al., 2009). تنش شوری دارای اثرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی فراوانی در گیاهان می‌باشد. تنش شوری موجب افزایش میزان رادیکال‌های آزاد در سطح سلول می‌گردد که می‌تواند موجب تخریب غشاء سلول‌های گیاهان گردد و اثرات زیان‌باری را برای گیاه در پی دارد (Hniličková et al., 2019). همچنین فتوسنتز نیز در گیاه دستخوش تغییرات محیطی می‌گردد. تنش شوری اثرات مضری بر فعالیت و سنتز کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در گیاهان دارد (Najar et al., 2019). از سویی دیگر گیاهان دارای سامانه هوشمندی جهت مقابله با شرایط نامساعد محیطی می‌باشند. آنزیم‌های آنتی اکسیدانی یکی از راهکارهای گیاهان جهت مقابله با اثرات تخریب‌کننده تنش شوری محسوب می‌گردد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در مقاومت گیاهان در برابر تنش شوری دارد. همچنین با بهبود شرایط درون‌سلولی موجب بهبود سامانه فتوسنتزی می‌گردد (Taïbi et al., 2016). ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف گیاهی در مواجه با تنش دارای پاسخ‌های متفاوتی می‌باشند. میزان مقاومت و حساسیت ارقام مختلف به تنش شوری دارای جنبه ژنتیکی می‌باشد. برخی از ارقام با داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در مقاومت به تنش شوری از جایگاه بهتری برخوردارند (Yang and Guo, 2018). از این رو آزمایش حاضر به منظور بررسی پاسخ ارقام مختلف برنج به تنش شوری بر اساس مطالعه صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط گیاهچه‌ای انجام شد.

**مواد و روش‌ها**

به منظور بررسی تاثیر تنش شوری بر خصوصیات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و رنگدانه‌های فتوسنتزی در ارقام مختلف برنج آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در مرحله گیاهچه‌ای و در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. در این آزمایش از ۱۳ رقم مختلف برنج شامل طارم هاشمی (G1)، ندا (G2)، شفق (G3)، شیرودی (G4)، خزر (G5)، پردیس (G6)، پژوهش (G7)، طارم محلی (G8)، عنبربو (G9)، دم‌سیاه (G10)، نعمت (G11)، ساحل (G12) و فجر (G13) استفاده شد. بذور پس از ضدعفونی در گلدان‌های با طول، عرض و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند و پس از دو هفته تنش شوری به میزان ۹ دسی‌زیمنس بر متر (نمک کلرید سدیم) اعمال گردید. دو هفته پس از اعمال تنش شوری نمونه‌گیری از برگ گیاهچه‌های تیمار شده صورت گرفت و صفات مختلف شامل صفات آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌ای مورد اندازه‌گیری قرار گفت. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم-افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین برای مقایسه بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر از طرح کاملا تصادفی نامتعادل استفاده شد، به طوری که گروه‌ها به عنوان تیمار و ارقام موجود در هر گروه به عنوان تکرار در نظر گرفته شدند. جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

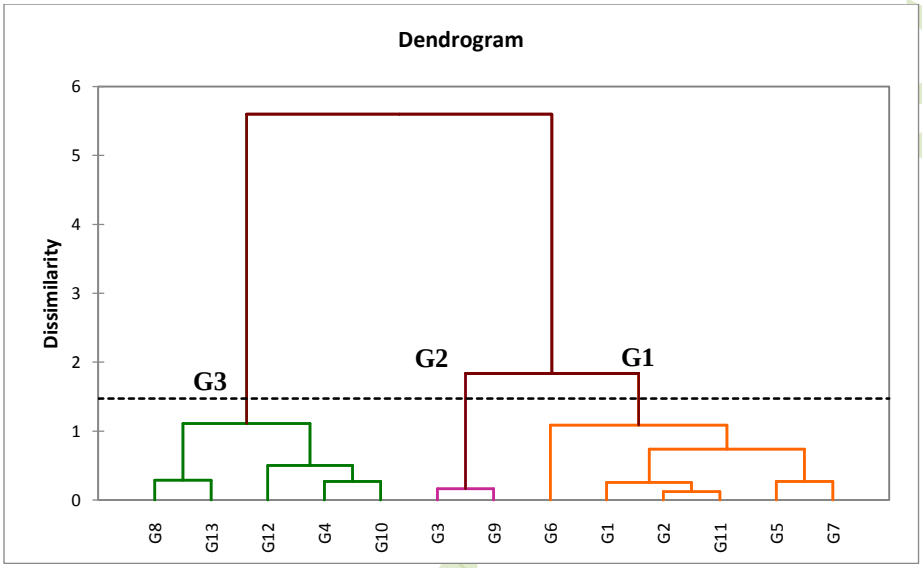
**نتایج و بحث**

نتایج تجزیه واریانس بین داده‌های حاصل از آزمایش حاضر نشان داد که بین ارقام مختلف مورد مطالعه در کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. نتایج حاصل از تجزیه کلاستر در شکل ۱ نشان داده شد. تجزیه کلاستر مبتنی بر روش UPGMA و با استفاده از ماتریس فاصله اقلیدسی انجام شد و با دارا بودن ضریب کوفنیتیک ۰/۸۹ نسبت به سایر روش‌های گروه‌بندی به‌عنوان بهترین روش برگزیده شد. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که ارقام مختلف مورد مطالعه تحت تنش شوری بر اساس کلیه صفات مورد بررسی به سه گروه مجزا تفکیک شدند، به طوری که در گروه اول شش رقم، در گروه دوم دو رقم و در گروه سوم پنج رقم قرار گرفتند. دندروگرام حاصله نشان داد که ارقامG1، G2، G5، G6، G7 و G11 در گروه اول ، ارقام G3 و G9 در گروه دوم و سایر ارقام در گروه سوم قرار گرفتند. Gharsallah و همکاران (۲۰۱۶) از روش تجزیه کلاستر برای گروه‌بندی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی بر اساس صفات آنتی‌اکسیدانی استفاده نمودند.

نتایج مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر در جدول ۱ نشان داده شد. بر پایه نتایج مقایسه میانگین بین گروه-های حاصل از تجزیه کلاستر مشاهده شد که بیشترین میزان صفت کاتالاز مربوط به گروه اول و سوم به ترتیب به میزان ۰/۰۳۲ و ۰/۰۲۸ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود که از نظر آماری در یک سطح قرار گرفتند. همچنین بیشترین و کمترین میزان صفت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب مربوط به گروه‌های اول و دوم بود. از سویی دیگر نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان صفات گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید مربوط به گروه سوم بود. Gharsallah و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسدانی تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفتند.

تجزیه به مولفه‌های اصلی یکی از روش‌های آماری برای کاهش داده‌ها می‌باشد. نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه نشان داد که تعداد دو مولفه دارای مقدار ویژه بالاتر از یک بودند (شکل ۲) و در مجموع ۸۶ درصد از

واریانس کل را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). بر اساس نتایج به دست آمده مشاهده شد که مولفه اول و دوم به ترتیب دارای واریانس نسبی ۷۱ و ۱۵ درصد بودند. بارهای عامل مربوط به مولفه اول و دوم در جدول ۲ نشان داده شد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داده شد که در مولفه اول صفات گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید دارای بار عامل بالایی بودند و از اهمیت بیشتری برخوردار بودند. در صورتی که در مولفه دوم صفات کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز دارای بار عامل بالا به میزان ۰/۸۰ و ۰/۷۲- بودند.



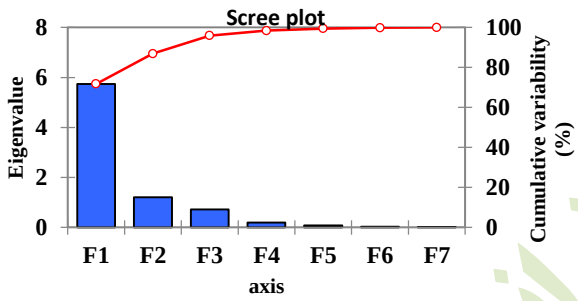

شکل (۱). دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر مبتنی بر روش UPGMA و با استفاده از ماتریس فاصله اقلیدسی بر اساس همه صفات مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش شوری (گروه اول (G1)، گروه دوم (G2) و گروه سوم (G3))

جدول (۱). مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در ارقام برنج گندم تحت تنش شوری

| صفات | گروه | | |
|---|---|---|---|
| | اول | دوم | سوم |
| کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.028 a | 0.016 b | 0.032 a |
| آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.438 a | 0.081 c | 0.155 b |
| گلوتاتیونپراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.017 b | 0.015 b | 0.035 a |
| سوپر اکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.034 b | 0.032 b | 0.081 a |
| کلروفیل a (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 5.283 c | 6.300 b | 8.740 a |
| کلروفیل b (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 1.350 c | 1.700 b | 2.600 a |

| | | | |
|---|---|---|---|
| کلروفیل کل (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 6.633 c | 8.000 b | 11.340 a |
| کاروتنوئید (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 1.148 b | 1.150 ab | 1.830 a |

ردیف‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.




شکل (۲). نمودار سنگریزه (Scree plot) مبتنی بر مولفه‌های مختلف حاصل از تجزیه کلاستر در ارقام مختلف برنج تحت تنش شوری

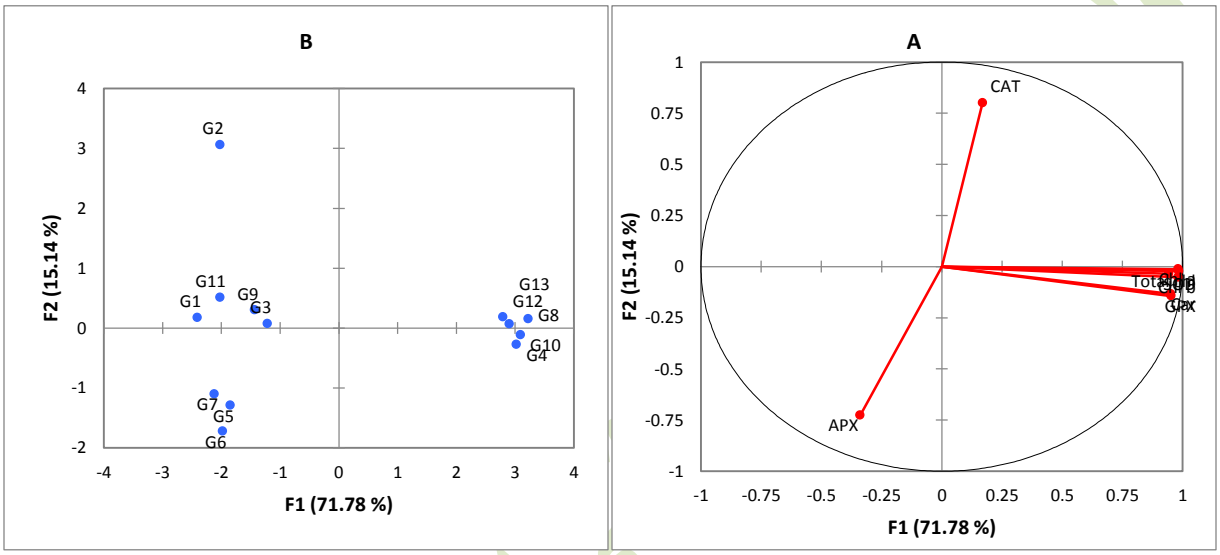
جدول (۲). نتایج مربوط به تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش شوری

| صفات | مولفه اول | مولفه دوم |
|---|---|---|
| کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.169 | 0.800 |
| آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | -0.339 | -0.727 |
| گلوتاتیونپراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.953 | -0.144 |
| سوپر اکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | 0.943 | -0.034 |
| کلروفیل a (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.982 | -0.012 |
| کلروفیل b (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.982 | -0.052 |
| کلروفیل کل (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.985 | -0.023 |
| کاروتنوئید (میکرو گرم در میلی‌لیتر) | 0.951 | -0.134 |
| مقادیر ویژه | 5.742 | 1.212 |
| واریانس نسبی (٪) | 71.776 | 15.144 |
| واریانس تجمعی (٪) | 71.776 | 86.920 |

نمودار بای‌پلات نشان داد که ارقام G5، G6 و G7 با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ارتباط بسیار قوی داشتند (شکل ۳). از سویی دیگرارقام G13، G12، G8، G10 و G4 با صفات گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید همبستگی بسیار قوی نشان دادند.

نتایج تجزیه همبستگی در جدول ۳ نشان داده شد. بر اساس یافته‌های حاصل از ضرایب همبستگی مشاهده شد که بین آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با صفات سوپر اکسید دیسموتاز (R=0.90)، کلروفیل a (R=0.92)، کلروفیل b (R=0.93)، کلروفیل کل (R=0.92) و کاروتنوئید (R=0.90) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. همچنین آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نیز با صفات گلوتاتیون پراکسیداز (R=0.90)، کلروفیل a (R=0.88)، کلروفیل b (R=0.87)، کلروفیل کل (R=0.88) و کاروتنوئید (R=0.92) همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار وجود داشت. آزمایش حاضر نشان داد که ارقام مختلف مورد بررسی دارای تنوع زیادی از نظر

صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی بودند. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که ارقام مختلف در پاسخ به تنش شوری فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را انتخاب می‌نمایند. این تفاوت در سازوکار دفاعی نه تنها در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است بلکه گاهی در ژنوتیپ‌ها و ارقام یک گونه گیاهی نیز متفاوت است. تفاوت در فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان ممکن است در نتیجه تفاوت ارقام در میزان بسته شدن روزنه‌ها و به تبع آن تغییر در میزان تثبیت دی‌اکسیدکربن باشد (Yang and Guo, 2018).




شکل (۳). نمودار بای‌پلات حاصل از مولفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس صفات (A) و بر اساس ارقام (B) در ارقام مختلف برنج تحت تنش شوری.

جدول (۳). همبستگی بین صفات مختلف مورد مطالعه در ارقام مختلف برنج تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

| صفات | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ٥ | ٦ | ۷ | ۸ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کاتالاز (۱) | **1** | | | | | | | |
| آسکوربات پراکسیداز (۲) | -0.29 | **1** | | | | | | |
| گلوتاتیونپراکسیداز (۳) | 0.15 | -0.11 | 1 | | | | | |
| سوپر اکسید دیسموتاز (٤) | 0.11 | -0.32 | 0.90 | 1 | | | | |
| کلروفیل **a** (٥) | 0.13 | -0.34 | 0.92 | 0.88 | 1 | | | |
| کلروفیل **b** (٦) | 0.12 | -0.28 | 0.93 | 0.87 | 0.98 | 1 | | |
| کلروفیل کل (۷) | 0.13 | -0.32 | 0.92 | 0.88 | 0.99 | 0.99 | 1 | |
| کاروتنوئید (۸) | 0.06 | -0.21 | 0.90 | 0.92 | 0.89 | 0.92 | 0.90 | 1 |

اعداد برجسته موجود در جدول حداقل در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشند.

**منابع**

Kachout, S., Mansoura, A. B., Jaffel, K., Leclerc, J. C., Rejeb, M. N., and Ouerghi, Z. (2009). The effect of salinity on the growth of the halophyte Atriplex hortensis. *Applied Ecology and Environmental* Research, 7(4), 319-332.

Hniličková, H., Hnilička, F., Orsák, M., and Hejnák, V. (2019). Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na+ and K+ content in selected plant species. *Plant, Soil and Environment*, *65*(2), 90-96.

Najar, R., Aydi, S., Sassi-Aydi, S., Zarai, A., and Abdelly, C. (2019). Effect of salt stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in Medicago truncatula. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(1), 88-97.

Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhodja, M., and Mulet, J. M. (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in Phaseolus vulgaris L. *South African Journal of Botany*, 105, 306-312.

Yang, Y., and Guo, Y. (2018). Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytologist*, 217(2), 523-539.

Gharsallah, C., Fakhfakh, H., Grubb, D., and Gorsane, F. (2016). Effect of salt stress on ion concentration, proline content, antioxidant enzyme activities and gene expression in tomato cultivars. *AoB Plants*, *8*.

## Investigation of antioxidant properties of different rice cultivars in seedling stage under salinity stress

*Shahryar Kazemi*[*1]*,Samaneh Afsharmoghaddam*[2]

[1] *Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University, Iran.*

[2] *Department of Statistics, Payame Noor University, Iran*

**Abstract**

Salinity stress is one of the limiting factors for plant growth. Therefore, an experiment was conducted in greenhouse conditions at seedling stage in different rice cultivars under salinity stress. The results showed that there was a significant difference between different cultivars in all studied traits at 1% probability level. Cluster analysis divided the studied cultivars into three separate groups. Mean comparison between groups obtained from cluster analysis showed that the highest amount of catalase and ascorbate peroxidase traits belonged to the first group. Based on the findings of correlation coefficients, it was observed that between glutathione peroxidase with superoxide dismutase (R = 0.90), chlorophyll a (R = 0.92), chlorophyll b (R = 0.93), total chlorophyll (R = 0.92) and carotenoids (R = 0.90) had a positive and significant correlation. The present experiment showed that the different cultivars were highly varied in terms of antioxidant enzymes and photosynthetic pigments under salinity stress conditions.

**Keywords**: Antioxidant enzymes, Cluster analysis, Catalase, Rice

# بررسی تاثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گندم تحت شرایط تنش خشکی

*شهریار کاظمی*[1]*، مهسا رفعتی آلاشتی[2]
[1] استادیار، بخش علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
[2] مربی، بخش علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
*shahryarkazemi56@yahoo.com*

چکیده

تنش خشکی به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی، یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاهان محسوب می‌گردد. از سویی دیگر کاربرد متیل جاسمونات به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد نقش مهمی در تخفیف آثار مخرب حاصل از تنش‌های محیطی دارد. به این منظور جهت بررسی تاثیر تنش خشکی و متیل جاسمونات بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه گندم آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید ولی در مقابل از میزان رنگدانه‌های کلروفیل کاسته شد. همچنین نتایج نشان داد که کاربرد متیل جاسمونات موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. از سویی دیگر کاربرد متیل جاسمونات توانست میزان رنگدانه‌های کلروفیل را افزایش دهد و رشد گیاه را در شرایط تنش خشکی بهبود دهد.

**کلمات کلیدی:** آنزیم کاتالاز، تنش خشکی، گندم، متیل جاسمونات

**مقدمه**

گندم یکی از ضروری‌ترین و مهم‌ترین گیاهان در سراسر دنیا می‌باشد که به لحاظ استراتژیک هم دارای ارزش بسیار زیادی می‌باشد (Büchi et al., 2018). تنش خشکی یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاهان محسوب می‌شود و دارای اثرات مخرب زیادی در سطح سلول گیاهی می‌باشد (Salehi-Lisar et al., 2016). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در شرایط تنش خشکی در گیاهان اتفاق می‌افتد تولید انواع اکسیژن فعال (ROS[1]) در کلروپلاست و میتوکندری‌ها می‌باشد. رادیکال‌های آزاد به وجود آمده موجب واکنش با مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شود و در نتیجه موجب پراکسیداسیون لیپید، دناتوره شدن پروتئین‌ها و ایجاد جهش در توالی‌های دی‌ان‌ای می‌گردد. این امر در نهایت منجر به اختلال در متابولیسم طبیعی گیاه می‌گردد (Jaleel et al., 2009; Salehi-Lisar et al., 2016). از سویی دیگر گیاهان از راهبردهای گوناگونی جهت مقابله با آثار تخریب‌کننده حاصل از تنش‌های غیر زیستی استفاده می‌کنند و با تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت موجب حذف رادیکال‌های آزاد و بهبود شرایط گیاهان می‌گردد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به عنوان اولین خط دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد در کلروپلاست و میتوکندری می‌باشد (Bian and Jiang, 2009). یکی دیگر از راهبردهای گیاهان در جهت مقابله با شرایط نامساعد حاصل از تنش‌های غیر زیستی استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد

[1] Reactive oxygen species

می‌باشد که موجب بهبود رشد گیاه می‌گردد. مطالعات محققان نشان داد که متیل جاسمونات به طور معمول در گل‌ها، برگ‌های جوان و میوه‌ها به وفور یافت می‌شود و در پاسخ به تنش‌ها محیطی بخصوص تنش خشکی نقش مهمی ایفا می‌کند و موجب کاهش خسارات ناشی از تنش‌های غیر زیستی می‌گردد. متیل جاسمونات موجب تولید پلی‌آمین آزاد در بافت‌های گیاهی می‌گردد و از این طریق نقش مهمی در بهبود رشد گیاهان دارد (Singh and Dwivedi, 2018; Yu et al., 2019). در این راستا با توجه به وجود شرایط خشک و نیمه خشک در کشور ایران و همچنین اهمیت کشت گندم آزمایشی به منظور بررسی تاثیر متیل جاسمونات و تنش خشکی بر گیاه گندم در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد.

**مواد و روش**

به منظور بررسی تاثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گندم تحت شرایط تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در محیط گلخانه انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل تنش خشکی در چهار سطح (شاهد، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و متیل جاسمونات در دو سطح (صفر و ۱۵۰ میکرومولار) بود. پس از ضدعفونی بذر گندم رقم گنبد، در گلدان‌های پلاستیکی با طول، عرض و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر کشت گردید. به منظور اعمال تیمارهای مورد مطالعه یک ماه پس از کشت بذر گندم، تنش خشکی اعمال گردید و همزمان متیل جاسمونات با غلظت ۱۵۰ میکرومولار بر سطح برگ‌های گیاه گندم محلول‌پاشی شد. دو هفته پس از اعمال تیمار نمونه‌برداری صورت گرفت و در آزمایشگاه صفات مختلفی شامل آنزیم‌های انتی‌اکسیدان و رنگدانه‌های فتوسنتزی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS9.1 استفاده گردید. جهت مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف مورد مطالعه بر اساس کلیه صفت‌های اندازه‌گیری شده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد استفاده شد. همچنین به منظور انجام تجزیه به مولفه‌های اصلی از نرم‌افزار XLSTAT استفاده شد.

**نتایج و بحث**

نتایج حاصل از آزمایش حاضر نشان داد که تمامی صفات مورد مطالعه تحت تاثیر تنش خشکی و متیل جاسمونات و همچنین اثر برهمکنش تنش خشکی و متیل جاسمونات قرار گرفتند و در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. نتایج مقایسه میانگین اثرات برهمکنش تنش خشکی و متیل جاسمونات بر صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در جدول ۱ نشان داده شد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات به میزان ۰/۰۵۱ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد. در مقابل کمترین میزان آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار شاهد و عدم کاربرد متیل جاسمونات بود. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد متیل جاسمونات دارای بیشترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود. علاوه بر این بیشترین و کمترین مقدار آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به میزان ۰/۰۶۲ و ۰/۰۱۲ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه به ترتیب مربوط به تیمارهای ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به همراه کاربرد متیل جاسمونات و بدون تنش و عدم کاربرد متیل جاسمونات بود. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد متیل جاسمونات بود. در مقابل کمترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار شاهد و عدم کاربرد متیل جاسمونات مشاهده شد. به طور کلی نتایج

آزمایش نشان داد که استفاده از متیل جاسمونات توانست میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در تمامی سطوح تنش خشکی افزایش دهد. محققان اثبات کردند که گیاهان در مواجه با تنش خشکی بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌افزایند تا بر رادیکال‌های آزاد به وجود آمده غلبه کنند (Guo et al., 2018). همچنین محققان نشان دادند که متیل جاسمونات با داشتن نقش فیزیولوژیکی مهم در گیاه می‌تواند در مواجه گیاهان با تنش‌های محیطی اثرات مخرب آن‌ها را تخفیف دهد (Modesti et al., 2018).

جدول (۱). نتایج مقایسه میانگین مربوط به صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گندم تحت تاثیر تیمار تنش خشکی و متیل جاسمونات

| تنش خشکی | متیل جاسمونات (میکرومولار) | سوپر اکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | گلوتاتیون پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد (ظرفیت زراعی) | شاهد | 0.035 h | 0.012 h | 0.070 g | 0.012 g |
| | ۱۵۰ | 0.042 g | 0.016 g | 0.130 f | 0.018 f |
| ۷۵ درصد ظرفیت زراعی | شاهد | 0.047 f | 0.021 f | 0.120 f | 0.019 f |
| | ۱۵۰ | 0.056 e | 0.029 e | 0.183 d | 0.023 e |
| ۵۰ درصد ظرفیت زراعی | شاهد | 0.063 d | 0.034 d | 0.153 e | 0.027 d |
| | ۱۵۰ | 0.076 c | 0.039 c | 0.250 b | 0.036 c |
| ۲۵ درصد ظرفیت زراعی | شاهد | 0.084 b | 0.046 b | 0.210 c | 0.039 b |
| | ۱۵۰ | 0.098 a | 0.062 a | 0.340 a | 0.051 a |

ردیف‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج مقایسه میانگین مربوط به صفات رنگدانه‌های فتوسنتزی در جدول ۲ نشان داده شد. بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار بدون تنش خشکی و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات به دست آمد. در مقابل کمتری میزان کلروفیل a مربوط به تیمار تنش خشکی در سطح ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و عدم کاربرد متیل جاسمونات بود. نتایج مقایسه میانگین برای صفت کلروفیل نشان داد که با اعمال تنش خشکی از میزان کلروفیل b کاسته شد و با افزایش میزان تنش خشکی مقدار کاهش کلروفیل b نیز چشمگیر بود. در مقابل کاربرد متیل جاسمونات توانست میزان کلروفیل b را در همه سطوح تنش خشکی افزایش دهد و موجب بهبود رشد گیاه گردد. از سویی دیگر نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار بدون تنش خشکی و کاربرد متیل جاسمونات بود، در صورتی که تیمار ۲۵ درصد تنش خشکی و عدم کاربرد متیل جاسمونات کمترین میزان کلروفیل کل را دارا بود. همچنین بیشترین میزان نسبت کلروفیل a به b در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و عدم کاربرد متیل جاسمونات به میزان ۰/۸۲ مشاهده شد. محققین نشان دادند که تنش خشکی به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد سنتز کلروفیل را محدود می‌نماید و همچنین تجزیه کلروفیل توسط آنزیم کلروفیلاز شدت می‌یابد (Chavoushi et al., 2020). از سویی دیگر مطالعات متعددی نشان داده است که متیل جاسمونات‌ها با فعال کردن مسیر سنتز کلروفیل موجب افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌گردد و همچنین متیل جاسمونات با تخفیف شرایط نامساعد حاصل از تنش‌های غیر زیستی موجب بهبود سامانه فتوسنتزی و افزایش رشد گیاه می‌گردد (Yu et al., 2019).

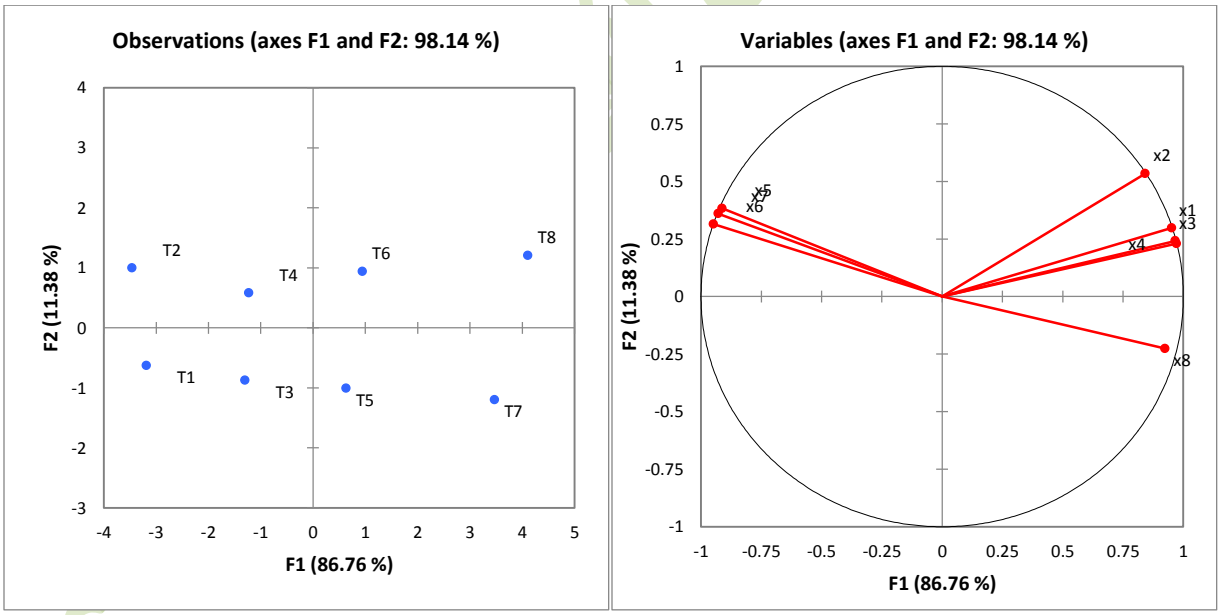
جدول (۲). نتایج مقایسه میانگین مربوط به صفات رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه گندم تحت تاثیر تیمار تنش خشکی و متیل جاسمونات

| تنش خشکی | متیل | کلروفیل | کلروفیل کل (میکرو گرم در میلی- | کلروفیل b (میکرو گرم در میلی- | کلروفیل a (میکرو گرم در میلی- |
|---|---|---|---|---|---|

| | جاسمونات (میکرومولار) | a/b | لیتر) | لیتر) | لیتر) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد (ظرفیت زراعی) | شاهد | 0.752 f | 9.647 b | 2.393 b | 7.253 b |
| | ۱۵۰ | 0.741 g | 10.743 a | 2.780 a | 7.963 a |
| ۷۵ درصد ظرفیت زراعی | شاهد | 0.762 e | 8.317 d | 1.977 d | 6.340 d |
| | ۱۵۰ | 0.757 f | 9.170 c | 2.230 c | 6.940 c |
| ۵۰ درصد ظرفیت زراعی | شاهد | 0.771 d | 7.073 e | 1.620 f | 5.453 e |
| | ۱۵۰ | 0.776 c | 8.263 d | 1.850 e | 6.413 d |
| ۲۵ درصد ظرفیت زراعی | شاهد | 0.828 a | 5.993 g | 1.030 h | 4.963 f |
| | ۱۵۰ | 0.801 b | 6.683 f | 1.330 g | 5.353 e |

ردیف‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که دو مولفه‌اول و دوم دارای مقدار ویژه بالاتر از یک بودند و به ترتیب دارای واریانس نسبی به میزان ۸۶/۷۶ و ۱۱/۳۸ درصد بودند و در مجموع ۹۸/۱۴ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص دادند (شکل ۱). بای‌پلات حاصل از مولفه اول و دوم نشان داد که تیمارهای T8 و T6 با صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان رابطه قوی داشتند. محققین علوم زیستی از تجزیه به مولفه‌های اصلی به منظور کاهش در داده‌های آزمایش استفاده می‌کنند (Hosseini et al., 2020).




**شکل (۱). بای‌پلات حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی مبتنی بر مولفه اول و دوم بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه در گیاه گندم. (T1: بدون تنش خشکی+عدم کاربرد متیل جاسمونات، T2: بدون تنش خشکی+کاربرد متیل جاسمونات، T3: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی+عدم کاربرد متیل جاسمونات، T4: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی+کاربرد متیل جاسمونات، T5: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی+عدم کاربرد متیل جاسمونات، T6: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی+کاربرد متیل جاسمونات، T7: ۲۵ درصد ظرفیت زراعی+عدم کاربرد متیل جاسمونات، T8: ۲۵ درصد ظرفیت زراعی+کاربرد متیل جاسمونات، کاتالاز (X1)، آسکوربات پراکسیداز (X2)، گلوتاتیون پراکسیداز (X3)، سوپر اکسید دیسموتاز (X4)، کلروفیل a (X5)، کلروفیل b (X6)، کلروفیل کل (X7)، کلروفیل a/b (X8))**

نتایج مربوط به تجزیه همبستگی در جدول ۳ نشان داده شد. بر اساس نتایج همبستگی مشاهده شد که بین صفات کاتالاز با صفات آسکوربات پراکسیداز (۰/۹٤)، گلوتاتیون پراکسیداز (۰/۹۸) و سوپر اکسید دیسموتاز (۰/۹۸) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. در مقابل بین کاتالاز و صفات کلروفیل a (۰/۷٤-)، کلروفیل b(۰/۸۰-) و کلروفیل کل (۰/۷۷-) همبستگی منفی و معنی‌دار وجود داشت. به طور کلی نتایج ضرایب تجزیه همبستگی نشان داد که بین صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رنگدانه‌های فتوسنتزی همبستگی منفی وجود داشت.

جدول (۳). نتایج تجزیه همبستگی بین صفات مختلف مورد مطالعه در گیاه گندم تحت تاثیر تنش خشکی و متیل جاسمونات

| صفات | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ٥ | ٦ | ۷ | ۸ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کاتالاز (۱) | 1 | | | | | | | |
| آسکوربات پراکسیداز (۲) | 0.946 | 1 | | | | | | |
| گلوتاتیون پراکسیداز (۳) | 0.983 | 0.943 | 1 | | | | | |
| سوپر اکسید دیسموتاز (٤) | 0.989 | 0.937 | 0.992 | 1 | | | | |
| کلروفیل a (٥) | -0.746 | -0.566 | -0.795 | -0.793 | 1 | | | |
| کلروفیل b (٦) | -0.807 | -0.628 | -0.837 | -0.847 | 0.982 | 1 | | |
| کلروفیل کل (۷) | -0.771 | -0.591 | -0.813 | -0.816 | 0.998 | 0.992 | 1 | |
| کلروفیل a/b (۸) | 0.819 | 0.636 | 0.815 | 0.846 | -0.873 | -0.945 | -0.902 | 1 |

**اعداد برجسته موجود در جدول حداقل در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشند.**

## منابع

Bian, S., and Jiang, Y. (2009). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, *120*(2), 264-270.

Büchi, L., Wendling, M., Amossé, C., Necpalova, M., and Charles, R. (2018). Importance of cover crops in alleviating negative effects of reduced soil tillage and promoting soil fertility in a winter wheat cropping system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *256*, 92-104.

Chavoushi, M., Najafi, F., Salimi, A., and Angaji, S. A. (2020). Effect of salicylic acid and sodium nitroprusside on growth parameters, photosynthetic pigments and secondary metabolites of safflower under drought stress. *Scientia Horticulturae*, *259*, 108823.

Guo, Y. Y., Tian, S. S., Liu, S. S., Wang, W. Q., and Sui, N. (2018). Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. *Photosynthetica*, *56*(3), 861-872.

Hosseini, S. J., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Pirdashti, H., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Hazrati, S., and Nicola, S. (2020). Assessment of Salinity Indices to Identify Mint Ecotypes using Intelligent and Regression Models. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *7*(2), 119-137.

Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R.Y., and Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol*, *11*(1), 100-105.

Modesti, M., Petriccione, M., Forniti, R., Zampella, L., Scortichini, M., and Mencarelli, F. (2018). Methyl jasmonate and ozone affect the antioxidant system and the quality of wine grape during postharvest partial dehydration. *Food Research International*, *112*, 369-377.

Salehi-Lisar, S. Y., and Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1* (pp. 1-16). Springer, Cham.

Singh, A., and Dwivedi, P. (2018). Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. *J. Pharmacogn. Phytochem*, *7*(1), 750-757.

Yu, X., Zhang, W., Zhang, Y., Zhang, X., Lang, D., and Zhang, X. (2019). The roles of methyl jasmonate to stress in plants. *Functional Plant Biology*, *46*(3), 197-212.

# Evaluation of the effect of methyl jasmonate foliar application on antioxidant activity and photosynthetic pigments of wheat under drought stress

*Shahryar Kazemi*[*1], *Mahsa Rafati Alashti*[2]
[1, 2] *Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University, Iran.*

**Abstract**
Drought stress as one of the most important abiotic stress which limiting plant growth. On the other hand, the use of methyl jasmonate as a growth regulator plays an important role in mitigating the damaging effects of environmental stresses.For this purpose, in order to investigate the effect of drought stress and methyl jasmonate on antioxidant properties and photosynthetic pigments of wheat plant, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design at seedling stage. The results showed that drought stress increased the activity of antioxidant enzymes but decreased the amount of chlorophyll pigments. The results also showed that the use of methyl jasmonate increased the activity of antioxidant enzymes. On the other hand, the use of methyl jasmonate was able to increase the amount of chlorophyll pigments and improve plant growth under drought stress.
**Keywords:** Catalase enzyme, Drought stress, Methyl jasmonate, Wheat

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# معرفی منابع گیاهی بومی مولد آنتی اکسیدان کارواکرول Carvacrol در ایران و مقایسه با سایر منابع غیر بومی

سعید دوازده امامی*[۱]، نگین سلطانی[۲]، لیلی صفایی[۳]

* ۱- نویسنده مسئول و استادیار پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران. S.12emami@yahoo.com

۲- دانشجوی داروسازی دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- مربی پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.

## چکیده

تیمول و کارواکرول فنول هایی هستند که بطور گسترده در صنایع داروسازی، غذایی و نوشابه سازی بکار می روند. در این تحقیق، سه گیاه اسانس دار از جمله دو گیاه بومی کشور شامل مرزه خوزستانی S. khuzistanica و مرزه بختیاری S. bachtiarica بعنوان منابع بومی تامین کارواکرول با مرزه تابستانه S. hortensis بعنوان منبع مطرح تامین کارواکرول در سایر کشورها، پس از کشت در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان مورد مقایسه قرار گرفتند. اسانس گیری با دستگاه کلونجر و آنالیز ترکیبات با GC-MS انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده، مهمترین ترکیبات اسانس مرزه بختیاری، کارواکرول(٤٨٪) و پاراسیمن(٢٩٪) و در مرزه خوزستانی ترکیب کارواکرول به تنهایی حدود ۹۳/۵ درصد اسانس را تشکیل می داد. در مرزه تابستانه ترکیب کارواکرول(٦٢٪) و گاماترپینن(٢١٪) دو ترکیب مهم اسانس بود. نتیجه گیری کلی آنکه با غربالگری ارقام گیاهی بومی می توان در زراعت متابولیتهای ارزشمند توفیق شایانی کسب نمود.

کلمات کلیدی: کارواکرول، مرزه های بومی، مرزه تابستانه، پاراسیمن

**مقدمه:**

ترکیبات موجود در اسانس های گیاهی بسیار متنوع هستند. تیمول و کارواکرول فنول هایی هستند که بطور گسترده در صنایع داروسازی، غذایی و نوشابه سازی بکار می روند. این ترکیبات پاراسیمن های هیدروکسیله شده هستند. در واقع کارواکرول و تیمول نتیجه متابولیت پاراسیمن ها هستند (Austgulen et al., 1987). اگرچه بسیاری از این ترکیبات بطور مصنوعی در آزمایشگاهها ساخته شده اند اما گیاهان منابع تامین کننده ایمن تری نسبت به انواع سنتتیک هستند و ترکیبات طبیعی سازگاری بیشتری با موجودات زنده نشان می دهند(Aparecida et al., 2018). انواع مرزه با نام علمی Satureja spp. از خانواده Lamiaceae ، بصورت خودرو و زراعی در مناطق مدیترانه ای و مناطق معتدل شمالی پراکنش دارند. این جنس در دنیا ۳۰ گونه ی علفی و نیمه درختچه ای دارد. دو گونه S. hortensis و S. montana از معروفترین این گونه ها محسوب می شوند. در ایران برای این جنس ۱۵ گونه علفی یک ساله و چند ساله معرفی شده که ۹ گونه آن انحصاری ایران هستند (سفیدکن و همکاران،

۱۳۸۳). در طب قدیم مرزه برای درمان ناراحتی های معده، سوءهاضمه، نفخ، تشنج، اسهال، عفونت های مجاری تنفسی، عفونت های ادراری و بعنوان ضد میکروب کاربرد داشته و اخیرا برای آن خواص ضد قارچی هم گزارش شده است(بوسک آبادی و همکاران، ۲۰۰۷ ). ادیگوزل و همکاران(۲۰۰۷) اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد مخمری برای اسانس و عصاره متانولی مرزه یکساله( *S. hortensis* ) گزارش کردند. مرزه *S. khuzistanica* در مصارف سنتی بعنوان ضد درد و ضد التهاب بکار می رود. این آثار و همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی آن بواسطه ماده اصلی اسانس آن یعنی کارواکرول است. از دیگر مصارف سنتی آن استفاده در درمان دندان درد و بعنوان ضد عفونت و ضد میکروب است. بکارگیری فرآورده های عصاره و اسانس این مرزه در مدیریت آفت معدی عود کننده نشان داد که عصاره و اسانس مرزه در کنترل این بیماری ناشناخته در گروه های بیماران مورد آزمایش کارآمد است و کاربرد سنتی آن را در درمان این بیماری تایید می کند ( امن لو وهمکاران، ۲۰۰۷). گرچه ترکیبات اصلی اسانس هر گونه با سایر گونه ها متفاوت است، اما در اکثر گونه ها ترکیبات اصلی شامل کارواکرول، تیمول، پاراسیمن، گاما-ترپنین، لینالول و لیمونن می شود. عباسی و همکاران( ۱۳۸٤) اعلام نمودند در گونه مرزه تابستانه کشت شده، میزان کارواکرول ٤٨/١ تا ٦٠ درصد و در مرزه رشینگری جمع آوری شده از منطقه ایلام به ترتیب حدود ٨٦/٦ تا ٩٥ درصد بدست آمد.

مواد و روشها

بذر سه گونه گیاه از بخش تحقیقات منابع طبیعی اصفهان تهیه و در گلخانه کشت شد. نشاهای حاصل برای کشت در زمین اصلی به مزرعه تحقیقاتی شهید فزوه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان واقع در حد فاصل اصفهان نجف آباد منتقل گردید. پس از برداشت گیاهان در مرحله گلدهی، مواد گیاهی خشک و آسیاب شد. اسانس گیری با دستگاه کلونجر در آزمایشگاه بخش و آنالیز ترکیبات با GC-MS در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع انجام شد.

نتایج

مقایسه میانگین صفات نشان داد مرزه خوزستانی با عملکرد ماده خشک ۱۹۹/۵ گرم در متر مربع، درصد برگ٦٣/٩، تعداد ساقه فرعی ٤٨/٣، درصد اسانس ٣/٦٢ و عملکرد اسانس۷/۱ سی سی در متر مربع در مقایسه با مرزه بختیاری با اعداد ١٠٦/٥، ٤٤/٣، ٥٥/٧، ١٤/٢، ٢/٢و ٢/٣ برای همان صفات، دارای مزیت نسبی تولید انبوه در این منطقه است. در اسانس مرزه بختیاری ۱۸ ترکیب، در اسانس مرزه خوزستانی ۱۳ ترکیب و در اسانس مرزه تابستانه ۱۲ ترکیب شناسایی شد. مهمترین ترکیبات اسانس مرزه بختیاری دو ترکیب کارواکرول(٤٨٪) و پاراسیمن(٢٩٪) که در مجموع حدود ۷۰ درصد اسانس را بخود اختصاص می داد، در حالیکه در مرزه خوزستانی ترکیب کارواکرول به تنهایی حدود ۹۳/۵ درصد اسانس را تشکیل می داد. در مرزه تابستانه ترکیب کارواکرول(٦٢٪) و گاماترپینن(٢١٪) دو ترکیب مهم اسانس بود.

**فهرست منابع**

Adiguzel, A., Ozer H., Kilic H. and Bulent Cetin, B. (2007). Screening of antimicrobial activity of essential Oil and methanol extract of Satureja hortensis on foodborne bacteria and fungi. Czech Journal of Food Science. 25(2): 81–8.
Amanlou M., Babaee N., Saheb-jamee M., Salehnia A., Farsam and H., Tohidast. (2007. Efficacy of Satureja khuzistanica extract and essential oil prepartions in the management of recurrent aphthous stomatitis. Daru. vol. 15, No. 4.

Austgulen, L. , Solheim, E. and Ronald R. Scheline R. (1987). Metabolism in Rats of p-Cymene Derivatives: Carvacrol and Thymol. Pharmacology & Toxicology 61: 98-111.
Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Barazande, M.M. (2003). Essential oil of Satureja bachtiarica as a rich source of carvacrol. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 20(5): 425-439.

## Introduction of native plant species of Iran as a source of carvacrol and comparison with other sources

S. Davazdahemami1*, N. Soltani2 and L. Safaei1
*1Agricultural & Natural Resources Research Center of Esfahan province, Esfahan, Iran*
*2 Student of Esfahan university of medical sciences, college of drug sciences*
**corresponding author*

**Abstract**
In order to evaluation of chemical composition ( carvacrol) of essential oil of three cultivated savory species named Satureja bachtiarica, S. khuzistarica and S. hortensis, The foliage of them were harvested at flowering stage from field in Isfahan province (central regions of Iran). After drying the plant materials in shade, their essential oils were obtained by hydrodistillation. The oils were analyzed by GC-MS. Twelve components were identified in the oil of S. hortensis with carvacrol (62 %) and γ – terpinene (21) , eighteen compounds were identified in the oil of S. bachtiarica with carvacrol (48%) and ρ – cymene (29%) and fourteen compounds were characterized in the oil of S. spicigera with carvacrol (43%) and thymol (29.2) as main constituents. The major component of essential oil in S. khuzistanica was carvacrol (93.5%). Finally, by monitoring of native species of our country we can introduce promising sources of carvacrol.
Key words: carvacrol, native savory, summer savory, ρ – cymene

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# معرفی منابع گیاهی بومی مولد تیمول Thymol در ایران و مقایسه با سایر منابع غیر بومی

سعید دوازده امامی*۱، نگین سلطانی۲ ، شیلا حجه فروش نیا۳

* ۱- نویسنده مسئول و استادیار پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران. S.12emami@yahoo.com

۲- دانشجوی داروسازی دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.

## چکیده

ترکیبات موجود در اسانس های گیاهی بسیار متنوع هستند ولی فنول ها عمومیت دارند. تیمول و کارواکرول فنول هایی هستند که بطور گسترده در صنایع داروسازی، غذایی و نوشابه سازی بکار می روند. در این تحقیق، درصد تیمول در سه گیاه اسانس دار مورد کشت و کار در کشور شامل آویشن دنایی *(Thymus daenensis Celak)* بعنوان منبع بومی تامین تیمول با دو گیاه زنیان *(Carum copticum L.)* و آویشن باغی *(T. vulgaris L.)* بعنوان منابع مطرح در تامین تیمول در سایر کشورها، پس از کشت در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان مورد مقایسه قرار گرفتند. اسانس گیری با دستگاه کلونجر و آنالیز ترکیبات با GC-MS انجام شد. اسانس آویشن دنایی حدود ۸٤ و آویشن باغی حدود ۸۰ درصد و اسانس زنیان ۵۰ درصد تیمول داشت. نتیجه گیری کلی آنکه با غربالگری ارقام گیاهی بومی می توان در زراعت متابولیتهای ارزشمند توفیق شایانی کسب نمود.

کلمات کلیدی: تیمول، زنیان، آویشن دنایی، آویشن دنایی

**مقدمه:**

ترکیبات موجود در اسانس های گیاهی بسیار متنوع هستند. تیمول و کارواکرول فنول هایی هستند که بطور گسترده در صنایع داروسازی، غذایی و نوشابه سازی بکار می روند. این ترکیبات پاراسیمن های هیدروکسیله شده هستند. در واقع کارواکرول و تیمول نتیجه متابولیت پاراسیمن ها هستند (Austgulen et al., 1987). اگرچه بسیاری از این ترکیبات بطور مصنوعی در آزمایشگاهها ساخته شده اند اما گیاهان منابع تامین کننده ایمن تری نسبت به انواع سنتتیک هستند و ترکیبات طبیعی سازگاری بیشتری با موجودات زنده نشان می دهند(Aparecida et al., 2018).

انواع آویشن و زنیان در طب قدیم برای درمان ناراحتی های معده، سوءهاضمه، نفخ، تشنج، اسهال، عفونت های مجاری تنفسی، عفونت های ادراری و بعنوان ضد میکروب کاربرد داشته و اخیرا برای آن خواص ضد قارچی هم گزارش شده است(بوسک آبادی و همکاران، ۲۰۰۷ ). ادیگوزل و همکاران(۲۰۰۷) اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد مخمری برای ترکیبات تیمول و کارواکرل گزارش کردند. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی آنها بواسطه ماده اصلی اسانس آن یعنی کارواکرول است. ترکیبات اصلی اسانس هر گونه گیاهی با سایر گونه ها متفاوت است. عباسی و همکاران( ۱۳۸٤) اعلام نمودند در گونه مرزه تابستانه کشت

شده، میزان کارواکرول ٤٨/١ تا ٦٠ درصد و در مرزه رشینگری جمع آوری شده از منطقه ایلام به ترتیب حدود ٨٦/٦ تا ٩٥ درصد بدست آمد.

**مواد و روش ها**

بذر سه گونه گیاه از بخش تحقیقات منابع طبیعی اصفهان تهیه و دو گونه آویشن در گلخانه کشت شد. نشاهای آویشن و بذر زنیان برای کشت در زمین اصلی به مزرعه تحقیقاتی شهید فزوه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان واقع در حد فاصل اصفهان نجف آباد منتقل گردید. پس از برداشت اندام هوایی دو آویشن در مرحله گلدهی، وبذر زنیان در مرحله رسیدگی بذر، مواد گیاهی خشک و آسیاب شد. اسانس گیری با دستگاه کلونجر در آزمایشگاه بخش و آنالیز ترکیبات با GC-MS در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع انجام شد.

**نتایج**

نتایج نشان داد میزان اسانس در مراحل مختلف رشد شامل شروع گلدهی، میانه دوره گلدهی و پایان مرحله گلدهی در آویشن باغی، دنایی و نیز زنیان متفاوت است و در مجموع مراحل میزان اسانس آویشن دنایی دو برابر آویشن باغی است. عملکرد ماده خشک آویشن دنایی بیشتر از آویشن باغی است. اسانس آویشن دنایی به میزان حدود ٨٠ تا ٨٤ درصد و آویشن باغی حدود ٧٨ تا ٨٠ درصد تیمول دارد. زنیان بعنوان منبع تجاری تولید تیمول طبیعی در دنیا مطرح است که اسانس آن در این آزمایش کمتر از ٥٠ درصد تیمول داشت که ٣٠ درصد کمتر از آویشن **دنایی است. در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد برای تولید تیول در کشور می توان منابع مختلفی را معرفی نمود که هر یک سازگاری مختلفی دارند. زنیان گیاهی یک ساله و متحمل به شوری و در گونه آویشن چند ساله و حساس به شوری هستند.**

**فهرست منابع**

Adiguzel, A., Ozer H., Kilic H. and Bulent Cetin, B. (2007). Screening of antimicrobial activity of essential Oil and methanol extract of Satureja hortensis on foodborne bacteria and fungi. Czech Journal of Food Science. 25(2): 81–8.

Austgulen, L. , Solheim, E. and Ronald R. Scheline R. (1987). Metabolism in Rats of p-Cymene Derivatives: Carvacrol and Thymol. Pharmacology & Toxicology 61: 98-111.

Davazdahemami, S., Sefidkon, F., Jahansooz, M.R. and Mazaheri, D.a 2010. Evaluation of water salinity effects on yield and essential oil content and composition of *Carum copticum L*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants,25(4): 504-512.

Davazdahemami S., Sefidcon F., Rezaei M. 2014. Chemical Composition of the Essential Oils of Five Cultivated Savory Species in Iran: *Satureja bachtiarica, S. khuzistanica, S. sahandica, S. spicigera and S. hortensis*. International Journal of Bioscience ،Vol. 5 No. 9 P 47-50

Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Barazande, M.M. (2003). Essential oil of Satureja bachtiarica as a rich source of carvacrol. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 20(5): 425-439.

# Introduction of native plant species of Iran as a source of thymol and comparison with other sources

***S. Davazdahemami1*, N. Soltani2 and Sh. Hajehforoshnia1***

*1Agricultural & Natural Resources Research Center of Esfahan province, Esfahan, Iran*

*2 Student of Esfahan university of medical sciences, college of drug sciences*

**corresponding author*

## Abstract

In order to evaluation of chemical composition ( thymol) of essential oil of three cultivated species named Thymus daenensis Celak, T. vulgaris L. and Carum copticum L., the foliage of thym and seed of ajowan were harvested at flowering stage and maturity stage from field in Isfahan province (central regions of Iran). After drying the plant materials in shade, their essential oils were obtained by hydrodistillation. The oils were analyzed by GC-MS. Aaccording to the results, T.daenensis is better than T. vulgaris in view of essential oil yield, phenolic yield and essential oil percentage. Also ajowan is a good surces of thymol. Therefore, these plants can be recommended for extensive cultivation and use in medicine industries.

Key words: T.daenensis, T. vulgaris, Carum copticum, thymol

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# اثر اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیتآنزیم های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در آریل‌های تازه انار

**مهدی رحیمی*[۱]، مختار حیدری[۲]، بابک پاکدامن سردرود[۳]، محمدرضا صالحی‌سلمی[٤]، مصطفی رحمتی جنیدآباد[٥]**

**[*۱] دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران**

**[۲] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران**

**استادیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران [۳]**

**[٤و ٥] استادیاران گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران**

نویسنده مسئول: *mahdirahimi627@gmail.com*

**چکیده**

آریل‌های تازه با حداقل فرآوری به عنوان یک محصول آماده یک روش جدید مصرف انار است. آریل‌های تازه انار به آسیب های فیزیکی و بیماری‌ها حساس هستند، بنابراین، پوشش آریل‌های تازه با حداقل فرآوری یک مرحله مهم در حفظ کیفیت آریل‌های تازه است. در این آزمایش اثرات اسید اگزالیک (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) و صمغ عربی (۱ و ۲ درصد) به عنوان مواد پوشش دهنده آریل‌های تازه مورد ارزیابی قرار گرفت و فعالیت آنزیم ها (پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) در سه مرحله (۷، ١٤ و ۲۱ روز) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز به طور معنی‌داری تحت تاثیر زمان انبارمانی و غلظت اسید اگزالیک و صمغ عربی قرار گرفت. برهمکنش مدت زمان انبارمانی و غلظت اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی دار بود. نتایج نشان داد امکان استفاده از اسید اگزالیک و صمغ عربی به عنوان تیمار پس از برداشت برای آریل‌های انار با حداقل فرآوری وجود دارد.

***کلمات کلیدی:* پوشش، ترکیبات فنلی، محصولات تازه برش یافته، کیفیت، انار، پس‌از برداشت،**

**مقدمه**

میوه انار (*Punica granatum* L.) دارای مقادیر قابل‌توجهی ترکیبات فنلی و ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی شامل انواع تانن-ها، فلاونوئیدها و ویتامین ث، توکوفرول‌ها و آنتوسیانین‌ها است (Mirjalili, 2014). خواص تغذیه‌ای و دارویی انار موجب توجه مصرف کنندگان این میوه شده است، اما جداسازی آریل‌های آن دشوار است. معرفی روش‌های جدید که مشکلات مصرف میوه را کاهش دهد، می‌تواند در توسعه بازار انار مؤثر باشد. جداسازی آریل‌های تازه انار و استفاده از آریل های تازه انار با حداقل فرآوری به عنوان یک محصول آماده مصرف به عنوان یکی از روش‌های جدید مصرف میوه انار معرفی شده است که یکی از انواع محصولات تازه‌برش یافته است (Gil et al. 2006). اگرچه در این روش مشکلات جداسازی آریل از میوه انار وجود ندارد ولی به دلیل حذف پوست میوه و عدم پوشش محافظتی در اطراف آریل‌های تازه انار، محصول عرضه شده به خسارات فیزیکی و بیماری‌ها حساس است، بنابراین، حفظ کیفیت آریل‌های تازه انار طی دوره انبارمانی موضوع مهم در حفظ کیفیت این محصول است. تنش‌های محیطی مانند درجه حرارت بالا، شوری، خشکی، قرار گرفتن در معرض ازن و تابش اشعه ماوراء بنفش (UV) با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (AOS)، اغلب به تنش اکسیداتیو منجر می‌شوند و علائمی از جمله جلوگیری از تشکیل کلروپلاست، قهوه‌ای شدن آنزیمی، تجزیه رنگدانه‌ها، اختلال در پایداری غشاء، غیر فعال سازی انواع پروتئین‌ها (مانند آنزیم‌ها) و جهش اسیدهای نوکلئیک را ایجاد می‌نماید (هاجز و همکاران، ۲۰۰٤). تنش اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که گونه‌های فعال اکسیژن (AOS) مانند سوپراکسید ($O_2^-$)، پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) و بنیان هیدروکسیل(OH) در سلول‌های گیاه افزایش یابند. گونه‌های

فعال اکسیژن موجب وارد آمدن آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن در اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری، هسته، گلی‌اکسی‌زوم و پراکسی‌زوم تولید می‌شوند (هاجز، ۲۰۰۳). گیاهان به طور معمول دو راهکار اجتناب از تنش و تحمل تنش را برای مقابله با تنش اکسیداتیو به کار می‌گیرند. میوه‌ها و سبزیجات نیز پس از برداشت به طور فعال از فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای حذف یا کنترل تولید بیش از حد بنیان‌های آزاد اکسیژن به منظور اجتناب از تنش اکسیداتیو استفاده می‌کنند (هاجز و فورنی، ۲۰۰۳). خنثی شدن اثر سمی اکسیژن‌های فعال ممکن است نتیجه فعالیت پیوسته و همزمان شماری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز (بلتاجی، ۲۰۰۸) و گلوتاتیون ردوکتاز (بلوخینا و همکاران ۲۰۰۳) باشد.

در بررسی انجام شده توسط ارکان و همکاران (۲۰۰۸) میوه‌های توت‌فرنگی قرارگرفته در معرض اشعه ماوراء بنفش (UV) میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسی‌دیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گایاکول‌پراکسیداز بیشتری را نسبت به نمونه‌های شاهد در طول زمان انبارمانی نشان دادند که نشان دهنده دفاع آنتی‌اکسیدانی در مقابل تنش ایجاد شده در اثر تابش اشعه ماوراء بنفش (UV) است. همچنین گزارش گردیده است که فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز با افزایش زمان انبارمانی میوه‌های هلو افزایش یافت. استفاده از اسید سالیسیلیک با کنترل فعالیت پلی فنل اکسیداز و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اُکسیدان موجب حفظ کیفیت میوه‌های هلو در طی ۵ هفته انبارداری گردید (تارین و همکاران، ۲۰۱۱). پوشش میوه‌های فلفل‌دلمه‌ای با کیتوزان با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز موجب حفظ کیفیت میوه‌ها پس از ۲۸ روز انبارداری گردید (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵).

پوشش‌دهی محصولات تازه برش یافته یکی از روش‌هایی است که برای حفظ کیفیت آریل‌های تازه انار مورد استفاده قرار می‌گیرد (خلیق و همکاران، ۲۰۱۵). به دلیل مصرف مستقیم آریل‌های تازه انار و اهمیت سلامت مصرف‌کننده، مواد مورد استفاده برای پوشش دهی آریل‌های تازه انار نباید دارای اثرات نامناسب برای مصرف کننده باشد، به همین دلیل برای پوشش‌دهی آریل های تازه انار، استفاده از ترکیباتی که مصرف آن‌ها بی‌خطر تشخیص داده شده (GRAS) و یا تحقیق در مورد ترکیبات با منشا گیاهی که امکان استفاده از آنها به عنوان مواد بی‌خطر وجود دارد، مورد توجه قرار گرفته است. برای پوشش‌دهی آریل‌های تازه انار اثر ژل آلوئه‌ورا (طاهری و همکاران، ۱۳۹٤)، عسل(هویزه و همکاران، ۱۳۹۳)، اتانول (طاهری و همکاران، ۱۳۹٤) و عصاره آبی برەموم (طاهری . همکاران، ۱۳۹٤)، اسید اگزالیک (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۵) مورد مطالعه قرار گرفته است.

آزمایش حاضر به‌منظور بررسی مقایسه اثر اسید اگزالیک و صمغ عربی بر کیفیت پس از برداشت آریل‌های تازه انار رقم ملس پوست زرد (یکی از ارقام محلی منطقه باغملک، استان خوزستان) انجام شد.

**مواد و روش‌ها**

آزمایش در سال۱۳۹۵ در گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان (ملاثانی، ۳٦ کیلومتری شمال شرقی اهواز) انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با تیمارهای اسید اگزالیک (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار)، صمغ عربی (۱ و ۲ درصد) و مدت زمان انبارداری (۷، ۱٤ و ۲۱ روز) در سه تکرار (هر تکرار شامل ۱۸۰ گرم آریل تازه انار) به اجرا درآمد. میوه‌های انار رقم ملس پوست قرمز از یک باغ تجاری در شهرستان باغملک (۱۵۰ کیلومتری شرق اهواز)

برداشت شد. پس از انتقال به آزمایشگاه، میوه‌ها شستشو شده با کلراکس ۰/۵ درصد ضدعفونی سطحی شدند. میوه‌ها با چاقوی تمیز برش داده و آریل‌ها از پوست جدا گردیدند. محلول حاوی غلظت‌های ۲ درصد و ۱ درصد صمغ عربی (مرک آلمان) با حل کردن پودر صمغ در آب مقطر و محلول اسید اگزالیک با حل کردن مقدار مشخص اگزالیک اسید (محصول شرکت دایجونگ کره جنوبی)در آب مقطر تهیه شد. از آب مقطر در تیمار شاهد استفاده شد.پس از تیمار با اسید اگزالیک و یا صمغ عربی به مدت ۵ دقیقه، مقدار ۱۸۰ گرم آریل در هر ظرف ریخته شده با پوشش سلوفان پوشانده شد و به یخچال با دمای ٤+ درجه سلسیوس منتقل شدند. در روزهای ۷، ١٤ و ۲۱ پس از شروع انبارمانی شاخص‌های بیوشیمیایی ارزیابی شدند. پس از پایان هر دوره انبارمانی، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) با استفاده از سوبسترای تیروزین اندازه گیری افزایش جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با اندازه گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر مدل AE-S60-4U انجام شد (Chance, and Machly, 1955).

## نتایج و بحث

بررسی اثرات اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (جدول ۱) نشان داد اثر زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین اثر اسید اگزالیک و صمغ عربی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود ولی اثر برهمکنش تیمار اسید اگزالیک، صمغ عربی و زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز معنی‌دار نبود. اثر زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد و برهمکنش اثر غلظت اسید اگزالیک و زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ولی اثر غلظت اثر اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود.

جدول تجزیه واریانس اثر اسید اگزالیک (۰، ۰,۵ و ۱ میلی‌مولار) و صمغ عربی (۱ و ۲ درصد) و زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیمی آریل‌های تازه انار رقم پوست قرمز باغملک

| | | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز | آنزیم آسکوربات پراکسیداز |
| زمان انبارمانی | ۲ | ۳/٦۲ ** | ۱/٤۲ * |
| اسید اگزالیک و صمغ عربی | ٤ | ۰/۷۲ * | ۰/۹٦ ns |
| زمان × غلظت | ۸ | ۰/۲۸ ns | ۱/۰۹* |
| خطا | ۲٦ | ۰/۲۱ | ٤/۰ |
| ضریب تغییرات (٪) | – | ١٤/۹٤ | ۲۲/٤۹ |

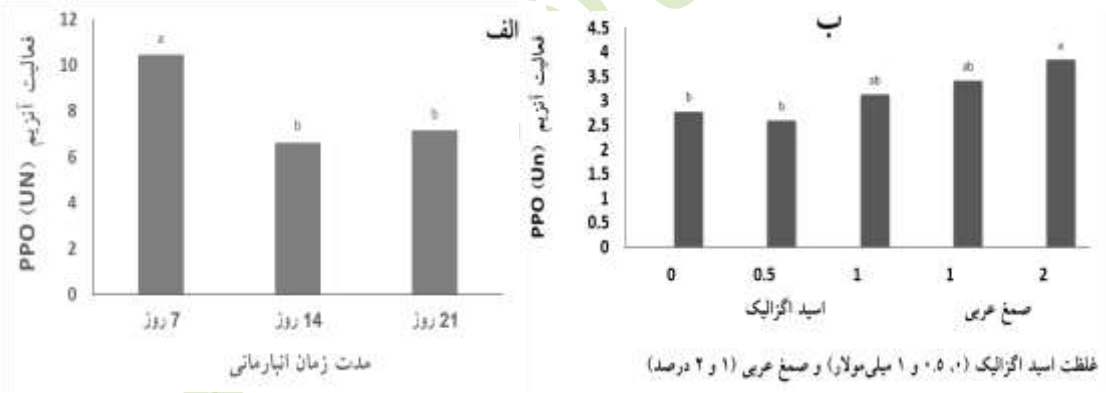
** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال خطای ۱٪ و ۵٪ و ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

**اثر زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز:** بررسی اثر زمان انبارمانی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز آب میوه انار

(نمودار ۱–الف) نشان داد، بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مربوط به زمان ۷ روز (۳/۷٤ میلی‌گرم در گرم در دقیقه) بود که به‌طور معنی‌داری از فعالیت این آنزیم پس از روزهای ١٤ و ٢١ روز بیشتر بود.

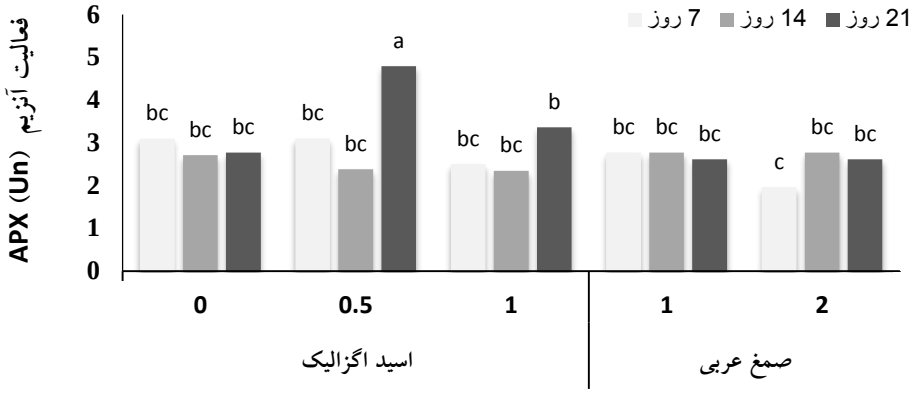
**اثر اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز :** بررسی اثر غلظت اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز آب‌میوه انار (نمودار ۱–ب) نشان داد، افزایش غلظت اسید اگزالیک و صمغ عربی موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز آب میوه انار گردید. بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در تیمار ۲ درصد صمغ عربی (۳/۸٤ میلی‌گرم در گرم در دقیقه) وجود داشت که با فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در تیمارهای ۱ درصد صمغ عربی و ۱ میلی‌مولار اسید اگزالیک (به ترتیب ۳/٤۱ و ۳/۱۳ میلی‌گرم در گرم در دقیقه) اختلاف معنی‌داری نداشت ولی به‌طور معنی‌داری از فعالیت آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز تیمارهای شاهد و ۰/۵ میلی‌مولار اسید اگزالیک بیشتر بود (به ترتیب ۲/۷۸ و ۲/۵۹ میلی‌گرم در گرم در دقیقه).

**فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز :**بررسی برهمکنش اثر زمان و غلظت بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز آب میوه انار (نمودار ج) نشان داد، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید اگزالیک پس از ۲۱ روز انبارمانی بود (٤/۷۹ میلی‌گرم در گرم در دقیقه) که به‌طور معنی‌داری از فعالیت آنزیم در سایر تیمارها بیشتر بود. کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به غلظت ۲ درصد صمغ عربی پس از ۷ روز انبارمانی بود (۱/۹٦ میلی‌گرم در گرم در دقیقه) که به طور معنی‌داری کمتر از فعالیت این آنزیم در تیمار ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید اگزالیک پس از ۲۱ روز انبارمانی بود ولی با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت.




نمودار **Error! No text of specified style in document.**- اثر زمان انبارمانی (الف) و غلظت (ب) بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز

میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال خطای ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.




**غلظت اسید اگزالیک (۰، ۰.۵ و ۱ میلی‌مولار) و صمغ عربی (۱ و ۲ درصد)**

نمودار ۲- برهمکنش اثر زمان ، غلظت اسید اگزالیک و صمغ عربی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز
میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال خطای ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

**منابع**

رحیمی، م.، حیدری، م.، پاکدامن، ب.، صالحی سلمی، م.، رحمتی، م. ۱۳۹۵. اثرات اثر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک و مدت‌زمان انبارمانی بر شاخص‌های بیوشیمیایی آریل‌های تازه انار. دومین کنفرانس و نمایشگاه تخصصی روش های افزایش ماندگاری فرآورده های غذائی. ص ۱۰.

طاهری، مدینه.، حیدری، مختار.، دانشور، محمدحسین. و عالمی¬سعید، خلیل. ۱۳۹٤. ب. بررسی اثر اتانول و زمان انبارمانی بر برخی شاخص های کیفی آریل های تازه انار با حداقل فرآوری. همایش بین المللی پژوهش های کاربردی در کشاورزی: ص۹.

محمدی، میثم.، خادمی، اورنگ.، صیدی، مهدی. و بازگیر، مسعود. ۱۳۹۵. حفظ کیفیت پس از برداشت و کنترل پوسیدگی قارچی فلفل دلمه¬ای (*Capsicum annum* L.) توسط پوشش خوراکی کیتوزان. فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۵(۱٦): ۱۷-۲۷.

هویزه، نرگس. فهدی.، حیدری، مختار.، یاری، فتانه. و سماواتی، وحید ۱۳۹۳. ب. اثرات صمغ عربی و زمان ا نبارداری بر کیفیت آریل¬های تازه انار رقم ملس پوست زرد با غملک (خوزستان). نخستین همایش ملی الکترونیکی دستاوردهای نوین در علوم غذایی، ص. ٤.

هویزه، نرگس. فهدی.، حیدری، مختار.، یاری، فتانه. و سماواتی، وحید. ۱۳۹۳. الف. اثرات عسل و زمان ا نبارداری بر برخی خصوصیات کیفی آریل‌های انار رقم ملس پوست زرد با غملک (خوزستان). نخستین همایش ملی الکترونیکی دستاوردهای نوین در علوم غذایی، ص. ۹.

Beltagi, M. S. 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (Cicer arietinum L.) plants. African Journal of Plant Science, 2(10): 118-123.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany, 91(2): 179-194.

Erkan, M., Wang, S. Y. and Wang, C. Y. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 48(2): 163-171.

Hodges, D.M. 2003. Overview: Oxidative stress and postharvest produce. Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops p. 1-12.

Khaliq, G., Mohamed, M. T. M., Ali, A., Ding, P. and Ghazali, H. M. 2015. Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. Scientia Horticulturae, 190: 187-194.

Sayyari, M., Valero, D., Babalar, M., Kalantari, S. Zapata, P. J. and Serrano, M. 2010. Prestorage Oxalic Acid Treatment Maintained Visual Quality, Bioactive Compounds, and Antioxidant Potential of Pomegranate after Long-Term Storage at 2OC. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 6804-6808.

Tareen, M. J., Abbasi, N. A. and Hafiz, I. A. 2012. Postharvest application of salicylic acid enhanced antioxidant enzyme activity and maintained quality of peach cv. 'Flordaking' fruit during storage. Scientia Horticulturae, 142: 221-228.

Zheng, X. and Tian, S. 2006. Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. Food Chemistry, 96(4): 519-523.

# Effect of Oxalic acid and Arabic Gum on Polyphenol Oxidase and Peroxidase activity in Pomegranate Fresh Arils

**Mahdi Rahimi[1]*, Mokhtar Heidari [2], Babak Pakdaman Sardrood [3], Mohamad Reza Salehi Salmi[4], Mostafa Rahmati Jonydabad[5]**

[1*] Graduate Student of Horticulture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran

[2, 4, 5] Department of Horticultural Sciences, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran

[3]- Department of Plant Protection, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran

[*]*Corresponding Author: mahdirahimi627@gmail.com*

Abstract

Minimally processed fresh arils as ready- to- eat product is a new method of pomegranate consumption. Fresh arils of pomegranate are sensitive to physical damages and diseases, therefore, coating of minimally processed fresh arils is an important stage in maintaining of fresh arils quality. This study assessed the use of the oxalic acid (0.5 and 1mM) and Arabic gum (1 and 2%) as coating agents of fresh arils. The activity of enzymes (polyphenol oxidase and ascorbate peroxidase) was evaluated in three stages (7, 14 and 21 days). The results showed that the activity of polyphenol oxidase was significantly affected by storage time and the concentration of oxalic acid and Arabic gum. The interaction of storage time and the concentration of oxalic acid and Arabic gum on the activity of the enzyme ascorbate peroxidase was significant. The results showed that it is possible to use oxalic acid and Arabic gum as a post-harvest treatment for pomegranate arils with minimal processing.

*Keywords*: Coating, Fresh Aril, Quality, Phenolic compounds, Pomegranate, Postharvest

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹ – دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# ظرفیت آنتی اکسیدانتی، میزان فنول کل و کاروتنوئیدها در توده های گزینش شده اسفناج بومی ایران

**سیدعبدالله افتخاری[1*]، مختار حیدری[2] و محمدابراهیم عازمی[3]**

[1] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، خوزستان
[2] دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، خوزستان
[3] استادیار گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، خوزستان

**چکیده**

در آزمایش حاضر ظرفیت آنتی اکسیدانتی، فنل کل و ترکیبات کاروتنوئیدی در ۱۸ توده اسفناج بومی ایران مقایسه شد. نمونه برداری از گیاهان رشد یافته در کشت زمستانه در شرایط آب و هوایی اهواز (استان خوزستان، حنوب غربی ایران) انجام شد. نتایج نشان دادند بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانتی در بخش هوایی گیاهان توده های قوچان و کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانتی نیز در برگ های گیاهان رقم کره ای و توده های اراک، قزوین، ورامین-۱، شیروان، بیرجند و قم بود. بیشترین مواد فنولی در برگ های گیاهان توده کرج و کمترین میزان مواد فنولی در برگ های گیاهان توده صالح آباد قم وجود داشت. بیشترین کارتنوییدهای برگ در گیاهان توده هیبرید خارجی وجود داشت که با میزان کارتنوییدهای کل در گیاهان توده های گلستان، قم، کرج، بیرجند، قزوین، تبریز، ورامین-۱، ورامین-۲ و ورامین-۳ تفاوت معنی داری نداشت. کمترین کارتنوییدهای کل در برگ گیاهان توده شیروان وجود داشت.

**کلمات کلیدی:** ارزش غذایی، آنتی اکسیدانت ها، برگ، سبزی، منابع ژنتیکی

**مقدمه**

اسفناج یکی از سبزیهای برگی بومی ایران می باشد و ایران منبع غنی از ژرم پلاسم اسفناج می‌باشد که از نظر می تواند برای به‌نژادگران اهمیت داشته باشد (حسندخت و اسدی، ۱۳۸٦؛ افتخاری و همکاران، ۱۳۸۹) ولی با وجود بومی بودن اسفناج در ایران، تحقیقات جامعی در مورد شناسایی، ارزیابی ژرم‌پلاسم‌های اسفناج در ایران انجام نگرفته است. یکی از مواردی که در بررسی این منبع ژنتیکی متنوع می تواند مهم باشد، بررسی ارزش غذایی توده های فوق می باشد که می تواند اطلاعات بیشتری در مورد اهمیت این توده ها در اختیار قرار دهد. اسفناج به عنوان یکی از سبزی های برگی غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانتی مطرح می باشد. (روباتزکی و یاماگوچی، ۱۹۹۷). گزارش گردیده است اسفناج دارای بالاترین ارزش ظرفیت جذب رادیکال‌های اکسیژن در بین سبزی‌ها می‌باشد (پریور، ۲۰۰۳). ترکیبات آنتی اکسیدانتی فعال موجود در اسفناج شامل فلاونویئدها، مشتقات پی- کوماریک اسید و یوریدین می باشد که گزارش گردیده است به صورت سینرژیسمی عمل می نمایند. وجود حداقل ۱۵ نوع فلانویید در اسفناج تشخیص داده شده است که مهترین آنها پاتولین و اسپیناسین می باشد ( چو و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج آزمون های زیست سنجی درون شیشه ای مشخص شده گیاه اسفناج دارای ترکیبات آنتی اکسیدانتی به میزان زیاد می باشد (وو و همکاران، ۲۰۰٤). کمالی (۱۳۹۲) گزارش داد میزان فنل کل و کارتنوئیدهای کل برگ در توده های اسفناج بومی ایران تفاوت معنی داری داشتند. عرفانی و همکاران (۱۳۸۵) وجود تفاوت در میزان فنل برگ هفت رقم اسفناج ایرانی را گزارش دادند. هوارد و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند ترکیبات آنتی اکسیدانتی و ترکیبات فنلی یازده رقم تجاری و ۱۵ لاین پیشرفته اسفناج در کشت اواخر پاییز که در بهار برداشت شدند بیشتر از اسفناج هایی بود که در اوایل پاییز کاشته شده و در اواخر پاییز برداشت شدند.

کاروتنوئیدها هم گروهی از رنگدانه های فتوسنتزی در سبزی های برگی می باشند که می‌توانند به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی عمل نمایند. بعلاوه کاروتنوئیدها می‌توانند سبب واکنش با گونه‌های فعال اکسیژن واکنش گردند که یا از طریق واکنش‌های اضافی می‌باشد یا از طریق واکنش‌های انتقال الکترونی که در مسیر سنتز کاروتنوئیدها وجود دارد (کانفیلد و همکاران، ۱۹۹۲) ولی در مورد میزان کاروتنوئیدهای ارقام یا توده های اسفناج ایرانی گزارشی منتشر تگردیده است.

با توجه به وجود منابع ژنتیکی قوی اسفناج در ایران و عدم وجود اطلاعات کافی در مورد ارزش غذایی توده های اسفناج در ایران، در آزمایش حاضر ظرفیت آنتی اکسیدانتی، فنل کل و کاروتنوئیدها در برخی توده های اسفناج ایرانی با یک رقم خارجی در کشت پاییزه اسفناج در شرایط آب و هوایی اهواز (استان خوزستان) مورد مقایسه قرار گرفت.

**مواد و روش ها**

عملیات اجرایی این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز به اجرا در آمد. مشخصات محل جمع آوری بذر ۱۸ توده بومی اسفناج در جدول ۲-۱ آورده شده است.

**جدول۱- نام و محل جمع آوری توده های اسفناج مورد استفاده در آزمایش**

طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با تیمار ژنوتیپ (۱۸ ژنوتیپ اسفناج) سه تکرار (هر تکرار یک خط کاشت به طول ۳ متر)

| محل جمع آوری | مختصات جغرافیایی | | | | ارتفاع از دریا (متر) | محل جمع آوری | مختصات جغرافیایی | | | | ارتفاع از دریا (متر) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | طول | | عرض | | | | طول | | عرض | | |
| | دقیقه | درجه | دقیقه | درجه | | | دقیقه | درجه | دقیقه | درجه | |
| تبریز | ۱۸ | ٤٦ | ۰٤ | ۳۸ | ۱۳٦٦ | کرج | ۰۰ | ۵۱ | ٤۸ | ۳۵ | ۱۳٦۰ |
| قزوین | ۰۰ | ۵۰ | ۱٦ | ۳٦ | ۱۲۹۰ | کوهبنان (کرمان) | ۱٦ | ۵٦ | ۲٤ | ۳۱ | ۲۰۰۰ |
| شیراز | ۲۲ | ۵۲ | ۳۷ | ۲۹ | ۱۵٤۰ | شیروان | ۵٤ | ۵۷ | ۲۳ | ۳۷ | ۱۱٦۰ |
| ورامین۱ | ۳۹ | ۵۱ | ۱۹ | ۳۵ | ۹۱۵ | قوچان | ۳۰ | ۵۸ | ۰٦ | ۳۷ | ۱۲٤۰ |
| ورامین۲ | ۳۹ | ۵۱ | ۱۹ | ۳۵ | ۹۱۵ | بیرجند | ۱۳ | ۵۹ | ۵۳ | ۳۲ | ۱٤۸۰ |
| ورامین۳ | ۳۹ | ۵۱ | ۱۹ | ۳۵ | ۹۱۵ | قم | ۵۳ | ۵۰ | ۳۸ | ۳٤ | ۹۳۰ |
| اراک | ٤۱ | ٤۹ | ۰۵ | ۳٤ | ۱۷۵۵ | صالح آباد قم | ۲۲ | ۵۰ | ۵۰ | ۳٤ | ۹۷۰ |
| ارومیه | ۰٤ | ٤۵ | ۳۳ | ۳۷ | ۱۳٤۰ | دورگه کره ای | ---- | ---- | ---- | --- | ---- |

بود. در هر ردیف کاشت، بذرها با فاصله کاشت ۱۵ سانتی‌متر از یکدیگر و عمق یک سانتی‌متر، در دی ماه به صورت کپه‌ای کاشته شدند. در طی دوره رشد، علف‌های هرز به صورت دستی وجین شده و نسبت به سله‌شکنی زمین نیزاقدام شد. حدود ٤۵ روز پس از کاشت بذر، در مرحله بلوغ برگ های خارجی بوته ها، برداشت بخش هوایی (شامل برگ ها و دمبرگ ها) با دست انجام شد. از هر بوته یک نمونه به وزن صد گرم تهیه شده و پس از قرار دادن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت، به طور کامل خشک شدند. نمونه های خشک شده با استفاده از آسیاب برقی تا رسیدن به حالت پودر آسیاب شدند. شاخص های مورد اندازه گیری در بخش هوایی بوته های

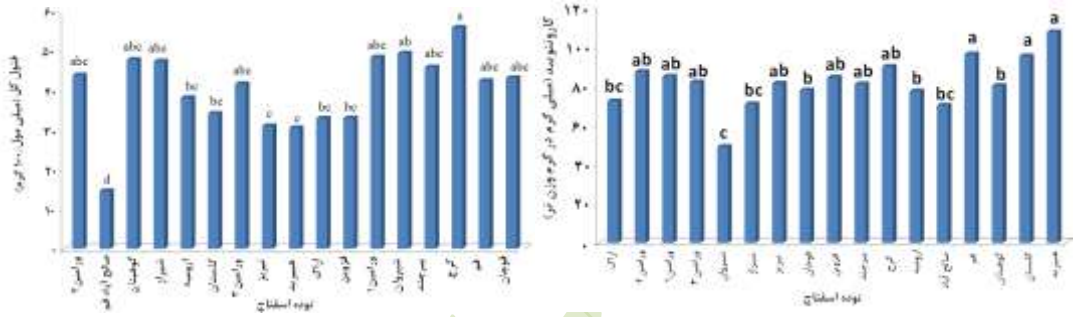
اسفناج شامل کارتنوییدها بر اساس روش پیشنهادی لیتن تالر[2] ( ۱۹۸۷) مواد فنولی بر اساس روش فارماکوپه یوگسلاوی (وانداک و همکاران، ۲۰۰۷) بود. برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانتی (DPPH ASSAY)، اثر آنتی رادیکالی عصاره بر رادیکال پایدار 2,2 – Diphonyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) درمحلول متانول و کاهش جذب درطول موج ۵۱۲ نانومتردر زمان های مختلف بدلیل کاهش میزان رادیکال بر اساس روش پیشنهادی ویلیامس و همکاران (۱۹۹۵) اندازه گیری شد.
آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

## نتایج و بحث

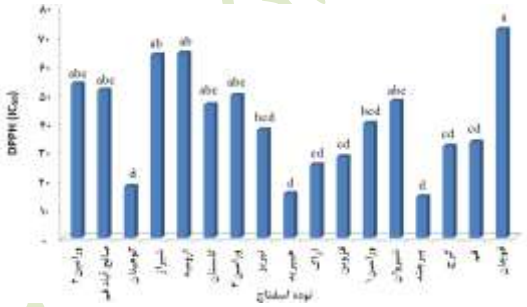
**فنول کل:** بیشترین مواد فنولی در توده کرج وجود داشت که به طور معنی داری بیشتر از مواد فنولی در توده های صالح آباد قم، ارومیه، گلستان، تبریز، هیبرید خارجی، اراک و قزوین بود (نمودار ۱– راست). کمترین میزان مواد فنولی در توده صالح آباد قم وجود داشت که به طور معنی داری کمتر از فنل کل در سایر توده های اسفناج بود. در سایر توده ها مواد فنولی تفاوت معنی داری نداشتند. عرفانی و همکاران (۱۳۸۵) و کمالی (۱۳۹۲) نیز وجود تفاوت درمیزان میزان فنل کل ارقام اسفناج ایرانی را گزارش دادند. با توجه به اینکه پیشنهاد گردیده است علاوه بر خصوصیات ژنتیکی، شرایط محیط رشد در تشکیل متابولیت های ثانویه از جمله ترکیبات فنولی نقش مهم دارد (وو و همکاران، ۲۰۰٤)، تفاوت در میزان ترکیبات فنلی این توده ها در شرایط آب و هوایی اهواز، نشاندهنده تاثیر تفاوت های ژنتیکی بر ترکیبات فنلی و اهمیت تنوع در منابع ژنتیکی اسفناج در رابطه با ترکیبات فنلی می باشد. با توجه به افزایش اهمیت ترکیبات فنولی بر سلامتی مصرف کنندگان و ارتباط آن بر خاصیت آنتی اکسیدانتی (پریور و همکاران، ۲۰۰۵)، پیشنهاد می شود در مورد معرفی ارقام و یا توده های دارای ارزش غذایی بالا در گیاه اسفناج، میزان ترکیبات آنتی اکسیدانتی و ترکیبات فنلی نیز به عنوان یکی از معیارهای مهم در نظر گرفته شود.
**ظرفیت آنتی اکسیدانتی (DPPH):** بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانتی در توده قوچان وجود داشت (نمودار ۲) که با ظرفیت آنتی اکسیدانتی در توده های ورامین–۳، صالح آبادقم، شیراز،ارومیه، گلستان، ورامین–۲ و شیروان تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری بیشتر از ظرفیت آنتی اکسیدانتی در بخش هوایی سایر توده های اسفناج بود. کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانتی نیز در توده هیبرید خارجی وجود داشت که با ظرفیت آنتی اکسیدانتی در توده های اراک، قزوین، ورامین–۱، شیروان، بیرجند و قم تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری کمتر از ظرفیت آنتی اکسیدانتی در سایر توده های اسفناج در این آزمایش بود. در مورد مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانتی در اسفناج و یا سبزی های بومی ایران مطالعاتی انجام نگردیده است ولی این نتایج با یافته های کوریلیچ و همکاران (۲۰۰۲) مشابهت دارد که گزارش دادند فعالیت آنتی اکسیدانتی ارقام کلم بروکلی تنوع زیادی را نشان دادند نتایج یک بررسی در سیب زمینی شیرین نشان داد بین رنگ گوشت و فعالیت آنتی اکسیدانتی بر اساس روش DPPPH ارتباط مستقیم وجود دارد (والترف ۱۹۷۹) ولی در آزمایش حاضر تنها میزان ترکیبات کارتنوییدی در بخش هوایی توده های اسفناج اندازه گیری شده (نمودار ۱– چپ) پیشنهاد می گردد ارتباط بین ترکیبات آنتی اکسیدانتی و ترکیبات کارتنوییدی و سایر رنگیزه های برگ مشخص شود.

[2]. Litchtenthaler

**کاروتنوئیدهای کل:** دادند بیشترین کارتنوییدهای برگ در گیاهان توده هیبرید خارجی وجود داشت (۱۰۷/۳۳ میلی گرم در گرم وزن تر بافت) با میزان کارتنوییدهای توده های گلستان، قم، کرج، بیرجند، قزوین، تبریز، ورامین-۱، ورامین-۲ و ورامین-۳ تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری بیشتر از کارتنوییدهای سایر توده های اسفناج بود(نمودار ۱ راست). کمترین کارتنوییدهای توده شیروان وجود داشت (٤٨/٩٩ میلی گرم در گرم وزن تر بافت) که با کارتنوییدهای برگ توده صالح آباد، شیراز، اراک (به ترتیب ٦٩/٩٧، ٧٠/٦٨ و ٧٢/١٩ میلی گرم در گرم وزن تر بافت) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری کمتر از کارتنوییدهای کل برگ سایر توده های اسفناج بود.



نمودار ۱- میزان فنول کل (نمودار راست) و میزان کارتنوییدها (سمت چپ) در بخش هوایی برخی توده های اسفناج بومی ایران
* میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.



نمودار ۲- میزان ظرفیت آنتی اکسیدانتی (DPPH) در بخش هوایی برخی توده های اسفناج بومی ایران. * میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.

## منابع

افتخاری، س.ع.، حسندخت، م. ر.، فتاحی مقدم، م. ر. و کاشی، ع.ک. ۱۳۸۹. تنوع ژنتیکی توده های اسفناج بومی ایران (*Spinacia oleracea* L.) با استفاده از صفات مرفولوژیک. مجله علوم باغبانی ایران. ()٤١: ٩٣-٨٣.

حسندخت، م. اسدی، ح. ١٣٨٦. بررسی تنوع ژنتیکی توده های بومی اسفناج ایرانی. علوم کشاورزی ایران. ۳۸ (۲): ۲٦٥-۲۷٥.

عرفانی، ف.، م. ر. حسندخت، م. برزگر، ع. جباری. ۱۳۸۵. تعیین و مقایسه برخی از مواد مغذی هفت رقم اسفناج ایرانی. فصلنامه علوم وصنایع غذایی ایران. دوره ۳، شماره ۲: ٣٤- ۲۷.

کمالی، م.۱۳۹۲. کاربرد کود آهن بر تجمع آهن در برخی توده‌های اسفناج بومی ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد،گروه علوم باغبانی،دانشکده کشاورزی. دانشگاه شهید چمران اهواز. ۹۸ ص.

Cho, M. J., Howad, L. R., Prior, R. L. and Morelock, T. 2008. Flavonoid content and antioxidant capacity of spinach genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. J. Sci. Food. Agr. 88: 1099-1106.

Howard, L. R., Pandjaitan, N., Morelock, T., Gill, M. I. 2002. Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and growing season. J. agric. Food Chem. 50 (21): 5891-5896.

Kurilich, A.C., Jeffery,E.H., Juvik,J.A., Wallig,M.A., & Klein,B.P. 2002. Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. J. Agric. Food Chem. 50: 5053-5057.

Lithentaler, H. K. 1987. Chlorophyll and cartenoids: pigments of photosynthesis biomembranes in packer, douce. D. S. Metod in enzymology. Plant cell membranes, New York: Academic oress. 350-382.

Prior, R. L. 2003. Spinach as a source of antioxidant phytochemical with potential health effects. Journal of the American Society for Horticulture Science. 3-4.

Rubatzky, V. E. and Yamaguchi, M. 1997. World Vegetables, Principles, Production and Nutritive Values. Chapman and Hall. 843 p.

Vunduk, V. B., Brantner, A. H., Plazibat, M.,2007. Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some Stachys taxa. Food Chemistry, 104: 1277-1281.

Williams W. B, Cuvelier M. E, and Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. U. Technol. 28: 25-30.

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E. and Prior, R. L. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. J Agric Food Chem. 52: 4026–4037.

## Antioxidant Capacity, Total Phenolic Content and Carotenoids in Selected Iranian Spinach Land Races

**Seyed Abdullah Eftekhari[1 *], Mokhtar Heidari[2] and Mohammad Ebrahim Azemi [3]**

**[1] Associate Prof. of Horticulture, Department of Horticultural Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran**

**[2] Associate Prof. of Horticulture, Department of Horticultural Sciences, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran**

**[3]Assistant Professor of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.**

**Abstract**

In the present experiment, the antioxidant capacity, total phenolics and total carotenoids in 18 Iranian spinach landraces were compared. Sampling of plants grown in winter cultivation was carried out in the climatic conditions of Ahvaz (Khuzestan province, southwestern Iran). The results showed that ‘Quchan’ plants had the highest antioxidant capacity and Korean cultivar (as control) and ‘Arak’, ‘Qazvin’, ‘Varamin-1’, ‘Shirvan’, ‘Birjand’ and ‘Qom’ had the lowest antioxidant capacity. ‘Karaj’ had the highest phenolics and ‘Salehabad Qom’ had the lowest amount of phenolics. The Korean cultivar had the highest carotenoids, which was not significantly different from the carotenoids of ‘Golestan’, ‘Qom’, ‘Karaj’, ‘Birjand’, ‘Qazvin, ‘Tabriz’, ‘Varamin-1’, ‘Varamin-2’ and ‘Varamin-3’. ‘Shirvan’plants had the lowest levels of carotenoids.

**Key words:** Antioxidant, Genetic resources, Nutritional value, Leaf, Vegetable

# افزایش مقاومت به تنش خشکی در بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) همزیست با میکوریز آربوسکولار از طریق القای سیستم آنتی‌اکسیدانی

*سیده زهره صادری[۱]، پروانه ابریشم چی[۱*]، علی گنجعلی[۱]، طیبه رجبیان[۲]*

*[۱] دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی؛ [۲] دانشگاه شاهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: abrisham@um.ac.ir

**چکیده:** همزیستی با میکوریز آربوسکولار (AM)، مقاومت گیاه به تنش را افزایش می‌دهد. بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، گونه مهمی از خانواده نعناعیان است که توانایی برقراری رابطه همزیستی با میکوریز را دارد. در پژوهش حاضر، نقش AM در القای سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش مقاومت بادرنجبویه به تنش خشکی مطالعه شد. گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی، ۱۳۰ روز پس از کشت، در مواجهه با تنش خشکی قرار گرفتند. بیست روز پس از اعمال تنش، وزن خشک اندام هوایی و مجموع سطح برگ اندازه‌گیری شد و محتوای فنل (TP) و فلاونوئید کل (TF) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) مورد بررسی قرار گرفتند. تحت تنش خشکی، رشد، محتوای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مطالعه شده در بادرنجبویه‌های همزیست بیشتر از گیاهان غیرهمزیست بود. درواقع، همزیستی با AM از طریق القای سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مقاومت بادرنجبویه به تخریب اکسیداتیو ناشی از تنش را بهبود بخشد.

**کلمات کلیدی:** بادرنجبویه، تنش خشکی، سیستم آنتی‌اکسیدانی، میکوریز آربوسکولار

**مقدمه**

تنش خشکی، یکی از فاکتورهای محدودکننده تولید محصول در بیشتر نقاط ایران می‌باشد (Koocheki *et al.*, 2014). این تنش با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را به پیش می‌برد. براین‌اساس، یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های گیاه برای مقابله با تنش خشکی، فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی است. افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند TP و TF، در کنار ارتقای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند SOD، POX و PPO به بقای گیاه در شرایط تنش‌زا کمک می‌کند (Laxa *et al.*, 2019). از طرف دیگر، گیاه می‌تواند با برقراری رابطه همزیستی با AM توانایی خود را برای مقابله با تنش بهبود بخشد. قارچ‌های AM، گروه مهمی از میکروارگانیسم‌های خاک هستند که با ۸۰٪ گونه‌های گیاهی رابطه همزیستی برقرار می‌کنند (Smith & Read, 2008). بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، گونه مهمی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که رابطه همزیستی موفقیت آمیزی با قارچ‌های AM دارد (Zubek *et al.*, 2014). مواجهه بادرنجبویه با تنش خشکی، کاهش محصول و عملکرد گیاه را موجب می‌شود (Nasab *et al.*, 2015). بااین‌حال، علی‌رغم حساسیت بادرنجبویه به تنش خشکی و توانایی این گونه در برقراری رابطه همزیستی با AM، تاکنون تاثیر میکوریز بر پاسخ بادرنجبویه به تنش خشکی مطالعه نشده است. در این پژوهش، تاثیر همزیستی میکوریزایی بر رشد و مقاومت بادرنجبویه به تنش خشکی بررسی شد. هم‌چنین سطح سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان همزیست تحت این تنش، مورد مطالعه قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها**

کاشت بذرها و اعمال تنش خشکی: مخلوط مساوی از دو گونه میکوریز *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices*، به عنوان مایه تلقیح قارچ، آماده شد. دانه‌های بادرنجبویه در خاک حاوی مایه تلقیح با نسبت ۱۰:۱ کاشته شدند. تنش خشکی در سطح ٪۵۰ ظرفیت گلدانی، ۱۳۰ روز پس از کشت گیاهان اعمال شد. گیاهان، ۲۰ روز پس از اعمال تنش برداشت شدند و وزن خشک اندام هوایی (SDW) و مجموع سطح برگ (LAT) آن‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش درصد کلونیزاسیون ریشه: ریشه‌ها، با استفاده از روش Phillips و همکاران (۱۹۷۰) رنگ آمیزی شدند و با به کارگیری روش Giovannetti و Mosse (۱۹۸۰) درصد کلونیزاسیون ریشه (RC) محاسبه شد.

سنجش محتوای رادیکال آزاد پراکسیدهیدروژن ($H_2O_2$): مقدار $H_2O_2$ طبق روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) در طول موج ۳۹۰ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری اندازه‌گیری شد.

سنجش محتوای فنل و فلاونوئید کل: پس از استخراج ترکیبات فنلی، محتوای TP توسط روش Singleton و همکاران (۱۹۷٤) و محتوای TF با استفاده از روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: عصاره پروتئینی استخراج و محتوای پروتئین اندازه‌گیری شد (Yan *et al.*, 2006). با استفاده از روش طیف سنج نوری، فعالیت آنزیم‌های SOD (Giannopolitis & Ries, 1977)، POX (Hoyle, 1972) و PPO (Raymond *et al.*, 1993) مورد محاسبه قرار گرفت.

آنالیز آماری: جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS و روش تجزیه واریانس (One Way Anova) استفاده شد و میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن (Duncan's Multiple Range Test) در سطح احتمال $P\leq 0.05$ مقایسه شدند.

**نتایج**

تنش خشکی موجب کاهش شاخص‌های رشد بادرنجبویه شد، اما حضور AM مانع این تغییر در گیاهان همزیست شد. کمترین SDW (۱/٦۱ g/plant) و LAT (۹۸۲/۰۳ $cm^2$/plant) در گیاهان غیرمیکوریزی تحت تنش خشکی مشاهده شد. (جدول ۱). محتوای $H_2O_2$ ، TP و TF و فعالیت SOD، POX و PPO طی تنش به طور معنی‌داری افزایش یافتند. حضور AM، تغییر در مقدار $H_2O_2$ را تعدیل کرد به طوری که بیشترین و کمترین مقدار $H_2O_2$ به ترتیب در گیاهان غیرمیکوریزی و تحت تنش خشکی (۵/۹٦ µmol/g FW) و گیاهان میکوریزی با آبیاری مناسب (۳/۲٦ µmol/g FW) مشاهده شد. گیاهان همزیست و تحت تنش خشکی، بیشترین مقدار TP (٤۳/۹۳ mg GAE/g DW) و TF (۱٤/۳۷ mg QE/g DW) و فعالیت آنزیم‌های SOD (unit/mg pr ۱۰/۵۷)، POX (۰/۹۲ $\Delta OD_{530}$/min mg pr) و PPO (٦۱/٤۷ µmol/min mg pr) را نشان دادند

**بحث**

همزیستی بین گیاه و AM گسترده‌ترین نوع برهم‌کنش سودمند بین گیاهان و میکرواورگانیسم‌ها است (Smith & Read, 2008). در مطالعه حاضر، یک همزیستی موفقیت آمیز بین گونه بادرنجبویه و قارچ‌های AM مشاهده شد که با مطالعات قبلی هم‌خوانی داشت (Zubek *et al.*, 2014; Engel *et al.*, 2016). بادرنجبویه‌های مورد بررسی در مواجهه با تنش خشکی، مشابه با نتایج مطالعات دیگر (Nasab *et al.*, 2015; Farahani *et al.*, 2009;) علائم کمبود آب را نشان دادند. بااین‌حال، همزیستی با AM

جدول ۱. بررسی درصد کلونیزاسیون ریشه () و تاثیر همزیستی با AM بر شاخص‌های وزن خشک اندام هوایی (SDW) و مجموع سطح برگ (LAT)، محتوای پراکسیدهیدروژن ($H_2O_2$)، فنل (TP) و فلاونوئید کل (TF) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) گیاه بادرنجبویه.

| تیمار | RC (%) | SDW (g/plant) | LAT ($cm^2$/plant) | $H_2O_2$ (µmol/g FW) | TP (mg E/g DW) | TF (mg E/g DW) | SOD (unit/mg pr) | POX (ΔOD/min mg pr) | PPO (µmol/min mg pr) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NAM-ww | – | ۱/۶۱$^{b}$ | ۹۸۲/۰۳$^{b}$ | ٤/۷۸$^{b}$ | ۳۲/۳٦$^{c}$ | ۱۰/۰۹$^{d}$ | ٦/۸٥$^{c}$ | ۰/٥۸$^{c}$ | ۳۸/۲٥$^{c}$ |
| AM-ww | ٤۸/۳۰$^{b}$ | ۱/۹۳$^{a}$ | ۱۱۹۷/٤۰$^{a}$ | ۳/۲٦$^{d}$ | ۳۲/۷۰$^{c}$ | ۱۰/۷۸$^{c}$ | ۷/۹۹$^{b}$ | ۰/٦٦$^{bc}$ | ٤٥/۰٦$^{bc}$ |
| NAM-ws | - | ۱/٥۲$^{c}$ | ۹۲٦/۹۷$^{c}$ | ٥/۹٦$^{a}$ | ٤۱/٤۱$^{b}$ | ۱۳/٤٤$^{b}$ | ۸/۱۷$^{b}$ | ۰/٦۷$^{b}$ | ٥۰/٥۷$^{b}$ |
| AM-ws | ٥۰/۷۹$^{a}$ | ۱/۹۲$^{a}$ | ۱۱٦۰/٤۰$^{a}$ | ٤/٦٥$^{c}$ | ٤۳/۹۳$^{a}$ | ۱٤/۳۷$^{a}$ | ۱۰/٥۷$^{a}$ | ۰/۹۲$^{a}$ | ٦۱/٤۷$^{a}$ |

NAM: گیاهان غیرمیکوریزی؛ AM: گیاهان همزیست با میکوریز؛ ww: آبیاری مناسب؛ ws: تنش خشکی. داده‌ها میانگین ۳ تکرار می‌باشند. در هر ستون، گروه‌های واجد حروف یکسان، تفاوت معنی‌داری ($P\leq 0.05$) ندارند.

مقاومت بادرنجبویه را در مواجهه با تنش خشکی افزایش داد، به طوری که اعمال تنش خشکی در SDW و LA گیاهان همزیست تاثیر معنی‌داری نداشت. نتایج مطالعه Quiroga و همکاران (۲۰۱۷) نیز نشان داد همزیستی ذرت (*Zea mays*) با AM به طور قابل توجهی از کاهش رشد در مواجهه با تنش خشکی ممانعت می‌کند. نقش AM در جذب بهتر آب و عناصر کم تحرک، گسترش سطح برگ و افزایش هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز و رشد را در گیاهان همزیست بهبود می‌بخشد (Xu *et al.*, 2018). افزایش مقدار $H_2O_2$ ، یکی از مهم‌ترین نشانه‌های پاسخ به تنش است. بررسی حاضر، افزایش معنی‌دار $H_2O_2$ را در بادرنجبویه‌های تحت تنش خشکی نشان داد. بااین‌حال، مقدار $H_2O_2$ در گیاهان همزیست با AM به طور قابل توجهی کمتر از گیاهان غیرمیکوریز بود که با پاسخ گوجه فرنگی‌های میکوریزی به تنش خشکی مطابقت داشت (Chitarra *et al.*, 2016). در شرایط تنش‌زا، افزایش محتوای $H_2O_2$ علاوه بر القای تنش اکسیداتیو، به عنوان یک مولکول علامت، موجب فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز می‌شود (Wu *et al.*, 2006). ترکیبات فنلی، گروه مهمی از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی هستند. افزایش ترکیبات فنلی بادرنجبویه در پی حضور AM و تنش خشکی، با نتایج مطالعات قبل هم‌خوانی داشت. برای مثال، تنش خشکی در شمعدانی (*Pelargonium graveolens*) موجب افزایش معنی‌دار مقدار TP و TF به خصوص در گیاهان میکوریزی شد (Amiri *et al.*, 2015). ارتقای سنتز ترکیبات فنلی، در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز در گیاهان میکوریزی روی می‌دهد (Li *et al.*, 2017). ترکیبات فنلی با جاروب ROS تولیدشده، نقش مهمی در افزایش مقاومت گیاه به تنش دارند. تحت تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های SOD، POX و PPO در بادرنجبویه‌های میکوریزی به طور قابل توجهی افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متعاقب آن ارتقای مقاومت به تنش در گیاهان میکوریزی در مطالعات قبل نیز گزارش شده است. برای مثال، تحت تنش خشکی، فعالیت SOD، POX و PPO در زنیان (*Chlorophytum borivilianum*) همزیست با AM نسبت به گیاهان غیرهمزیست افزایش یافت (Dave & Tarafdar, 2012). تنش خشکی، با اختلال در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، موجب تولید فراوان سوپراکسید می‌شود که با

میانجی‌گری SOD به $H_2O_2$ تبدیل می‌گردد (Carvalho, 2008). فعالیت SOD وابسته به حضور کوفاکتورهای آهن، روی و مس است، جذب بهتر عناصر معدنی در گیاهان همزیست، موجب افزایش فعالیت SOD می‌شود (Chang *et al*., 2018). به دنبال افزایش فعالیت SOD، فعالیت POX و PPO نیز افزایش یافت. هم‌چنین میکوریز با افزایش محتوای پلی‌فنل‌ها، که دهنده‌های الکترون POX و PPO هستند، موجب افزایش فعالیت این دو آنزیم می‌شود (Smirnoff, 2005). افزایش محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان همزیست با میکوریز، می‌تواند یکی از مکانیسم‌های این گیاهان برای بهبود حمایت علیه تخریب اکسیداتیو در شرایط تنش‌زا باشد.

**References:**

Amiri, R., Nikbakht, A., Etemadi, N. (2015) Alleviation of drought stress on rose geranium in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. Sci. Hortic. 197: 373–380.

Carvalho, M.H.C. (2008) Drought stress and reactive oxygen species. Plant Signal. Behav. 3:156-165.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C. (2002) Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. J. Food Drug Anal. 10: 178-182.

Chang, W., Sui, X., Fan, X.X., Jia, T.T. (2018) Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Modulates Antioxidant Response and Ion Distribution in Salt-Stressed *Elaeagnus angustifolia* Seedlings. Front. Microbiol. 9:1-14.

Chitarra, W., Pagliarani, C., Maserti, B., Lumini, E., Siciliano, I., Guerrieri, E. (2016) Insights on the Impact of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis on Tomato Tolerance to Water Stress. Plant Physiol. 171:1009–1023.

Dave, S. and Tarafdar, J.C. (2012) Arbuscular Mycorrhizal Fungi Encourage Drought Tolerance of *Chlorophytum borivilianum* by Enhancing Antioxidant Enzyme System. Appl. Biol. Res. 14:60-70.

Engel, R., Szabo, K., Abranko, L., Rendes, K. (2016) Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth and Polyphenol Profile of Marjoram, Lemon Balm, and Marigold. J. Agri. Food Chem. 64:3733−3742

Farahani, H.A. Valadabadi, S.A. Daneshian, J., Khalvati M.A. (2009) Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. Medicinal Plants Research. 3:329-333.

Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. (1977) Superoxide Dismutases. Plant Physiol. 59:309-314

Giovannetti, M. and Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84:489-500.

Hoyle, M.C. (1972) Indoleacetic Acid Oxidase: A Dual Catalytic Enzyme? Plant Physiol. 50:15-18.

Koocheki, A., Seyyedi, S.M., Eyni, M.J. (2014) Irrigation levels and dense planting affect flower yield andphosphorus concentration of saffron corms under Mashhad, Northeast Iran. Sci. Hortic. 180:147–155.

Laxa, M., Liebthal, M., Dietz, J. (2019) The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. Antioxidants. 8:1-13.

Li, X., Zhang, L. Ahammed, G. J., Li, Z. X., Wei, J. P., Han, W. Y. (2017) Stimulation in primary and secondary metabolism by elevated carbon dioxide alters green tea quality in *Camellia sinensis* L. Sci. Rep. 7:1-12.

Nasab, A.K., Yarnia, M., Lebaschy, M.H., Mirshekari, B., Rejali, F. (2015) The Response of Drought Stressed Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) to Vermicompost and PGPR. Biol.7:1336-1344.

Phillips, J. M. and Hayman, S. D. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55:158 161.

Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Chaumont, F., Lozano, J.M.R. (2017) Enhanced Drought Stress Tolerance by the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in a Drought-Sensitive Maize Cultivar Is Related to a Broader and Differential Regulation of Host Plant Aquaporins than in a Drought-Tolerant Cultivar. Front. Plant Sci. 8:1-15

Raymond, J., Rakariyatham, N., Azanza, J.L. (1993) Purification and some properties from sunflower of polyphenoloxidase seeds. Phytochemistry. 34:927-931.

Singleton, V. L., Orthofer, R. Lamuela-Raventós, R. (1999) Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Method. Enzymol. 299: 152-178.

Smirnoff, N. (2005) Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. 1th ed, Blackwell Publishing Ltd, UK.

Smith, S.E. and Read, D. (2008) Mycorrhizal Symbiosis. 3th ed, Academic Press of Elsevier.

Velikova, V. Yordanov, I., Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants Protective role of exogenous polyamines. Plant Sci. 151:59–66.

Wu, Q.S., Zou, Y.N., Xia, R.X. (2006) Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. Eur. J. Soil Biol. 42:166–172.

Xu, H., Lu, Y., Tong, S. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of maize seedlings under salt stress. Emir. J. Food Agr. 30:199-204.

Yan, Q., Shi, M., Ng, J., Wu, J. Y. (2006) Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. Plant Sci. 170:853–858.

Zubek, S., Stefanowicz, A. M., Seidler-Łozykowskae, K. (2012) Arbuscular mycorrhizal fungi and soil microbial communities under contrasting fertilization of three medicinal plants. App. Soil Ecol. 59:106– 115.

# Arbuscular Mycorrhizal Fungi Increase Drought Resistance by Induction of Antioxidant System in *Melissa officinalis* L.

***Seyedeh Zohreh Saderi*[1], *Parvaneh Abrishamchi*[1], *Ali Ganjeali*[1], *Tayebeh Radjabian*[2]**

[1.] *Ferdowsi University of Mashhad, Faculty of Sciences, Department of Biology;*

[2.] *Shahed University,Faculty of Basic Sciences, Department of Biology*

Corresponding Author email: abrisham@um.ac.ir

**Abatract**: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi-plant symbiosis induces plant resistance to stress. *Melissa officinalis* L. is an important species in the Lamiaceae family that can form a mutualistic relationship with AM. The aim of this study was to examine the effect of mycorrhizal symbiosis on improvement of antioxidant system and the resistance of *M. officinalis* to drought stress. Drought stress was applied to 130-day-old plants. Twenty days after stress, shoot dry weight and leaf area were investigated in *M. officinalis*. Content of total phenol (TP) and flavonoid (TF) and enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX) and polyphenol oxidase (PPO) were examined. AM symbiosis prevented drought-induced growth decline. Under drought stress, growth, the content of non-enzymatic antioxidant and activity of antioxidant enzymes in mycorrhizal *M. officinalis* were higher than non-AM plants. In conclusion, AMF-mediated induction of antioxidant system could improve the resistance of *M. officinalis* to oxidative stress under drought conditions.

**Key words:** Arbuscular mycorrhizal, Antioxidant system, Drought stress, *Melissa officinalis* L.

# بررسی کمی و کیفی ترکیبات فیتوشیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی گیاه دارویی بادرشبویه *Dracoephalum moldavical*

***محدثه شمس الدین سعید[۱]، زهره ناتوان[۲]***

[۱]استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

[۲]دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی گرایش گیاهان دارویی، دانشکده بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

Mohadesehsaid2014@uk.ac.ir

**چکیده:** بادرشبویه (*dracocephalum moldavica*) گیاه دارویی متعلق به خانواده نعناعیان می باشد که دارای خواص درمانی است که در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرد. این آزمایش به منظور بررسی کمی و کیفی ترکیبات فیتوشیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی گیاه دارویی بادرشبویه از سرشاخه های گلدار انجام گرفت. پس از تهیه عصاره آبی و هیدروالکلی، آزمون های کیفی بررسی فیتوشیمیایی با تغییر رنگ عصاره و بررسی کمی فیتوشیمیایی با دستگاه اسپکتو فتومتری UV-Vis انجام شد و نتایج کیفی این تحقیق حضور ترکیبات تانن،کاتشن، ساپونین، فلاونویید را نشان داد. در بررسی کمی نیز میانگین فنل کل به روش فولین–سیکالتو و تانن به ترتیب مقادیر۰/۰٤٤۸ ,٦۱٤,۳٥ میلی گرم بر گرم ماده خشک به دست آمد. هر چند انجام این آزمایشات به عنوان شناسایی مقدماتی ترکیبات ثانویه مناسب می باشد ولیکن تنها راه را برای تحقیقات بیشتر باز می کند و پیشنهاد می شود برای ادامه تحقیقات از تکنیک های مختلف کروماتوگرافی وغیره استفاده گردد.

**کلمات کلیدی:** فنل، فلاونویید، آنتی اکسیدان، فیتوشیمی.

**مقدمه:** گیاه دارویی بادرشبویه با نام علمی *Dracoephlum moldavica* L و نامهای فارسی بادرشبی، بادرشبو، بادرشبویه و شارا مرزه (٥) گیاه علفی است (٦). این گیاه دارای گلهای شهدآور و اندام های هوایی اسانس دار است (۷). این گیاه بومی آسیای مرکزی می باشد و در مرکز و شرق اروپا اهلی شده است (۸). جنس Dracocephalum شامل۱۸٦ گونه می باشد که ۸ گونه از آن در ایران می روید (۹) و در ایران در بخش های شمال کشور به ویژه در کوه های البرز یافت می شود که جزء گیاهان داروئی مهم به شمار می رود (۱). بادرشبو به عنوان یک گیاه آرامش بخش و اشتهاآور مطرح است و بیشتر در طب به عنوان التیام دهنده زخم و جراحت مورد استفاده قرار میگیرد. اسانس بادرشبو خاصیت ضد باکتریایی دارد و از آن برای مداوای دل درد و نفخ شکم استفاده می شود (۲). بادرشبو در صنایع مختلف مانند صنایع غذایی، نوشابه سازی،آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار می گیرد (۱۰). به عصاره آبی بادرشبو خواص آنتی اکسیدانی نسبت داده می شود (۲) .

علی رغم وجود آنتی اکسیدان های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال های آزاد نمی باشد لذا به منابع خارجی نیاز دارد که از طریق غذا تامین می گردد. شواهد زیادی مبنی بر سمی بودن و اثرات سوءتغذیه ای آنتی اکسیدانهای ساختگی اضافه شده به غذا مانند (BHA) و (BHT) وجود دارد (٦). نظر به اینکه گیاهان یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان ها بوده و باعث حفاظت از آسیب اکسیداتیو می شوند، تحقیقات در این زمینه افزایش یافته است (٦).آنتی اکسیدانهای طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدانهای پلاسما و کاهش ابتلا به بیماریها مانند سرطان،آلزایمر و سکته مغزی می شوند. هدف

از این تحقیق شناسایی ترکیبات کمی و کیفی فیتوشیمیایی تشکیل دهنده گیاه دارویی بادرشبو، سنجش متابولیتهای ثانویه و بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره این گیاه می باشد.

**مواد و روش**

در پاییز سال ۱۳۹۸ سرشاخه های گلدار گیاه بادرشبو از مراکز فروش معتبر گیاهان دارویی تهیه شدند. بعد از تهیه نمونه، به منظورایجاد عصاره های الکی و آبی همگن تر و جداسازی بهتر ترکیبات، گیاه بادرشبو درون آسیاب خرد شد. برای تهیه عصاره آب، مقدار ۱۰گرم از پودر خشک گیاه را در۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته و به مدت ۱۲ ساعت شیک و در نهایت توسط محلول حاصل را توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید و برای تهیه عصاره هیدروالکی ۰,۰۵ گرم از نمونه گیاهی توسط حلال هیدروالکلی (اتانول ۲۰ : ۸۰) به مدت ٦ ساعت شیک و درنهایت محلول بدست آمده را توسط کاغذ صافی، صاف گردیدند و برای اندازه گیری ترکیبات فنلی و تانن استفاده شدند (۱ و ٤).

**بررسی فیتوشیمیایی**

**آنالیز کیفی ترکیبات ثانویه گیاه**: برای ارزیابی حضور تانن در بادرشبویه کلرید آهن ۰/۱ درصدی استفاده گردید و ایجاد رنگهای سبز مایل به قهوه ای (خرمایی) و آبی تیره به ترتیب نشان دهنده حضور کاتشین تانن ها و پیروگالل تانن می باشد. در ارزیابی کیفی ساپونین از آزمون کف کنندگی استفاده گردید. ایجاد امولسیون (قطرات چربی در آب) و کف ثابت، نشان دهنده حضور ساپونین در عصاره گیاه می باشد. در سنجش فلاونوئید از محلول آمونیاک ۱٪ استفاده گردید. رنگ زرد نشان دهنده حضور ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره می باشد (۱و ٤).

**آنالیز کمی ترکیبات ثانوی گیاه:** تانن: برای این منظور ابتدا محلولهای استاندارد ۲۵ تا ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر تانیک اسید تهیه شد. به ۳ میلی لیتر عصاره گیاه و محلول های استاندارد ۱ میلی لیتر از کل مخلوط فریک کلرید III ۰/۱ مولار) در ۰/۱ نرمال HCL و پتاسیم فری سیانید (۰/۰۰۸ مولار) اضافه گردید. در نهایت بعد از گذشت ۱۰ دقیقه جذب محلول های استاندارد و نمونه در طول موج ۳۹۵ نانومتر در مقابل بلانک با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت نموده و بر حسب mgTAEg-1DW گزارش گردید (۱و ٤).

فنل کل: برای این منظور ابتدا محلول های استاندارد ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید تهیه شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی و استانداردها به ۷/۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین – سیکالتو به آن افزوده گردید. پس از مدت ۸ دقیقه ۱/۵ میلی لیتر سدیم کربنات اشباع (۲۰ درصد) به محلولهای فوق اضافه نموده و سپس نمونه ها را برای مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار می دهیم. در نهایت جذب محلول های استاندارد و نمونه را در مقابل بلانک در طول موج ۷٦۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت نموده و بر حسب mgGAEg-1DW گزارش گردید (۱و ٤).

نتایج

نتایج سنجش آزمون فیتوشیمیایی، وجود متابولیتهای ثانویه تانن، ساپونین و فلاونوئید را در سرشاخه های گلدار گیاه دارویی بادرشبو به اثبات رساند (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج کیفی آزمون فیتوشیمیایی گیاه بادرشبویه

| متابولیت های ثانویه | آزمون فیتوشیمیایی | نتیجه |
|---|---|---|
| تانن | محلول کلرید آهن III | + |

| | | |
|---|---|---|
| ساپونین | آزمون کف کنندگی | + |
| فلاونوئید | محلول آمونیاک | + |

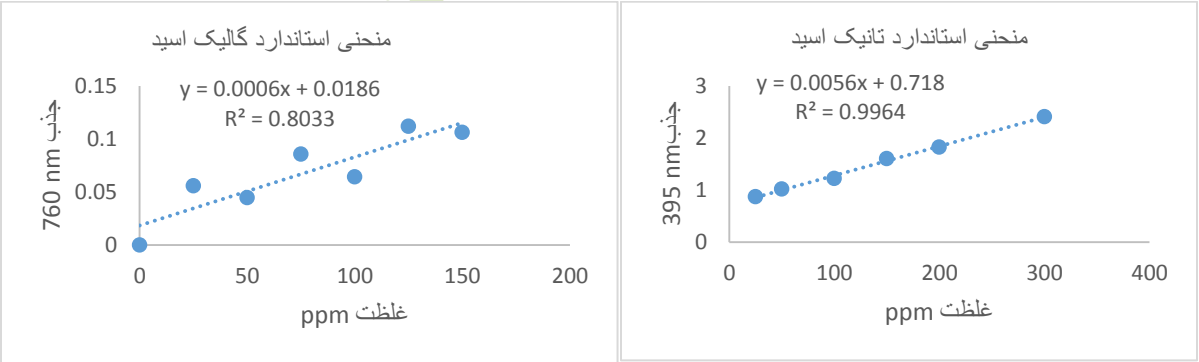
شکل ۱- آزمون تعیین ساپونین (کف کنندگی)، تانن (کاتشن با تغییر رنگ خرمایی) و فلاونوئید (تغییر رنگ زرد) به ترتیب از راست به چپ

نتایج کمی

مقادیر میانگین رگرسیون معادله خط فنل کل و تانن بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید و تانیک اسید در نمودارهای زیر مشخص شده است. مقادیر این ترکیبات در جدول شماره ۲ و شکل ۲ بر حسب (میلی گرم بر گرم ماده خشک) گزارش شد.

جهت اندازه گیری میزان فنل کل و تانن، به ترتیب غلظت های مختلف گالیک اسید و تانیک اسید در طول موج های ۷۶۰ نانومتر و ۳۹۵ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با در دست داشتن غلظت های مختلف گالیک اسید و تانیک اسید و جذب هر کدام از غلظتها، رسم و معادله منحنی استانداردها بدست آمد. جذب به دست آمده از هر نمونه، در معادله منحنی استاندارد قرار داده شد و مقادیر این ترکیبات در جدول شماره ۲ بر حسب mg.g-1DW بدست آمد.

جدول ۲: نتایج کمی ترکیبات فیتوشیمیایی بذر گیاه بادرشبو بر حسب mg.g-1DW




**جدول ۲: نتایج کمی ترکیبات فیتوشیمیایی بذر گیاه بادرشبو بر حسب $mg.g^{-1}DW$**

| ترکیبات | روش تشکیل کمپلکس بر اساس | میانگین رگرسیون معادله خط | میانگین ترکیبات | طول موج اندازه گیری (nm) |
|---|---|---|---|---|
| فنل کل | گالیک اسید | 0.803 | 0.0448 | 765 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| تانن | تانیک اسید | 0.996 | 614.35 | 395 |

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که گیاه بادرشبو دارای مقادیر بالایی از انواع ترکیبات طبیعی آنتی اکسیدان از جمله فنل ها و فلاونوئید ها می باشد که ترکیبات فنلی به دلیل خواص آنتی اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم گیاه محسوب می شوند و می تواند جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدانهای ساختگی باشد. نتایج این تحقیق در مورد این گیاه تاییدی است بر مصارف سنتی و داروئی آن و می توان با مطالعات بیشتر فیتوشیمیایی ترکیبات موثری از عصاره های مختلف این جنس خالص سازی کرد. برای استفاده عملی از خواص آنتی اکسیدانی این قبیل گیاهان در زمینه های مختلف باید تحقیقات بیشتری در زمینه ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی در مدل های غذایی انجام شود.

منابع

دوازده امامی، س. سفید کن،ف.جهانسوز،م.ر.مظاهری،د.۱۳۸۷. مقایسه عملکرد بیولوژیکی، عملکرد کیفی اسانس و مراحل فنولوژیکی در کشت پاییزه ،بهاره و تابستانه بادرشبویه.فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان داروئی و معطر ایران. جلد ۲٤، شماره ۳ صفحه ۲٦۳-۲۷۰.

عباسپور، ح. رضایی،ح.۱۳۹۳.اثر جیبرلیک بر سرعت واکنش هیل،رنگیزه های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشبو در شرایط تنش خشکی.مجله پژوهشهای گیاهی. جلد ۲۷.شماره۵.

مجاب،ف.روستائیان،ع.ح.و خلیقی سیگارووردی،ف.۱۳۸۱.بررسی اندام هوایی گیاه بادرشبو. فصلنامه گیاهان دارویی .شماره٤. صفحه ٦۹-۷۳

آرودی،م.قربانعلی،م.احمدی گلسفیدی،م.۱۳۹۰.بررسی فیتوشیمیایی سرشاخه های هوایی گیاه داروئی *Stachys byzantonkoch* در شمال ایران.فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی .شماره پیاپی ۲۲. سال ششم ۲.

مظفریان،و.۱۳۸۲.فرهنگ نامهای گیاهان ایران . انتشارات فرهنگ معاصر.تهران.صفحه ۳٦۲

مهربانی،م. روح اللهی،س. فرومدی،ع.ر.۱۳۸٤.بررسی فیتوشیمیایی گیاه بادرشبو. فصلنامه گیاهان داروئی.

Dastmalchi, K., Dorman, HD., Koşar, M. and Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (Dracocephalum moldavica L.) extract. LWT-Food Science and Technology. 40(2): 239-248 .

Kamalizadeh, M., Bihamta, M.R., Peyghambari, SA. and Hadian, J. (2015). The effect of different levels of titanium dioxide nanoparticle on production of two major phenolic compounds in dragonhead herb (Dracocephalum moldavica L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 31(3): 428-435.

Mafakheri, S., Omidbaigi, R., Sefidkon, F. and Rejali, and Couto, R.O., (2017). Engineering spray-dried F., 2012. Influence of biofertilizers on the essential rosemary extracts with improved physicomechanical oil content and constituents of Dracocephalum properties: a design of experiments issue. Revista moldavica L. Journal of Essential Oil Bearing Brasileira de Farmacognosia. 27(2): 236-244.

.Rashedi, H., Amiri, H., Gharezi, A.( 2015). Assessment of phytochemical and antioxidant properties of the Capparis spinosa L. in Khuzestan province. Journal of Qazvin University Medicinal Studies. 18(6):11-17

# Quantitative and qualitative study of phytochemical compounds and antioxidant properties of herbal medicinal plant Moldavical dracoephalum

***Mohadeseh Shamsaddin Saied*, *Zohre Natavan***

*1 Assistant Professor, Department of Plant Production, Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman.*

*2 Master of Horticulture student majoring in Medicinal Plants, Bardsir University, Shahid Bahonar University of Kerman.*

**Abstract**: Dracocephalum (dracocephalum moldavica) is a medicinal plant belonging to the mint family that has healing properties that are used in traditional medicine. This experiment was performed to evaluate the quantity and quality of phytochemical compounds and antioxidant properties of herbaceous medicinal plant from flowering branches. After preparation of aqueous and hydroalcoholic extracts, qualitative tests were performed by phytochemical analysis by changing the color of the extract and quantitative phytochemical analysis was performed by UV-Vis spectrophotometry. In quantitative analysis, the mean of total phenol by folin-cicalto and tannin methods were 0.048, 614.35 mg / g dry matter, respectively. Although performing these experiments is suitable as a preliminary identification of secondary compounds, but it only opens the way for further research and it is suggested to use different chromatographic techniques and so on to continue the research.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# ارزیابی آنتی اکسیدان چند دانه ی گیاه مورد مصرف در طب سنتی ایران

***نویسنده: سمیرا جها ن تیغ***

*آدرس:استان سیستان و بلوچستان،زاهدان،زیباشهر،خیابان وصال شیرازی،پلاک ۲۰۵*

**پست الکترونیک:www.sm.jahantigh1991@gmail.com**

**چکیده:**

موضوع رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن و اثرات آنها بر سیستم های بیولوژیک، یکی از مباحث مهم و مطرح در پزشکی است . این عوامل می توانند به طور برگشت ناپذیر به مولکول های حیاتی نظیر اسید های نوکلئیک، پروتئین ها، لیپید ها و لیپوپروتئین ها آسیب وارد نمایند. آنتی اکسیدان ها قادرند سیستم های بیولوژیک را در برابر این عوامل محافظت نمایند. برخی از گیاهان دارویی حاوی مقادیر بالایی از آنتی اکسیدان هستند که مصرف این گیاهان می تواند در سلامتی انسان موثر باشد . هدف از این مطالعه ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی تعدادی از گیاهان دارویی ایران می باشد.

**کلید واژگان:** آنتی اکسیدان، دانه های گیاهی، لینولئیک اسید

مقدمه:

در سال های اخیر ثابت شده است که رادیکال های آزاد با منشاء داخلی یا خارجیاز مهم ترین عوامل بروز شرایط پاتولوژیک در بیماری التهابی، دیابت ملیتوس، آترواسکلروز، ایسکمی قلبی و مغزی، سرطان ،نقص ایمنی و پیری در انسان می باشند. طبق مطالعات انجام شده یکی از مواد مغذی که می تواند در درمان و یا پیشگیری از بیماری های مزمن مانند دیابت نوع دو، چاقی، بیماری های قلبی عروقی و سندروم متابولیک نقش داشته باشد، لینولئیک اسید کنژوگه می باشد. لینولئیک اسید کنژوگه گروهی از اسید های چرب با دو باند دوگانه در موقعیت های ۹و ۱۱، ۱۰ و ۱۲، ۱۱ و ۱۳ ، ۸ و ۱۱ ، ۷ و ۹ ، می باشد که به صورت سیس و یا ترانس قرار دارند و در چربی حیوانی و لبنیات وجود دارد. لینولئیک اسید اولین بار به عنوان یک عامل ضد سرطان شناخته شد، اما به تازگی اثرات مفید بسیاری برای آن بیان شده است. بیشتر اثرات مفید لینولئیک اسید کنژوگه به ایزومر ۱۰ ترانس ۱۲ سیس ۹ سیس ۱۱ ترانس نسبت داده می شود.

آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که با غلظت کم در مقایسه با سوبسترا به طور قابل ملاحظه ای باعث کاهش سرعت واکنش های اکسیداتیو با مکانیزم های مختلف می گردند Maxwell SRJدر این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدان عصاره چند دانه گیاهی مورد مصرف در طب سنتی از طریق مهار پراکسیدسیون لینولئیک اسید مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش

مواد گیاهی :تعداد چند دانه ی گیاهی که به طور معمول در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرد از فروشگاه های گیاهان دارویی خریداری و توسط بخش هرباریوم گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی شناسایی شده اند.

مواد شیمیای: یلینولئیک اسید معرف ۱و۳–دی اتیل ۲–تیوباربیتوریک اسید (DETBA) تهیه شدند. سدیم دو دسیل سولفات (SDS) و بوتیلیته هیدروکسی تولوئن (BHT) خریداری شدند. کلیه مواد و حلال های مورد استفاده دیگر از خلوص بالا برخوردار بودند و از شرکت Merck خریداری شدند.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدان: جهت ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدان عصاره های تهیه شده از روش پراکسیداسیون لینولئیک اسید و سنجش محصولات اکسیداسیون با استفاده از معرف ۱و۳–دی اتیل ۲–تیوباربیتوریک اسد استفاده شد.

برای انجام واکنش مقدار بیست میکرو لیتر از محلول عصاره ی گیاه (با غلظت های ۰/۰۲–۲۰mg/ml) را در یک لوله ی آزمایشگاه ریخته مقدار ۲۰ میکرو لیتر محلول لینولئیک اسید (۲mg/ml در اتانول مطلق ) اضافه کرده و به مدت ۱۰ ثانیه با ورتکس به هم زده شد. مخلوط حاصل در انکوباتور ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد و سپس مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر محلول ۲۰BHT میکرو لیتر محلول ۱/۶SDS ml بافر فسفات ( PH=3و ۰/۱۲۵ M) اضافه شد.

نتایج

میزان فعالیت آنتی اکسیدان عصاره دانه های گیاهی مورد بررسی طبق روش ذکر شده در بخش قبل بر حسب درصد مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید محاسبه و مقدار IC50 برای هر یک از عصاره ی دانه ها تعیین گردید. نتایج در جدول شماره ۱ آورده شده است. همان گونه که در این جدول دیده می شود، میزان درصد مهارکنندگی اکسیداسیون لینولئیک تقریبا در تمامی دانه های گیاهی بررسی شده با استفاده از ۴۰ میکرو گرم از عصاره بیشتر از ۹۶ درصد می باشد. در غلظت پایین تر فعالیت مهارکنندگی متفاوت بوده ولی به طور کلی با افزایش غلظت میزان درصد مهارکننده نیز افزایش نشان می دهد.

**جدول شماره ۱– نام فارسی، نام علمی و میزان IC50 عصاره ی دانه گیاه در مقابل ۴۰ میکروگرم لینولئیک اسید**

| نام گیاه | نام علمی گیاه | درصد مهار اکسیداسیون | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ۴۰ میلی گرم Mean±SD | ۴ میکروگرم mean±SD | ۰/۴ میکروگرم mean±SD |
| اسفرزه | Plantago ovata forsk | ۰/۹۹۴۵/۲۴± | ۳۷±۲/۱۴ | ___ 5/06 ± 0/13 |
| انیسون | Pimpinella anisum L | 96/21 ± 0/62 | 49/56 ± 3/90 | 20/09 ± 3/80 4/05 ± 0/02 |
| بارهنگ | Plantago major L | 99/71 ± 0/31 | 93/27 ± 1/69 | 6/43 ± 1/38 0/67 ± 0/06 |
| ریحان | Ocimum basilicum L | 98/73 ± 0/38 | 67/61 ± 0/58 | 15/52 ± 1/31 1/88 ± 0/07 |
| جوزهندی | Myristica fragranse Houtz | 104/39 ± 1/64 | 98/07 ± 0/49 | 50/89 ± 1/08 0/29 ± 0/01 |
| خاکشیر | Descureania sophia | 97/04 ± 0/91 | 94/93 ± 1/21 | 4/15 ± 1/06 0/93 ± 0/03 |
| خرفه | Portulacacea oleracea | 99/14 ± 0/07 | 81/56 ± 2/38 | 61/12 ± 3/41 0/47 ± 0/06 |
| خشخاش | Papaver somniferum l | 98/88 ± 0/23 | 65/84 ± 1/78 | 14/57 ± 2/56 1/99 ± 0/04 |
| خیار | Cucumis sativus l | 99/23 ± 0/44 | 95/68 ± 0/85 | 91/03 ± 2/53 0/05 ± 0 |
| رازیانه | Foeniculum vulgare mill | 103/42 ± 0/72 | 94/38 ± 0/85 | 54/25 ± 2/64 0/32 ± 0/02 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| زنیان | Trachyspermum copticum(l) | 102/08 ± 3/30 | 99/18 ± 0/20 | 26/63 ± 1/05 | 0/56 ± 0/01 |
| زیره سبز | Cuminum cyminum l | 101/42 ± 3/36 | 87/47 ± 0/97 | 66/06 ± 2/21 | 0/23 ± 0/01 |
| زیره کرمانی | Bunium persicum b. fedtsch | 99/34 ± 0/57 | 57/47 ± 3/75 | _____ | 3/29 ± 0/05 |

## منابع

1.noguchi n; niki f phenolic antioxidants: a rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis . free rad . boil. Med. 2000;28:1538-46
Young is. Woodside jv. Antioxidants in health and disease . j. clin. Pathol. 2001;54:179-86
Halliwell b . the Antioxidant paradox . lanced . 2000;355:1179-80
Maxwell srj. Prospects for the use of antioxidant therapies.drugs.1995;49:345-61
Aminot-gilchrist dv; Anderson hd . insulim resistance associated cardiovascular disease : potential benefits of conjugated linoleic acid . amj clin nutr 2004 ; 79:1159s-63s
Lamarche b; desroches s . metabolic syndrome and effects of conjugated linoleic acid in obesity and lipoprotein disorders the Quebec experience amj clin nutr 2004 ; 79: 1149s-52s

## Evaluation of multi-seed plant antioxidants used in traditional Iranian medicine

**Abstract**
Background and Aim: The issue of free radicals and reactive oxygen species and their effects on biological systems is one of the most important topics in medicine. These factors can irreversibly damage vital molecules such as nucleic acids, proteins, lipids, and lipoproteins. Antioxidants are not able to protect biological systems against these factors. Some medicinal plants contain high amounts of antioxidants that can be effective in human health. The aim of this study was to evaluate the antioxidant properties of a number of Iranian medicinal plants.

**Key Words**: Antioxidants, plant seeds, linoleic acid

# بررسی اثر گلیسرول بر سنتز لیپید در جلبک سبزِ *Dunaliella salina*

*نرگس شریفیان، منصور شریعتی*

**آدرس**: اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم زیستی و فناوری، گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری

Nsharifian71@gmail.com *

**چکیده**: *Dunaliella* یک جلبک سبز تک سلولی مقاوم به شوری و فاقد دیواره سلولی است، از این رو در مطالعات فیزیولوژیکی از اهمیت بالایی برخوردار است. جلبک ها منابع غنی لیپیدها هستند و برخی از اسیدهای چرب حاصل از آنها را می توان برای تولید بیودیزل استفاده کرد که آلودگی کمتری نسبت به سوخت های فسیلی دارند. در این تحقیق اثر ۱۰،۲۰،۴۰،۶۰و۸۰ گرم بر لیتر گلیسرول به مدت دو هفته در سه تکرار بر نرخ رشد، بتاکاروتن کل، لیپید کل و تغییرات اسید چرب اسیداولئیک بررسی گردید. بیشترین میزان تولید لیپید مربوط به غلظت ۲۰گرم بر لیتر گلیسرول است. در طول مدت هفت روز با افزایش تولید بتاکاروتن، میزان تولید لیپیدها نیز افزایش یافت، این امر به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بتاکاروتن است که از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می کند. همچنین استفاده از ۲۰گرم بر لیتر گلیسرول، باعث افزایش سریع تولید اسید اولئیک شد. اسید اولئیک اصلی ترین اسید چرب موجود در گلبول های کاروتن است که می تواند رابطه فشرده بین اسید اولئیک و محتوای کاروتن در طول سازگاری با شرایط استرس را توضیح دهد .

**کلمات کلیدی**: دونه لیه لا، گلیسرول، لیپید، اسیداولئیک، بتاکاروتن، آنتی اکسیدان

**مقدمه**

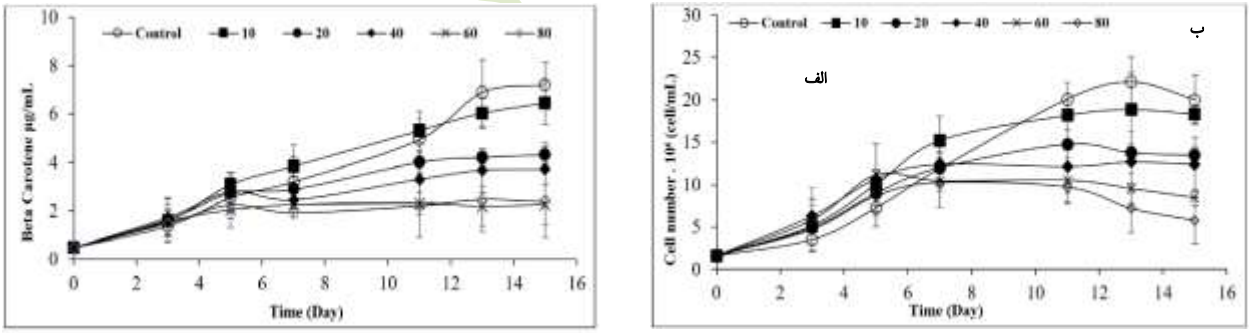
به دلیل افزایش تقاضای جهانی انرژی، بسیاری از کشورها استفاده ازاشکال مختلف انرژی تجدید پذیر راآغاز کرده اند، چرا که از نگرانی های سراسر جهان، کاهش سوخت های فسیلی و از طرف دیگر افزایش گازهای گلخانه ای می‌باشد. امروزه از محصولات کشاورزی برای تولید سوخت زیستی استفاده می‌شود که ممکن است با غذای انسان رقابت کند(Lang et al 2001). به این ترتیب جستجو برای یک ماده خام بهتر یکی از اهداف اصلی محققان می‌باشد. ریزجلبک ها میکروارگانیسم های فتوسنتزی هستند که نورخورشید، آب و دی اکسید کربن را در جهت تولید بیوماس، لیپید و سایر ترکیبات با ارزش از جمله بتاکاروتن به کار می‌گیرند. کشت ریزجلبک ها با بالاترین بازده فتوسنتزی و نیازهای تغذیه ای محدود، به مناطق وسیع کشت احتیاج نداشته، از طرفی ریز جلبک ها دارای رشد و سیکل تولید مثل سریع می باشند(Ngangkham et al 2012). طی سال های اخیر تحقیقات قابل ملاحظه ای برای استفاده از میکروجلبک ها به عنوان غذا و دارو از جمله دونه لیه لا صورت گرفته است. این جلبک به دلیل ذخیره بالایی از بتاکاروتن از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت می‌باشد(Raja et al 2007). بتاکاروتن یک رنگدانه ترپنوئیدی است که با استفاده از آن به عنوان پیش ماده ویتامین A و داشتن خصوصیات ضداکسیدانی و ضدسرطانی و دفع رادیکال های آزاد در درمان بعضی از بیماری های با ارزش می‌باشد(Raja et al 2007; Gomez et al 2003; Goldbohm and Poppel 1995).

## مواد و روش‌ها

دراین تحقیق،جهت انجام آزمایشات از جلبک *D. salina* سویه UTEX-۲۰۰ از کلکسیون دانشگاه تگزاس امریکا استفاده شد. محیط کشت جلبک مطابق روش جانسون (Johnson et al 1968) تغییر یافته (Lilley and Shariati ۱۹۹٤) تهیه و pH محیط کشت در محدوده ی ۷/۵–۷ تنظیم گردید. سوسپانسیون جلبکی به محیط کشت استریل شده اضافه گردید و در دمای ۲٦درجه سانتیگراد و در فتوپریود ۱٦ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی برروی شیکر با چرخش ۱۱۰ دور در دقیقه قرار داده شد. شمارش سلولی از طریق هموسایتومتری و با استفاده از فرمول اندازه گیری گردید. مقدار بتاکاروتن از طریق استخراج با استون و روش اسپکتروفتومتری با استفاده از فرمول اندازه گیری شد. استخراج لیپید طبق روش اصلاح شده Blight و Dyer و روش تک مرحله ای بکار برده شده توسط Axelsson و Gentili انجام پذیرفت. به منظور جداسازی و اندازه گیری اسیدهای چرب از نمونه لیپیدی جلبک، روش کروماتوگرافی گازی (GC) به کار برده شد. ابتدا با هدف کاهش نقطه جوش اسیدهای چرب، متیل استر اسیدهای چرب تهیه گردید و جهت آنالیز GC به کار برده شد.

## نتایج

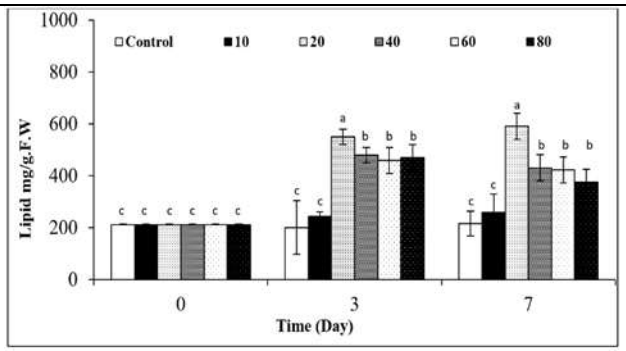
شکل ۱–الف اثر غلظت های مختلف گلیسرول را بر میزان رشد سلولی نشان می دهد. با افزایش غلظت گلیسرول در محیط میزان رشد کاهش یافت. غلظت ۱۰ گرم در لیتر تفاوت معنی داری با شاهد نشان نداد. با توجه به نتایج غلظت موثره گلیسرول بر جلبک سبز دونه لیه لا پس از اعمال غلظت های مختلف ۲۰ گرم در لیتر گلیسرول تشخیص داده شد. از طرفی بیشترین مقدار بتاکاروتن(شکل ۱–ب)، در غلظت ۱۰ گرم در لیتر گلیسرول به دست آمد.



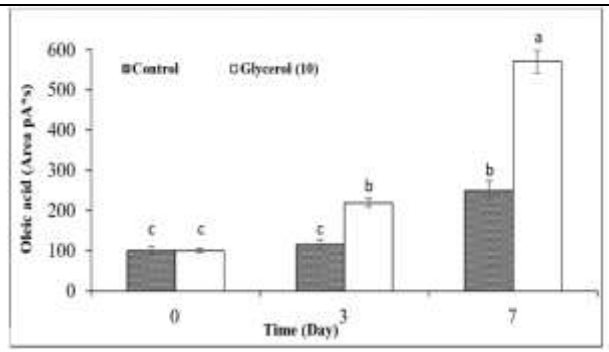

شکل ۱ – الف اثر غلظت های مختلف گلیسرول را بر میزان رشد سلولی.

زمانی که اثر غلظت های مختلف گلیسرول بر میزان لیپید، طی روز های ۳و۷ در قیاس با زمان شروع آزمایش بررسی گردید (شکل ۲) نتایج حاکی از آن بود که بیشترین مقدار لیپید در تیمار ۲۰ گرم بر لیتر گلیسرول می باشد و با افزایش میزان غلظت

گلیسرول میزان لیپید در قیاس با ۲۰ گرم بر لیتر کاهش می یابد. همچنین بیشترین میزان اولئیک اسید در تیمار۲۰ گرم بر لیتر گلیسرول در ۷ روز پس از شروع آزمایش به دست آمد(شکل ۳).




شکل ۲- تاثیرغلظت های مختلف گلیسرول بر مقدار لیپید




شکل ۳- تاثیرغلظت ۲۰ گرم در لیتر گلیسرول بر مقدار اولئیک اسید

**بحث**

برخی از میکروجلبک ها دارای منابع با ارزشی همچون آنتی اکسیدان ها و لیپید هاهستند. با افزایش غلظت گلیسرول، روند رشد سلولی و میزان بتاکاروتن کاهش می‌یابد و میزان تولید لیپید نسبت به نمونه شاهد افزایش میابد. استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث تجزیه پروتئین ها، پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب و مرگ سلولی گردد(Katoch et al 2002). تولید لیپید و بتاکاروتن فرآیندهای مرتبط با هم هستند و در زمان تولید بالای بتاکاروتن آنزیم کلیدی سنتز لیپید(استیل کوآکربوکسیلاز) افزایش می‌یابد. تولید لیپید تا غلظت ۲۰ گرم بر لیتر افزایش می‌یابد. همچنین در این غلظت تولید بتاکاروتن افزایش می‌یابد، تجمع لیپید ها به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بتاکاروتن ها و افزایش آنزیم استیل کوآکربوکسیلاز در اثر افزایش میزان بتاکاروتن است اما در غلظت های بالاتر به دلیل اختلال در متابولیسم سلول و افزایش رادیکال های آزاد، بتاکاروتن نمی‌تواند با اثرات ناشی از گونه های فعال اکسیژن مقابله کند و تولید لیپید نیز کاهش می‌یابد.

**فهرست منابع:**

Gomez/P. I., Barriga/A., Cifuentes/A. S., & Gonzalez/M. A. (2003). Effect of salinity on the quantity and quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-007) and *Dunaliella bardawil* (strain ATCC 30861) *Chlorophyta*. Biological Research, 36(2):185-192.

Johnson/M. K., Johnson/E. J., Mc Elroy/R. D., Speer/H. L., and Bruff/B. S. (1968). Effects of salts on the halophilic alga *Dunaliella viridis*. Journal of Bacteriology, 95:1461-1468.

Katoch/B., Sebastian/S., Sahdev/S., Padh/H., Hasnain/S. E., and Begum/R. (2002). Programmed cell death and its clinical implications. Indian Journal of experimental Biology, 406:513-524.

Lang/X., Dalai/A. K., Bakhshi/N. N., Reaney/M. J., and Hertz/P. B. (2001). Preparation and characterization of bio-diesels from various bio-oils. Bioresource Technology, 80:53-62.

Ngangkham/M., Ratha/S. K., Prasanna/R., Saxena/A. K., Dhar/D. W., Sarika/C., and Prasad/R. B. N. (2012). Biochemical modulation of growth, lipid quality and productivity in mixotrophic cultures of *Chlorella sorokiniana*. SpringerPlus, 1, 33.

Raja/R., Iswarya/S. H., Balasubramanyam/D., and Rengasamy/R. (2007). PCR-identification of Dunaliella salina (*Volvocales*, *Chlorophyta*) and its growth characteristics. Microbiological Research, 162(2):168-176.

Shariati/M., and Lilley/R. M. (1994). Loss of intracellular glycerol from *Dunaliella* by electroporation at constant osmotic pressure: subsequent restoration of glycerol content and associated volume changes. Plant, Cell & Environment, 17:1295-1304.

Van Poppel/G., and Goldbohm/R. A. (1995). Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. The American Journal of Clinical Nutrition, 62(6):1393S-1402S.

## Effect of glycerol on lipid synthesis in green alga *Dunaliella salina*

***Authors: Narges Sharifian, Mansour Shariati***

*Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Science and biotechnology, University of Isfahan*

**Abstract**: *Dunaliella* is a halotolerant unicellular green alga that lacks a cell wall, therefore is important in physiological studies. Algae are rich sources of lipids and some fatty acids can be used for biodiesel production that has less pollution than fossil fuel. In this research, the effect of, 10, 20, 40, 60 and 80 g/L of glycerol assessed for two weeks in three replications. Then the growth rate, total ß-carotene, total lipid and the changes of fatty acid, oleic acid, were measured. The highest lipid production was at the concentration of 20 g/L glycerol. During the day 3rd to day 7th, by increasing ß-carotene production, the volume of lipid is also increased, which is possible because of the antioxidant properties of beta-carotene that prevent lipid peroxidation. The results of the usage of utilization 20 g/L glycerol in the fortnight, indicates an increasing rate in the production of Oleic acid. Oleic acid is the main available fatty acid in the carotene globules which can explain the intensive relationship between oleic acid and the carotene content during the compatibility with stressed situations.

Keywords: *Dunaliella*, Glycerol, Glucose, Lipid, Oleic acid, Beta-carotene, Antioxidant

# اثر کمپوست سبز و ریزجلبک کلرلا بر پتانسیل آنتی اکسیدانی گیاه تنش خشکی لادن خوراکی در

ساسان محسن زاده* و مریم کرمی دارنجانی
*بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز*
*mohsenz@shirazu.ac.ir

**چکیده**

مصرف کمپوست به دلیل رهاسازی عناصر غذایی و افزایش جذب آب سبب افزایش رشد گیاهان می‌شود. ریزجلبک کلرلا در آب‌های شیرین و نمکی پیدا می‌شود. گیاه لادن خوراکی (*Tropaeolum majus*) برای سالاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آزمایش در ٥٤ گلدان انجام گردید. ترکیبات فنلی گیاه با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH تعیین شدند. در شرایط خشکی شدید افزایش معنی داری در ترکیبات فنولی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. کمپوست سبز اثر معنی داری بر انتی اکسیدان نداشت. تیمارهای ریزجلبک در شرایط بدون تنش و با تنش خشکی باعث افزایش معنی دار آنتی اکسیدان شدند. بنابراین کود جلبکی در شرایط شاهد و تنش می تواند برای افزایش انتی اکسیدان گیاه لادن خوراکی استفاده شود.

کلمات کلیدی: کمپوست سبز، کلرلا، آنتی اکسیدان، گیاه لادن، تنش خشکی

**مقدمه**

مصرف کمپوست به دلیل رهاسازی مداوم عناصر غذایی و افزایش کارایی گیاه در استفاده از آب سبب افزایش رشد و کارایی گیاهان می‌شود. از آن‌جا که کمپوست دارای میزان زیادی موادآلی و عناصرغذایی است، احتمال می‌رود مصرف آن برای تولید هرنوع گیاه زراعی و باغی مفید باشد. گزارش شده است گیاهانی که با استفاده ازکمپوست تولید می‌شوند، از لحاظ کمیت وکیفیت بسیار چشمگیر می‌باشند. بکارگیری از آن‌ها فوایدی همچون اصلاح ساختمان فیزیکی خاک، کاهش آب‌شویی و ازبین رفتن عناصر غذایی از خاک، آزادسازی تدریجی عناصر غذایی و افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک را به دنبال دارد (Mohsenzadeh and ZamanpourShahmansouri, 2019). کمپوست سبز از زباله‌های باغ، پوست میوه، تراشه های چوبی و مواد زائد صنایع خمیر، ضایعات کشاورزی و میدان میوه و تره بار تولید می‌شود. کلرلا Chlorella متعلق به خانواده Chlorellaceae است. کلرلا در آب‌های شیرین و نمکی پیدا می‌شود (Wu et al., 2014) . خشکی متداول‌ترین تنش محیطی است که تقریبا موجب محدودیت تولید در ۲۵ درصد اراضی دنیا شده است. به همین دلیل پراکنش گیاهان درتمام دنیا تا حدود زیادی تحت تاثیر میزان آب است. بنابراین ازبین عوامل محیطی تنش‌زا، خشکی دومین عامل اصلی کاهش عملکرد بعد از عوامل بیماری زا به شمار می‌آید. حدود یک سوم اراضی جهان با کمبود بارندگی مواجه هستند عدم بارندگی کافی و توزیع ناهمگون آن در طول فصل رشد در مناطق خشک و نیمه خشک مانند ایران سبب شده که نیاز آبی گیاهان به اندازه کافی تامین نشود و این مسئله باعث کاهش تولیدات کشاورزی می‌گردد (Abdul Jaleel et al., 2009). ایران با متوسط بارندگی ۲۵۰ میلی‌متر در سال جزء مناطق خشک جهان رده‌بندی می‌شود. گیاه لادن خوراکی (*Tropaeolum majus*) یک گونه از گیاهان گلدار از خانواده Tropaeolaceae

است. منشاء آن درآند از شمال بولیوی تا کلمبیا است. گیاه سالانه ای که به راحتی رشد می‌کند و دارای برگ‌هایی به شکل دیسک وگل‌های درخشان نارنجی یا قرمز است. تمام قسمت‌های *T. majus* خوراکی هستند. این گیاه به طور گسترده ای، برای مصارف زینتی و دارویی کشت میشود.هم برگ و هم گل این گیاه خوراکی هستند گل اغلب به عنوان یک عنصر زینتی برای سالاد مورد استفاده قرار می‌گیرد(Garzón and Wrolstad, 2009) . گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد OH به طور معمول در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند وموجب تخریب کلروفیل، پروتئین، DNA، لیپیدها و سایر ماکرومولکول‌های مهم می‌گردد که به شدت سوخت ساز گیاهی و رشد وعملکرد آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان نشان داده است که به طور بسیار کارآمدی، اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن رابرطرف می‌نماید .مطالعات فراوانی حاکی از افزایش تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS) تحت تنش خشکی گزارش شده است. گیاهان از طریق سازوکارهای آنتی اکسیدانی آنریمی و غیرآنریمی گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده را کاهش می‌دهند تجمع گونه های فعال اکسیژن در سلول موجب آسیب رساندن به لیپیدهای غشاء، پروتئین ها واسیدهای نوکلئیک می‌شود.در طی فتوسنتز تحت وضعیت کم آبی، نشت بالای الکترون به سمت $O_2$ اتفاق می‌افتد وانواع مختلف ROS نظیر سوپراکسید، پراکسیدهیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن تولید می‌کند. گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه های فعال اکسیژن،سازوکارهای آنتی اکسیدانی آنزیمی وغیر آنزیمی دارند. آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) مهم ترین آنزیمی است که رادیکال سوپراکسید را منهدم می‌سازد و $H_2O_2$ و $O_2$ تولید می‌نماید. سپس $H_2O_2$ تولید شده توسط آنزیم کاتالاز وانواع مختلفی از پراکسیداز حذف می-گرددر بین ترکیبات غیر آنزیمی،ترکیبات آبدوست همانند آسکوربات و ترکیبات چربی دوست، همانند توکوفرول‌ها و کارتنوئید-ها قابلیت از بین بردن ROS ها را دارند. فنل‌ها گروه بزرگی از ترکیبات آنتی اکسیدانی را تشکیل می‌دهند که می‌توان آن‌ها را به پنج زیر گروه شامل: کومارین‌ها، لیگنین‌ها، فلاونوئیدها، فنوئیک‌اسیدها و تانن تقسیم‌بندی کرد (Hasanuzzaman, 2020).

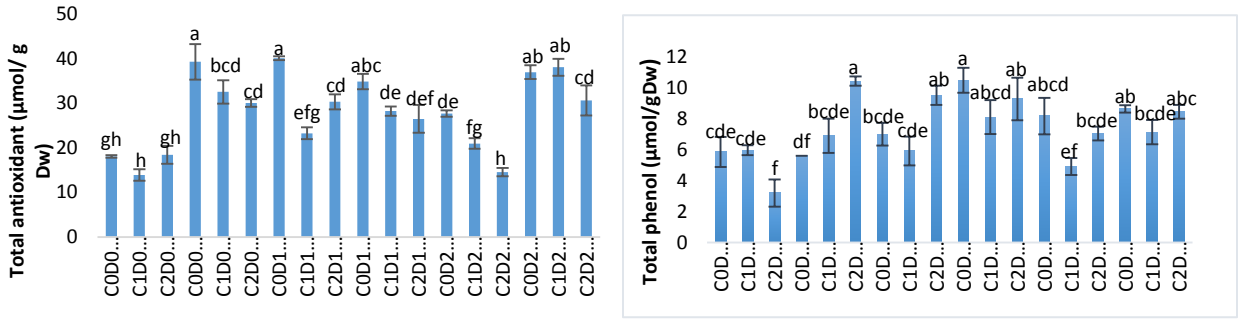
**مواد و روش ها**

این آزمایش با نهال گیاه لادن خوراکی در گلخانه تحقیقاتی بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز انجام شد. Voucher گیاه لادن خوراکی باکد (۵۵۱۰۸) در هرباریوم دانشگاه شیراز موجود است. خاک مورد استفاده از باغ گیاه شناسی ارم دانشگاه شیراز تهیه شد. همچنین محلول ریز جلبک کلرلا به میزان ۱۰۰ میلی لیتر (معادل ۳٦۸۰۰۰۰۰۰ سلول ) به گلدان‌های دارای تیمار جلبک اضافه شد. کمپوست سبز از شهرداری شیراز تهیه و از بقایای گیاهی تهیه شده بود. ریزجلبک کلرلا در محیط کشت مایع Bolds Basal کشت شد. از ٥٤ گلدان ۱۸ گلدان حاوی کمپوست سبز ۵ درصد به میزان ۱٥٦۸ گرم خاک clay loam و۰٤٤/ گرم کمپوست سبز و۰۲/گرم پرلیت را باهم مخلوط کرده وبه گلدان ها اضافه کردیم. ۱۸ گلدان حاوی کمپوست سبز ۱۰ درصد به مقدار۱٤۷٥ گرم خاک clay loam و۰۹۰/ گرم کمپوست سبز و۰۲/ گرم پرلیت را باهم مخلوط کرده وداخل گلدان می‌ریزیم. چیدمان گلدان‌ها به شیوه طرح کامل تصادفی انجام شد. آبیاری به صورت هفته‌ای ۳ بار به میزان ۱۰۰ میلی‌لیترانجام شد. گیاهچه-های لادن خوراکی در گلخانه با دمای حداقل ۱۵و حداکثر ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نور ملایم نگه‌داری شدند. بعد از گذشت تقریبا دو ماه گیاه لادن خوراکی درشرایط جدید رشد نمودند. سطح تنش خشکی ۱۰ و ۱۷ روز انتخاب گردید. ۱۸گلدان فاقد تنش خشکی بودند. ۱۸ گلدان دارای تنش کم به مدت ۱۰ روز و ۱۸ گلدان دارای تنش شدید به مدت ۱۷ روز بودند. تعیین

پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال پایدار DPPH، طبق روش توصیف شده توسط Shimada و همکاران انجام شد (Shimada *et al.*, 1992). در این روش آنتی‌اکسیدان‌های نمونه با رادیکال‌های آزاد DPPH واکنش داده و آن را کم‌رنگ یا بی‌رنگ می‌کنند که کاهش رنگ DPPH با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی نمونه رابطه مستقیمی دارد. برای انجام این آزمایش، از عصاره متانولی گیاه، متانول ۱۰۰ درصد، محلول ۰/۰۰٤ درصد DPPH در متانول و محلول استاندارد Trolox استفاده می‌شود. ترکیبات فنلی عصاره گیاهی با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu مطابق روش Kim و همکاران (۲۰۰۷) تعیین شد. محلول ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گالیک اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. در پژوهش حاضر از طرح آماری کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل استفاده شد. اعداد جذب شده با استفاده از اسپکتوفتومتر مدل spekol شرکت Analytic jena ساخت ژاپن خوانده شد. برای تجزیه و تحلیل اعداد از نرم افزار SPSS استفاده شد و در آخر برای مقایسه داده ها با درنظر گرفتن سطح معنی‌دار $p<0.05$ از آزمون Dancan استفاده شد.

## نتایج و بحث

همان گونه که درشکل ۱ اثر کود آلی کمپوست سبز، ریز جلبک کلرلا وتنش خشکی بر میزان محتوای فنولی بخش هوایی گیاه لادن خوراکی مشاهده می‌گردد، در شرایط بدون تنش خشکی تیمار (C2D0A0) باعث کاهش معنی داری در محتوای فنولی نسبت به شرایط شاهد و تیمار (C2D0A1) باعث افزایش معنی داری در محتوای فنولی نسبت به شرایط شاهد شد. درشرایط تنش خشکی ملایم (ده روزه) تمامی تیمارها باعث افزایش محتوای فنول نسبت به شاهد گردیدند ولی این افزایش درهمه سطوح معنی دار نبود. در شرایط خشکی زیاد (هفده روزه) تیمار (C0D2A1) افزایش معنی داری در محتوای فنولی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد، ولی بقیه تیمار ها تفاوت معنی داری نسبت به شرایط شاهد نداشتند. همان گونه که درشکل ۱ اثر کود آلی کمپوست سبز، ریز جلبک کلرلا وتنش خشکی بر محتوای آنتی اکسیدان بخش هوایی گیاه لادن خوراکی مشاهده می‌گردد، تیمارهای حاوی جلبک یعنی در شرایط بدون تنش باعث افزایش معنی دار محتوای آنتی اکسیدان نسبت به شرایط شاهد شد. در خشکی ملایم (ده روزه) تیمارهای (C0D1A0, C2D1A0, C0D1A1, C1D1A1, C2D1A1) باعث افزایش معنی دار محتوای آنتی اکسیدان نسبت به شرایط شاهد شد. همچنین در تنش خشکی شدید (هفده روزه) تیمارهای (C0D2A0, C0D2A1, C1D2A1, C2D2A1) باعث افزایش معنی دار محتوای آنتی اکسیدان نسبت به شرایط شاهد شد. لذا کود جلبکی در شرایط شاهد و تنش می تواند برای افزایش انتی اکسیدان گیاه لادن خوراکی استفاده شود.



شکل ۱- تاثیر کود آلی کمپوست سبز، ریز جلبک کلرلا و خشکی بر محتوای ترکیبات فنولی (سمت راست) و محتوای آنتی اکسیدان (سمت چپ) در گیاه لادن خوراکی نشان می دهد، هرعدد میانگین سه تکرار ±SE است. حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار در سطح $p<0.05$ را نشان می‌دهد. C0: کمپوست سبز صفر درصد، C1: کمپوست سبز ۵ درصد، C2: کمپوست سبز ۱۰ درصد، D0: خشکی صفر، D1: تنش خشکی ده روزه، D2: تنش خشکی هفده روزه، A0: بدون جلبک، A1: محلول جلبک کلرلای دارای ۳۶۸۰۰۰۰۰۰ سلول

## منابع

Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Wahid, A. and Farooq, M. (2009) Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. Int. J. Agric. Biol. 11(1): 100-105.

Garzón, G.A. and Wrolstad, R.E. (2009) Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). Food Chem. 114: 44-49.

Hasanuzzaman, M. (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants. *9*(8): 681-702.

Kim, Y., et al. (2007) A conserved phosphatase cascade that regulates nuclear membrane biogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 104(16): 6596-6601.

Mohsenzadeh, S. and ZamanpourShahmansouri, H. (2019) Evaluation of municipal solid waste compost and agricultural waste vermicompost by growth of *Lippia citriodora* under salinity stress. J. Environ. Sci. 4(4): 2135-2143.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura T. (1992) Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cylcodextrin emulsion. J. Agr. Food Chem. 40: 945–948.

Wu, S., Zhang, H., Yu, X., and Qiu, L. (2014) Toxicological responses of Chlorella vulgaris to dichloromethane and dichloroethane. Environ. Engineer. Sci. 31(1): 9-17.

# Effect of green compost and microalgae chlorella on antioxidant potential of *Tropaeolum majus* under drought stress

*Sasan Mohsenzadeh* * *and Maryam Karami Darenjani*

*Biology Department of Shiraz University*

*mohsenz@shirazu.ac.ir

**Abstract**

Using of compost improve growth of plants for releasing of minerals and increasing of water absorption. Microalgae chlorella find in sweet and saline waters. Garden nasturtium plant (*Tropaeolum majus*) use for salad. This experiment carried out by 54 pods. Phenolic compounds of plant using Folin-Ciocalteu reagent and antioxidant potential by DPPH method were measured. Under severity drought, phenolic compounds were increased significantly compared to control. Green compost had no significantly effect on antioxidant. Microalgae treatments increased antioxidant under drought stress and without stress conditions, significantly. So, algal fertilizer can be used under control and stress conditions for increasing of antioxidant in garden nasturtium plant.

**Keywords**: Green compost, Chlorella, Antioxidant, Garden nasturtium, Drought stress

# پاسخ‌های آنتی اکسیدانی دو رقم بومی انگور به تیمار قطع کامل آبیاری و آبیاری مجدد

*افسانه باباجمالی[۱]، مهدیه غلامی[۱*]*

*۱-گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان* Mah.gholami@iut.ac.ir*

**چکیده:**

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده هست که رشد و نمو محصولات باغبانی را به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌منظور ارزیابی پاسخ‌های آنتی اکسیدانی دو رقم انگور بومی به تنش شدید خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در شرایط گلخانه اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح تیمار خشکی (شاهد ، قطع کامل آبیاری و آبیاری مجدد پس از قطع آبیاری) و دو سطح رقم (عسگری و یاقوتی) بودند. نتایج نشان داد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (اسکوربیک اسید و گلوتاتیون) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و همچنین پرولین با قطع کامل آبیاری افزایش نشان دادند. تیمار آبیاری مجدد تا حدودی اثرات مضر تنش خشکی را در هر دو رقم تعدیل کرد. به‌طورکلی، بین دو رقم ازلحاظ پاسخ‌های فیزیولوژیکی به تنش خشکی تنوع وجود داشت. رقم عسکری با میزان بیشتر پرولین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ظرفیت بالاتری برای تحمل به تنش خشکی نشان داد.

**کلمات کلیدی**: تنش خشکی، انگور، پرولین، گلوتاتیون، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت،

**مقدمه:**

تغییرات اقلیمی در طی سال‌های اخیر سبب تغییر در دما، میزان بارش و همچنین الگوی بارش‌ها به‌ویژه در مناطق نیمه‌خشک گردید که میزان تولید و کیفیت محصولات کشاورزی در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار داده است (۱٤). خشکی یکی از تنش‌های محیطی است که اثرات مخربی بر اغلب مراحل رشد، ساختار و فعالیت اندام‌های گیاه ازجمله درختان و درختچه‌ها دارد (۲). در شرایط تنش خشکی، بسته شدن روزنه‌ها سبب افزایش اکسیداسیون بافت گیاه می‌شود و اگر انباشتگی گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) کاهش نیابد، این فرآیند مسیرهای بیوشیمیایی را در داخل گیاه مختل می‌کند(۷). گیاهان در شرایط تنش خشکی برای کم کردن آسیب، برخی از واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را از خود بروز می‌دهند. یکی از این واکنش‌ها می‌تواند شامل تغییر در فعالیت فتوسنتزی گیاه باشد تا سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه بهبود یافته و مقاومت به تنش خشکی بهتر شود (۱۰). یکی از راهکارهای افزایش محصول دهی در مناطق خشک، استفاده از ارقامی است که ازنظر ژنتیکی برای تحمل شرایط تنش خشکی اصلاح شده‌اند. انگور ازجمله محصولات مهم باغبانی کشور است که بیشتر در مناطق نیمه‌خشک کشت و کار می‌شود و به دامنه وسیعی از شرایط آب و هوایی سازگار شده‌اند. بنابراین؛ انتخاب ارقام مقاوم و بررسی مکانیسم‌های ایجاد تحمل به خشکی در ارقام مقاوم ضروری به نظر می‌رسد. لذا؛ این پژوهش باهدف بررسی تغییرات برخی از اجزاء سیستم های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دو رقم بومی انگور در واکنش به تنش شدید خشکی و برگشت‌پذیری از تنش صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: برای انجام پژوهش، نهال‌های یک‌ساله انگور ارقام عسگری و یاقوتی تهیه گردید و در گلدان‌های پلاستیکی (قطر۲۲) حاوی بستر ماسه و خاک (به نسبت ۲:۱) کشت و در شرایط گلخانه با دمای ٤±۲۵ و رطوبت نسبی ٦۵±۵ درصد

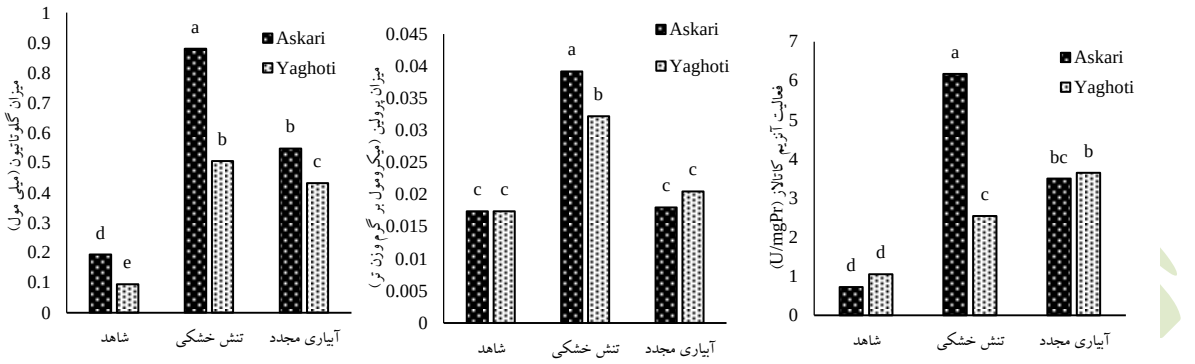
نگهداری شدند. در طول آزمایش، گیاهان با کود کامل (۲۰-۲۰-۲۰) به غلظت یک گرم در لیتر دوهفته‌ای یک‌بار محلول دهی شدند. پس از استقرار کامل نهال‌ها، اعمال تیمار خشکی به‌صورت قطع کامل آبیاری بر روی دوسوم از نهال‌ها اعمال گردید.دو هفته پس از قطع کامل آبیاری، بر روی نیمی از گیاهان تحت تنش، آبیاری مجدد صورت گرفت. گیاهان شاهد در حالت ظرفیت زراعی نگهداری و دو روز یک‌بار آبیاری شدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو سطح رقم (عسگری و یاقوتی) و سه سطح تنش خشکی (شاهد، قطع کامل آبیاری و قطع کامل آبیاری به همراه آبیاری مجدد) در چهار تکرار و دو گلدان در هر واحد آزمایشی صورت گرفت. سه هفته پس از قطع کامل آبیاری، نمونه‌برداری جهت ارزیابی میزان پرولین (٦)، میزان آسکوربات (۹)، گلوتاتیون احیا (۸)، فعالیت آنزیم کاتالاز (٤) و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱۷) صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

**نتایج و بحث**: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش خشکی و رقم بر میزان آسکوربیک اسید، گلوتاتیون و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین نشان دادند ($P<0.01$). همچنین، برهمکنش معنی‌داری بین رقم و تنش خشکی بر میزان پرولین، گلوتاتیون و فعالیت آنزیم کاتالاز وجود داشت. بیشترین میزان پرولین در گیاهان رقم عسگری تحت تنش خشکی مطلق مشاهده گردید و کمترین میزان پرولین در گیاهان شاهد هر دو رقم مشاهده شد که با میزان پرولین در گیاهان تیمار آبیاری مجدد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. (شکل ۱). بیشترین میزان گلوتاتیون احیاء در گیاهان تحت تنش خشکی در رقم عسگری و کمترین میزان در گیاهان شاهد رقم یاقوتی مشاهده شد. در هر سطح آبیاری، میزان گلوتاتیون در رقم عسگری نسبت به رقم یاقوتی بیشتر بود (شکل ۱). میزان آسکوربات در رقم عسگری نسبت به رقم یاقوتی بیشتر بود. قطع کامل آبیاری سبب کاهش معنی‌دار ۸۵/۰۷ درصدی میزان آسکوربات نسبت به شاهد گردید (جدول ۱). قطع کامل آبیاری سبب افزایش معنی‌دار ۳۸۸/۷٦ و ۱۱۰/۷۰ درصدی به ترتیب در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد گردید با آبیاری مجدد میزان فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به سطح خشکی مطلق به‌طور معنی‌داری (۱۷/۳۳ و ۱٦/٤ درصد به ترتیب در آنزیم کاتالاز و پراکسیداز) کاهش یافت بااین‌وجود نسبت به گیاهان با آبیاری نرمال افزایش معنی‌داری (۳۰۱/۱۱ و ۷٤/۹۹ درصد) نشان دادند (جدول ۱). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر ساده رقم و تنش خشکی بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه انگور

| تیمار | پرولین | آسکوربات | گلوتاتیون | کاتالاز | آسکوربات پراکسیداز |
|---|---|---|---|---|---|
| | µM/g | mM/g | mM/g | U/ mg Pr | U/mg Pr |
| عسگری | ۰/۰۲۵a | ۰/٤۷a | ۰/۵٤a | ۳/٤٦a | ۲۹۲/۲۲a |
| یاقوتی | ۰/۰۲۳a | ۰/۲۷b | ۰/۳٤b | ۲/٤۱b | ۲۰٦/۲۷b |
| شاهد | ۰/۰۱۷b | ۰/٦۷a | ۰/۱٤c | ۰/۸۹c | ۱۵۳/۹۵c |
| خشکی مطلق | ۰/۰۳٦a | ۰/۱۰c | ۰/٦۹a | ٤/۳۵a | ۳۲٤/۳۸a |
| آبیاری مجدد | ۰/۰۱۹b | ۰/۳۳b | ۰/٤۹b | ۳/۵۷b | ۲٦۹/٤۰b |

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد




شکل ۱- برهمکنش تنش خشکی و ژنوتیپ بر میزان پرولین، گلوتاتیون و کاتالاز در نهال انگور. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

تحت تنش خشکی در رقم عسکری مشاهده گردید و کمترین میزان در گیاهان شاهد همین رقم مشاهده شد. در شرایط تنش خشکی مطلق میزان آنزیم در گیاهان رقم عسگری نسبت به گیاهان رقم یاقوتی بیشتر بود بااین‌حال با آبیاری مجدد فعالیت آنزیم در دو رقم اختلاف معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱).

در شرایط تنش خشکی اختلال در هدایت روزنه ، نرخ انتقال الکترون غشایی، انتشار CO2، کارایی کربوکسیلاسیون و فتوسنتز منجر به تولید ROS و آسیب اکسیداتیو می‌شود (۱۸). در این شرایط، نقش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان جهت حفاظت در برابر آسیب‌های اکسیداتیو به غشای سلولی و سایر اندامک‌های گیاهی در حال رشد بسیار مهم به نظر می‌رسد (۵). سازش گیاهان به شرایط تنش خشکی بستگی به افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در برابر افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال دارد. پرولین به‌عنوان یک اسیدآمینه آزاد نقش‌های متفاوتی در تحمل به تنش خشکی دارد. علاوه بر اینکه به‌عنوان یک اسمولیته در افزایش تحمل به تنش در گیاه نقش دارد، می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کند که سبب حذف رادیکال‌های آزاد درون‌سلولی گردد. در این بررسی تفاوت معنی‌داری بین دو رقم ازلحاظ میزان پرولین مشاهده نگردید. بااین‌حال، در شرایط تنش در هر دو رقم میزان پرولین افزایش یافت که با نتایج (۱۵) که نشان دادند میزان پرولین در ارقام مختلف انگور در واکنش به تنش خشکی افزایش می‌یابد همخوانی دارد. افزایش یافتن میزان پرولین در پاسخ به تنش خشکی به‌عنوان یک استراتژی برای بهبود تحمل تنش است (۱۲) که درنتیجه تنظیم اسمزی و کاهش پر اکسیداسیون چربی‌ها است (۱۱). در این پژوهش، نتایج نشان داد که در شرایط تنش خشکی میزان آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیک اسید و گلوتایتون و همچنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. بااین‌وجود، میزان افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بین دو رقم موردمطالعه متفاوت بود. شواهدی وجود دارد که تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی ازجمله خشکی با افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد (۱). نتایج تحقیقات نشان داد که افزایش سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز به دلیل کاهش اثرات پر اکسیداسیون در هنگام تنش‌های مختلف گیاهان زراعی گندم، جو، سویا و نخود در مقاومت گیاه به تنش نقش مهمی ایفا می‌کند (۱). این آنزیم با زدودن انواع گونه‌های اکسیژن فعال و جلوگیری از تخریب غشا سلولی به بقای گیاه کمک می‌کند (۱٤). در تحقیقی نشان داده شد که آنزیم CAT تحت

تنش خشکی افزایش‌یافته و پس از آبیاری مجدد به نسبت قابل‌توجهی نسبت به خشکی مطلق کاهش‌یافته است که در ارقام متحمل‌تر این میزان بیشتر بوده است که با یافته‌های این تحقیق تطابق دارد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه‌ی گلوتاتیون-آسکوربات با استفاده از آسکوربات به‌عنوان دهنده‌ی الکترون باعث تجزیه‌ی پراکسیدهیدروژن می‌شود (۱۶). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت که میزان افزایش در رقم عسگری نسبت به رقم یاقوتی بیشتر بود. فعالیت بالای آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشانه‌ی حفاظت بیشتر گیاه در برابر آسیب‌های اکسایشی القاشده به‌وسیله‌ی تنش خشکی است (۳). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش ، قطع کامل آبیاری سبب تغییرات پرولین و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در ارقام موردمطالعه گردید. بااین‌وجود، رقم عسگری با افزایش بیشتری در میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان داد. آبیاری مجدد در هر دو رقم تا حدودی سبب تعدیل اثر تنش خشکی شدید بر خصوصیات بیوشیمیایی مرتبط با تنش گردید.

## منابع


۱. اسفندیاری، ع.، شکیبا، م.ر.، محبوب، س.، آلیاری، ه .و برادران فیروزآبادی، م .۱۳۸۸ . اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی گیاهچه‌های گندم. مجله دانش کشاورزی. ۲: ۱۲۹-۱۳۸.

۲. رستگار، س.، ذاکری، ا. و ذاکری، ب. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر رشد رویشی و تغییرات بیوشیمیایی شش گونه زینتی گرمسیری. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۵(۱۶): ۱۶۴-,۱۵۷

۳. مفاخری، خ.، بی همتا، م. و عباسی، ع. ۱۳۹۵. بررسی فعالیت بعضی از آنزیم‌های پاداکسندگی و پراکسیداسیون چربی‌های غشا در رقم‌های لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) در شرایط عادی و تنش خشکی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۲: ۲۱۷-۲۳۲.

4. Abie, H.E. (1983) Catalase. Methods of Enzymatic Analysis, 3rd edn. Verlag Chemie, Weinheim, pp 273–286.
5. AL-Ghamdi, A.A. (2009) Evaluation of oxidative stress tolerance in two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in response to drought. International Journal of Agriculture and Biology 11:7-12.
6. Bates, L.S., Waldran, R.P., Teare, I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. Plant Soil, 39: 205–208.
7. Bhatt D, Negi M, Sharma P, Saxena S C, Dobriyal A K, Arora S.( 2011) Responses to drought induced oxidative stress in five finger millet varieties differing in their geographical distribution. Physiology & Molecular Biology of Plants, 17: 347–353.
8. Chen, K. and Arora, R. (2011) Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming post-priming germination, and seedling establishment in spinach (*Spinacia oleracea*). Plant Sci. 180: 122-220. doi:10.1016/j.plantsci.2010.08.007.
9. Djioua, T., Charles, F., Lopez-Lauri, F., Filgueiras, H., Coudret, A., Freire Jr, M., Ducamp-Collin, M. N. and Sallanon, H. (2009) Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by not hot water treatments. Postharvest Biol Technol. 52: 221-226. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.10.006.
10. Gao D, Gao Q, Xu H Y, Ma F, Zhao C M, Liu J Q. (2009) Physiological responses to gradual drought stress in the diploid hybrid *Pinus densata* and its two parental species. Trees, 23: 717–728.
11. Gupta G.P., Singh S., Kumar B., Kulshrestha U.C. ( 2015) Industrial dust sulphate and its effects on biochemical and morphological characteristics of Morus *(Morus alba*) plant in NCR Delhi. Environ. Monit. Assess. 187 (67): 2-13.

12. Hoekstra F.A., Golovina E.A., Buitink J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends Plant Sci. 6(9): 431-438.
13. IPCC. Climate Change (2014) Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change; IPCC: Geneva, Switzerland, 2014.
14. Jiang, M. and Zhang, J. (2001) Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative offence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. Plant Cell Physiology 42: 1265-1273.
15. Karami, L., Ghaderi, N., and Javadi, T. (2017) Morphological and physiological responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to drought stress and dust pollution. Folia Horticulturae, 29(2): 231-240.
16. Moore, K. & Roberts, L.J. (1998) Measurement of lipid peroxidation. Free Radical Research, 28: 659-71.
17. Nakano, Y., Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867–880.
18. Pinheiro C, Chaves M. M. (2011) Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? J. Exp. Bot. 62:869–882

## Differential Antioxidant Responses of the Two Iranian Grapevine Cultivars to Water Completely Withheld and Re-Watering Treatments

***Abstract*:**
Drought is a key *abiotic* stress that severely affects growth and development of horticulture crops. To understanding the antioxidant responses of two grapevine cultivars to drought stress, a factorial experiment was conducted in a greenhouse. The factors included drought stress (well-watered (control), water completely withheld, and re-watering after water-withheld) and cultivar (‘Askari’ or ‘Yaghoti’). The results showed that Antioxidant compounds (ascorbate and glutathione content) and antioxidant enzymes activity (CAT and APX), as well as proline were increased drought stress. Re-watering treatment proximally mitigated drought stress in the both cultivars. The ’Askari’ cultivar had higher values of proline, antioxidant compounds and antioxidant enzymes activity and exhibited a greater capacity to tolerate water stress compared to ‘Yaghoti’ cultivar.

**Key word**s: water completely withheld, grapevine, proline content, glutathione content, antioxidant enzymes activity

# تاثیر تغذیه با پیش‌ساز اورنیتین بر برخی خصوصیات رشدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک (*Hyoscyamus reticulatus* L.)

**زرین صادقی[1]، بهمن حسینی[1*]، احد هدایتی[1و2]**

[1] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[2] گروه پژوهشی تولید متابولیت‌های ثانویه در سامانه‌های زیستی، جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه

*نویسنده مسئول: b.hosseini@urmia.ac.ir

**چکیده**

بذرالبنج مشبک یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی حاوی آلکالوئیدهای تروپانی می‌باشد. این گیاه دارای خواصی مثل ضد اسپاسم، آنتی کولینرژیک می‌باشد. افزایش تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه از اهداف اصلی کشت ریشه‌های موئین و تغذیه با پیش‌سازها میباشد. در این تحقیق تاثیر غلظت‌های مختلف پیش‌ساز اورنیتین (صفر، ۳، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) در مدت زمان مختلف (۲٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت) بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک بررسی گردید. حداکثر وزن تر (۵/٤۷ گرم) و خشک (۰/۵۹ گرم) در ریشه‌های موئین تیمار شده در غلظت ۱۰ میلی‌مولار پیش‌ساز و مدت زمان ٤٨ ساعت مشاهده گردید. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات و گایاکول پراکسیداز به ترتیب (۱/۱۳ U $g^{-1}$ FW و ۱/۹٦) در غلظت‌های ۳ و ۱۰ میلی‌مولار و مدت زمان ۷۲ ساعت به دست آمد. بر اساس نتایج، استفاده از اورنیتین به عنوان پیش‌ساز می‌تواند در بهبود میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موثر باشد.

**کلمات کلیدی**: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اورنیتین، پیش‌ساز، ریشه موئین.

## مقدمه

تیره سیب زمینی یکی از مهم‌ترین تیره‌های گیاهی می‌باشد که تا به حال ۸۵ جنس و ۳۰۰۰ گونه از آن شناسایی شده است و از جنس‌های مهم این تیره می–توان به بذرالبنج اشاره کرد (گلدسته، ۱۳۷٦). بذرالبنج مشبک با نام علمی *Hyoscyamus reticulatus* حاوی آلکالوئیدهای مختلفی از جمله آلکالوئیدهای تروپانی می‌باشد (دیلمقانی و همکاران، ۱۳۸۵). این آلکالوئیدها دارای خواص آرام بخش و ضد درد می‌باشند (Oto *et al.*, 2013). از مهم‌ترین آلکالوئیدهای تروپانی می‌توان به هیوسیامین، اسکوپولامین و آتروپین اشاره کرد. ریشه موئین توسط تلقیح ریزنمونه گیاهی با باکتری گرم منفی خاکزی آگروباکتریوم رایزوژنز ایجاد می‌گردد. از مزیت‌های ریشه موئین می‌توان به زمان دو برابر شدن کوتاه، نگه‌داری آسان، رشد سریع و توانایی سنتز طیف گسترده‌ای از ترکیبات شیمیایی اشاره کرد (Banerjee *et al.*, 2012). برای رشد بهتر ریشه‌ها و تولید متابولیت‌های ثانویه بایستی از روش‌های مختلف زیست فناوری مانند ایجاد شرایط بهینه در محیط کشت از جمله وجود نیتروژن کافی، کربن، اکسیژن و ساکارز، ایجاد pH مناسب و تغذیه با پیش‌سازها استفاده کرد (Chashmi *et al.*, 2016). پیش‌سازها ترکیباتی هستند که در ابتدا یا در طول مسیر

بیوسنتز جهت افزایش عملکرد محصول نهایی استفاده می‌شود (Rao and Ravishankar, 2002). افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای دفاعی گیاهان در رویارویی با شرایط نامساعد است. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (ازجمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، بتاکاروتن، آسکوربیک اسید، آلفاتوکوفرول، گلوتاتیون) و آنزیمی (شامل سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پلی‌فنول اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) هستند (Daneshmand, 2014). همکاری این اجزا با یکدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی می‌شود که به‌عنوان سازوکارهای دفاعی بوده و سلول را قادر می‌کند از تولید گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری کرده و یا آن¬ها را جمع‌آوری و آثار مضر آن¬ها را کاهش دهد (Ashraf and Iram, 2005). در مطالعه حاضر به بررسی تاثیر اسیدآمینه اورنیتین به عنوان پیش‌ساز در مسیر تولید هیوسیامین وسکوپولامین بر میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کشت ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک پرداخته شده است.

## مواد وروش‌ها

**کشت بذور و القا ریشه موئین:** بذرهای این گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و پس از ضدعفونی سطحی(با الکل و محلول هیپوکلریت سدیم) در محیط کشت پایه MS کشت گردید. پس از تلقیح ریزنمونه‌های کوتیلدونی توسط سویه A7 باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز، ریزنمونه‌ها به محیط کشت MS فاقد هورمون منتقل شدند و تا زمان ظهور ریشه‌ها در اتاق رشد (دمای ۲ ±۲۵ و شرایط تاریکی) نگهداری شدند.

**بررسی اثر پیش‌ساز اورنیتین بر میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریشه‌های موئین:** این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی، با سه تکرار انجام شد. به منظور انجام این آزمایش، غلظت‌های مختلف (صفر، ۳، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) از پیش‌ساز اورنیتین به صورت جدا تهیه و تاثیر آن‌ها بر زیست توده و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه-های موئین بذرالبنج مشبک در مدت زمان‌های ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت بررسی گردید. ۱ گرم از لاین ریشه‌های موئین پر رشد، توزین و به ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS منتقل شدند و سپس جهت رشد بهتر در شیکر انکوباتور با ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. در روز بیستم کشت، ریشه‌های موئین با غلظت‌های مختلف پیش‌ساز تیمار شدند. بعد از گذشت یک هفته ریشه‌ها جهت سنجش میزان وزن تر و خشک و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برداشت شدند. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز به ترتیب از روش‌های Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵)، Asada و Chen (۱۹۸۹) و (Aebi, 1984) استفاده گردید.

## نتایج و بحث

**تاثیر پیش‌ساز اورنیتین بر وزن تر و خشک ریشه‌های موئین بذرالبنج مشبک:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل غلظت و مدت زمان تیمار با پیش‌ساز اورنیتین بر میزان وزن تر و خشک ریشه‌های موئین در سطح احتمال ۱ درصد معنی-دار بود (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان وزن تر (۵/٤٧ گرم) و خشک (۰/۵۹ گرم) در غلظت ۱۰ میلی-

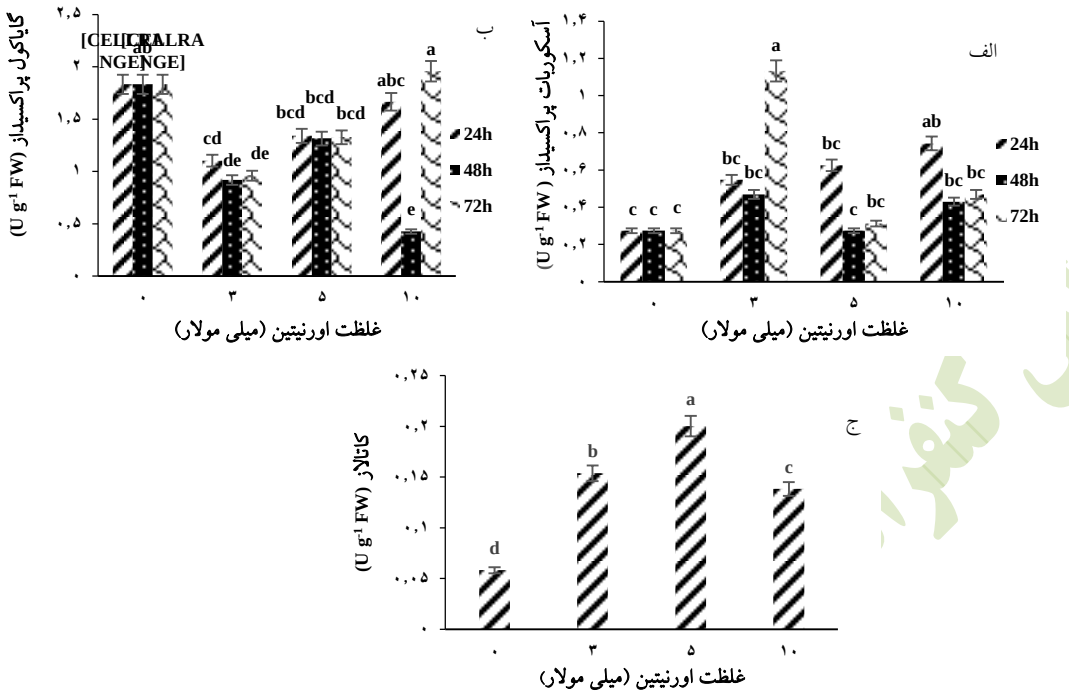
مولار و مدت زمان ٤٨ ساعت به دست آمد که تقریبا دو برابر شاهد بود. بر طبق گزارش سپهری (۱۳۹۷) مقدار متفاوت نیتروژن در محیط کشت‌های مختلف، رشد ریشه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه نیز تا مدت ٤٨ ساعت با افزایش غلظت اورنیتین میزان وزن تر و خشک نیز افزایش می‌یابد. در نتیجه می‌توان از اسیدآمینه اورنیتین به دلیل داشتن عنصر نیتروژن در ساختار خود به عنوان یک فاکتور رشدی برای رشد بهتر ریشه‌ها استفاده کرد. در تحقیقی بر روی گیاه *Sphagneticola calendulacea*، نتایج نشان داد که استفاده از ۰/۵ میلی‌مولار فنیل‌آلانین در مدت زمان تیمار ۱۰ روز منجر به افزایش میزان وزن تر و خشک نسبت به شاهد گردید اما با افزایش غلظت و مدت زمان تیمار میزان وزن تر و خشک کاهش یافت (Kundu *et al*., 2018).

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت و مدت زمان تیمار با پیش‌ساز اورنیتین بر وزن تر و خشک و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌های موئین بذرالبنج کوتاه

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | وزن تر | وزن خشک | گایاکول | آسکوربات | کاتالاز |
| زمان تیمار (a) | ۲ | ۱۱/۹٤ ** | ۰/۱٤ ** | ۰/۵۷۹ ** | ۰/۱۳۸ * | ۰/۰۰۲ ns |
| غلظت اورنیتین (b) | ۳ | ۱۳/۲۰ ** | ۰/۰۹ ** | ۱/۰۷۷ ** | ۰/۳۲٦ ** | ۰/۰۳۲ ** |
| اثر متقابل (a*b) | ٦ | ۲/۹۰ ** | ۰/۰٤ ** | ۰/٤۷۸ ** | ۰/۱۵۲ ** | ۰/۰۰۲۹ ns |
| اشتباه آزمایشی | ۲٤ | ۰/۲۳٤ | ۰/۰۰٤ | ۰/۰٦۳ | ۰/۰۳۸ | ۰/۰۰۱۳ |
| ضریب تغییرات (CV %) | | ۱۱/۲۸۱ | ۱٤/۷٦ | ۱۸/۲۰۲ | ٤۰/۲۰۱ | ۲۵/۹۹۵ |

**، * و ns به ترتیب نشان دهنده‌ی اختلاف معنی-دار در سطح احتمال ۱و ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

مطابق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر متقابل غلظت و مدت زمان تیمار بر میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول و آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود اما بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تاثیر معنی‌داری نداشت. اثر ساده غلظت اورنیتین در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب (۱/۹٦ U $g^{-1}$ FW و ۱/۱۳) در تیمار با غلظت ۱۰ و ۳ میلی‌مولار و مدت زمان ۷۲ ساعت به‌دست آمد. کمترین میزان فعالیت گایاکول و آسکوربات به ترتیب (۰/٤۲٦ U $g^{-1}$ FW و ۰/۲۷٤) در غلظت ۱۰ و ۵ میلی‌مولار و مدت زمان ٤٨ ساعت مشاهده گردید. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۲۰۰ U $g^{-1}$ FW) در تیمار با غلظت ۵ میلی‌مولار به‌دست آمد و کمترین میزان فعالیت (۰/۰۵۸ U $g^{-1}$ FW) مربوط به کشت شاهد بود که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز ٤/٤٨ برابر شاهد بود (نمودار۱). در این تحقیق در غلظت‌های ۱۰، ۳ و ۵ میلی‌مولار بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گایاکول و آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز دیده می‌شود که نشانگر تنش وارد شده به گیاه در این غلظت‌ها می‌باشد. در مطالعه دیگر تاثیر اسیدآمینه اورنیتین بر کالوس *H. muticus* نشان داد که این اسیدآمینه بر فعالیت آنزیم کاتالاز تاثیر معنی داری نداشت (Abdelrazic *et al*., 2019). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت اورنیتین و نوع گیاه بر فعالیت آنزیم کاتالاز موثر است، چرا که استفاده از این پیش‌سازمنجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد.




نمودار۱– تاثیر غلظت و مدت زمان تیمار با پیش‌ساز اورنیتین بر فعالیت آنزیم آسکوربات (الف) و گایاکول پراکسیداز (ب) و اثر ساده غلظت پیش‌ساز بر فعالیت آنزیم کاتالاز (ج)

## فهرست منابع

دیلمقانی، ک.، خاوری نژاد، ر.، فهیمی، ح و حکمت شعار، ح. (۱۳۸۵) استخراج و اندازه گیری آلکالوئیدهای تروپانی هیوسیامین و اسکوپولامین از اندام‌های مختلف *Hyoscyamus pusillus* در مراحل مختلف رشد. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۲(۱): ۱۰–۱.

سپهری ا. (۱۳۹۷) تاثیر نانواکسید آهن بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در کشت ریشه‌های موئین گیاه شابیزک *(Atropa belladonna)*. پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته غلوم باغبانی– بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی محصولات باغبانی. صفحه ۷۲.

گلدسته م. (۱۳۷٦) سیتولوژی، مورفولوژی و الکتروفروز چند جنس از تیره Solanace ایران. پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم گیاهی. صفحه ۵–۷.

Abdelrazic, E., El-hamahmy, M.A., Abo-Elsoud, I., Ali, E.M. and Aboseidah, A.A. (2019) Ornithine induced the hyoscyamine production more than arginine precursor in *Hyoscyamus muticus* L. *In Vitro*. Egyptian Journal of Botany, (Articles in Press).

Aebi, H. (1984) In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.), Catalase *In Vitro*. Methods in Enzymology. Florida: Academy. pp. 114–121.

Ashraf, M. and Iram, A. (2005) Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. Flora. 200: 446-535.

Banerjee, S., Singh, S. and Rahman, L.U. (2012) Biotransformation studies using hairy root cultures – a review. Biotechnology Advances. 30: 461-468.

Chashmi, A.N., Sharifi, M. and Behmanesh, M. (2016) Lignan enhancement in hairy root cultures of *Linum album*

using coniferaldehyde and methylenedioxycinnamic acid. Preparative Biochemistry and Biotechnolology. 46(5): 454-460.

Chen, G.X. and Asada, K. (1989) Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. Plant and Cell Physiology. 30(7): 987-998.

Daneshmand, F. (2014) Response of antioxidant system of tomato to water deficit stress and its interaction with ascorbic acid. Iranian Journal of Plant Biology. 6(19): 57-72.

Kundu, S., Salma, U., Ali, M.N., Hazra, A.K. and Mandal, N. (2018) Development of transgenic hairy roots and augmentation of secondary metabolites by precursor feeding in *Sphagneticola calendulacea* (L) pruski. Industrial Crops and Products. 121: 206-215.

Oto, A., Sethi, I., Karczmar, G., McNichols, R., Ivancevic, M.K., Stadler, W.M., Watson, S. and Eggener, S. (2013) MR imaging-guided focal laser ablation for prostate cancer: phase I trial. Radiology. 267(3): 932-940.

Rao, S.R. and Ravishankar, G.A. (2002) Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. Biotechnology Advances. 20(2): 101-153.

Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smith, B.N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology. 121(5): 453-461.

# Effects of precursor feeding with ornithine on growth characteristics and antioxidant enzymes activity of *Hyoscyamus reticulatus* L. hairy roots

***Zarrin Sadeghi*[1], *Bahman Hosseini*[1,*], *Ahad Hedayati*[1,2]**

[1] *Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran*

[2] *Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia,, Iran*

**Abstract**

*Hyoscyamus reticulatus* is one of the Increasing the production and accumulation of secondary metabolites is one of the main goals of hairy root culture and feeding with precursors. In the present study, effect of different concentrations of ornithine precursor (0, 3, 5 and 10 mM) at different exposure times (24, 48 and 72 h) on fresh and dry weight and antioxidant enzymes activity in *H. reticulatus* hairy roots were investigated. The maximum fresh (5.47 g) and dry weight (0.59 g) was observed in hairy roots treated with 10 mM concentration at 48 hours of exposure time. The highest APX and GPX enzymes activity (1.13 and 1.96 U $g^{-1}$ FW, respectively) was obtained at 3 and 10 mM ornithine concentration and 72 hours exposure time. According to results, the ornithine amino acid can be used as effective precursor to improve growth rate and antioxidant enzymes activity.

**Keywords**: Antioxidant enzymes, Hairy root, Ornithine, Precursor.

# تاثیر هورمون ها بر محتوای آنتی اکسیدانی ریشه گل سازوئی *Scrophularia striata*

*زینب رستمی* *، آرش فاضلی*

*گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام.*

*z.rostami1368@yahoo.com

**چکیده**

گل سازویی از جمله گیاهان دارویی است که با توجه به خواص دارویی خود می‌تواند نقش مهمی در پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌ها داشته باشد. نظر به بررسی اهمیت خواص آنتی اکسیدانی در ریشه این گیاه آزمایشی با هدف بررسی اثر هورمون‌های جاسمونیک اسید، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اجرا شد. طبق نتایج بدست آمده مشاهده شد محلول پاشی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بیشتر تیمارها نسبت به شاهد شد در مجموع، به نظر می‌رسد غلظت مناسب الیسیتورها می‌تواند از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو باعث افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه شود که به موجب آن از این ویژگی می‌توان در جهت اهداف دارویی و درمانی استفاده نمود.

**کلمات کلیدی**: گل سازوئی، آنتی‌اکسیدان، سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید، جیبرلیک اسید.

**مقدمه**

گل سازویی با نام محلی تشنه داری، گیاهی است خودرو، چند ساله و از تیره گل میمون و خانواده *Scrophulariaceae* می‌باشد که در مناطق سردسیر و کوهستانی زاگرس از جمله استان ایلام، کرمانشاه و مناطقی از استان خوزستان رشد می‌کند (Ardeshiri-Lagimi et al., 2009). ریشه و قسمت‌های هوایی گل سازوئی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. خواص آنتی-اکسیدانی و آنتی باکتریایی این گیاه مربوط به فلانوئیدها، منوترپن‌ها و کومارین‌ها در عصاره گیاه می‌باشد (Safavi et al., 2012). به طور کلی گیاهان برای مقابله با ROSها دارای سازوکارهای دفاعی هستند. سیستم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه یک جزء مهم از مکانیسم‌های حفاظتی در برابر تنش است. این سیستم شامل آنزیم‌ها و متابولیک‌های غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان است (Foyer et al., 1994). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه شامل آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آنزیم‌های چرخه گلوتاتیون– آسکوربات شامل آنزیم‌های آسکوربات پرکسیداز، دهیدرو آسکوربات ردوکتاز، مونو دهیدرو آسکوربات ردوکتاز و آنزیم‌های گلوتاتیون ردکتاز است (Foyer et al., 1994). متابولیک‌های غیرآنزیمی که به تنهایی یا همراه با آنزیم‌های آنتی اکسیدان باعث غیرفعال شدن ROSها می‌شوند، شامل: اسید آسکوربیک، گلوتاتیون، فلاونونها، آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنولیک، ویتامین E و کاروتنوئیدها هستند. سیستم‌های دفاعی فوق‌الذکر، سیستم کارآمدی است که ROS تولیدشده را غیرفعال کرده و خسارات ناشی از آن را کاهش می‌دهند (Kazemi-Shahandashti et al., 2014). الیسیتورها به طور کارآمدی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند. استعمال خارجی ترکیباتی مثل اسیدجاسمونیک، اسیدسالیسیلیک و متیل سالیسیلات (الیسیتور شیمیایی) باعث القاء تنش کاذب در گیاه شده و پاسخ‌های دفاعی گیاه را بر می-انگیزد. در اصل، مواد خروجی الیسیتورها، آغازگر یک مسیر پیام‌رسانی پیچیده شده و به فعال شدن پاسخ‌های دفاعی منجر می-

گردند (Weathers et al., 2010). در زیره سبز سالیسیلیک اسید سبب فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه شده و از طریق افزایش بیان ژن فلاون سنتتاز منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانین شد (Firoozie et al., 2016). القای آنزیم‌های آنتی‌آکسیدانت، ترکیبات فنولیکی و فلاونوئید با استفاده از متیل جاسمونات و سالیسیلیک گزارش شده است (and Bruni 2009 Sacchetti). با توجه به اینکه مناطق مختلف زاگرس نشین از اندام‌های هوایی و ریشه گیاه به صورت جداگانه و محلی به عنوان ضددرد و ضدالتهاب موضعی و... استفاده می‌کنند و تاکنون هیچ مطالعه ای از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بافت ریشه این گیاه انجام نشده است، بنابراین ریشه گیاه S. striata مورد مطالعه فیتوشیمیایی قرار گرفت تا شاید از طریق شناسایی محتوای شیمیایی آن، بتوان در جهت استفاده صحیح از مواد طبیعی این گیاه در امر درمان بیماری‌ها، قدمی برداشت.

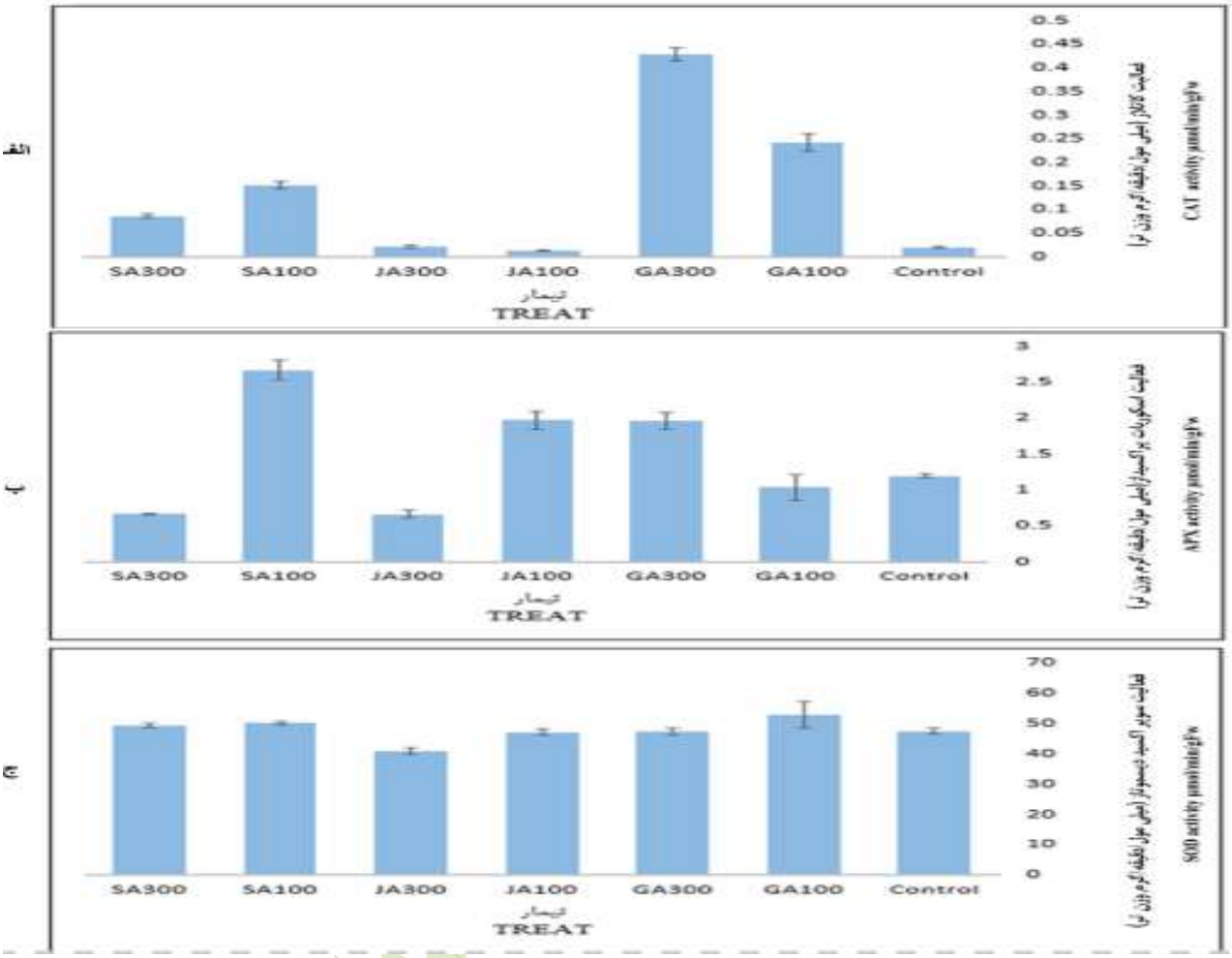
مواد و روش ها

بذور مورد مطالعه از دامنه کوه های استان ایلام جمع آوری و پس از ضدعفونی به ژرمیناتور منتقل شدند. بذور جوانه زده بعد از طی مدت زمان تقریبی یک هفته به گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ایلام منتقل گردیدند. آزمایش درقالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. گلدان‌ها در دمای روزانه 25 و شبانه ۲۰ درجه سانتیگراد، با شدت نور 35 تا 40 هزار لوکس تا انتهای مرحله گلدهی نگهداری شدند.تیمارهای ازمایشی شامل جاسمونیک اسید، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید هرکدام در ۲ سطح ۱۰۰ و ۳۰۰ پی پی ام همراه با تیمار شاهد بودند. بعد از رشد و رسیدن نمونه ها به مرحله ٤-٥ برگی محلول‌پاشی هورمون‌های جاسمونیک اسید، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید در سه نوبت به فاصله ۷۲ ساعت یک‌بار صورت گرفت. بوته‌های شاهد با آب مقطر پاشش شدند. ریشه‌های گل سازوئی بعد از اعمال تیمار با هورمون‌های رشد در طی مرحله پیش گلدهی برداشت و جهت بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی در فریزر با دمای 80- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: جهت سنجش محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ابتدا عصاره آنزیمی از نمونه‌ها استخراج شد (Abdoli Nejad and Shekafandeh 2014). فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز بر طبق دستور العمل (Sun et al., ۲۰۱۳ ; Nakano and Asada 1981; Giannopolitis and Ries, 1977) تخمین زده شد.

نتایج و بحث

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسیدجاسمونیک و اسیدسالیسیلیک و جیبرلیک اسید به عنوان محرک القای تنش اکسیداتیو در ریشه گل سازوئی و افزایش مقاومت آن به تنش از طریق اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بود. در مجموع میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های متفاوت الیستورها معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان انزیم کاتالاز تحت تاثیر غلظت ۳۰۰ پی پی ام جیبرلیک اسید و کمترین میزان مربوط به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید بود به‌طوری که فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۳۰۰ پی پی ام جیبرلیک اسید حدود ۲۰ برابر نمونه شاهد بود (شکل۱- الف). بررسی نتایج اندازه‌گیری فعالیت اسکوربات پراکسیداز نشان داد که بیشترین میزان این آنزیم در غلظت ۱۰۰ پی پی ام سالیسیلیک اسید و کمترین میزان در تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید بدست آمد. به‌طوری‌که در غلظت ۱۰۰ پی پی ام سالیسیلیک اسید فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسکوربات پراکسیداز در حدود ۲,۵ برابر تیمار شاهد بود. (شکل۱- ب). همچنین بیشترین




شکل 1. تاثیر غلظت های مختلف الیستورهای غیر زیستی بر خصوصیات آنتی اکسیدانی گل سازوئی

میزان انزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار ۱۰۰ پی پی ام جیبرلیک اسید و کمترین میزان در پی کاربرد غلظت ۳۰۰ پی پی ام جیبرلیک اسید حاصل گردید. (شکل۱- ج). الیسیتورها می‌توانند تغییرات فیزیولوژیکی مختلفی را در گیاه القا نمایند. استعمال خارجی ترکیباتی مثل اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک باعث القا تنش کاذب در گیاه شده و پاسخ‌های دفاعی آن را بر می‌انگیزد. گیاه در پاسخ به تنش اکسیداتیو ایجاد شده، میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را زیاد نموده و بدنبال آن، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی (اغلب جنبه‌ی دارویی دارند) افزایش پیدا می‌کند (Rasouli et al., 2018). در تحقیقی که با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف مس بر رنگیزه‌ها و فعالیت سیستم‌های دفاعی غیرآنزیمی و آنزیمی در گیاه خرفه انجام شد افزایش سطح ROS در سلول‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان افزایش یافت و متعاقب با آن تغییری در فعالیت آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز دیده شد. همچنین در این تحقیق افزایش معنی‌دار فعالیت پراکسیداز در هر دو اندام بخش هوایی و ریشه دیده شد که با نتایج حاصل از این گزارش هم‌خوانی دارد (Ghorbanli and Kiapr 2012). روی‌هم‌رفته، محلول‌پاشی با اسیدجاسمونیک، اسیدسالیسیلیک و جیبرلیک اسید فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در گیاه را افزایش داد. این امر

می‌تواند بر پالایش مؤثر گونه‌های فعال اکسیژن و به تأخیر انداختن پیری گیاه دلالت داشته باشد.

**سپاسگذاری**

بدینوسیله از ستاد توسعه زیست فناوری نهاد ریاست جمهوری به جهت تامین اعتبار مالی این پروژه با شماره ۹۷۱۱۰۲ تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ایلام به خاطر حمایت های مالی در راستای هسته پژوهشی به شماره ۱۷٦٤/۳۱ تشکر و قدردانی می نماید.

**منابع**

Abdoli Nejad, R. & Shekafandeh, A. (۲۰۱۴) Salt stress-induced changes in leaf antioxidant activity, proline and protein content in ‘shah anjir’and ‘anjir sabz’fig seedlings. International Journal of Horticultural Science and Technology. ۱: ۱۲-۱۲۱.

Ardeshiri-Lagimi, A. Barzegar, M. Rezaei-Tavirani, M. Hashemi, M. Heidari-Kashal, S. Moghaddamnia, S. & Kalantari, S. (۲۰۰۹) Effects of scrophularia striata extract on human fibroblast cells. Medical Sciences Journal of Islamic Azad University. 19:168-172.

Bruni, R. & Sacchetti, G. (۲۰۰۹) Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown st. John’s wort (hypericum perforatum l. Hypericaceae/guttiferae). Molecules. ۱۴:682-725.

Firoozie, T. Fakheri, B. Fahmideh, L. (۲۰۱۶) Increasing of flavone synthase gene expression and flavonoid compounds and antioxidant enzymes activity of cuminum cyminum by salicylic acid. Modern Genetics Journal. ۱۰:497-506.

Foyer, C. Descourvieres, P. & Kunert, K. (۱۹۹۴) Protection against oxygen radicals: An important defence mechanism studied in transgenic plants. Plant Cell & Environment. ۱۷: ۵۲۳-۵۰۷.

Ghorbanli, M. Kiapor, A. (۲۰۱۲) Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzimatic and enzymatic defence systems in portulaca oleracea l. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants. 28:235.

Giannopolitis, C. N. & Ries, S. K. (۱۹۷۷) Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant physiology. ۳۱۴-۵۹:۳۰۹

Kazemi-Shahandashti, S. S. Maali-Amiri, R. Zeinali, H. Khazaei, M. Talei, A. & Ramezanpour, S.S. (۲۰۱۴) Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings. Journal of plant physiology. ۱۱۱۶-۱۷۱:۱۱۰۶.

Nakano, Y. & Asada, K. (۱۹۸۱) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and cell physiology. ۲۲: ۸۸۰-۸۶۷

Rasouli, F. Gholipor, M. Jahanbin, K. & Asghari, H.R. (۲۰۱۸) Effect of salicylic acid and jasmonic acid on induction of oxidative stress, increasing resistance and yield of echinacea. Journal of crop production. 11:109-122.

Safavi, F. Meighani, H. Ebrahimi, P. & Ghoran, S.H. (۲۰۱۲) Antioxidant and antibacterial activity of scrophularia striata. Research in Pharmaceutical Sciences. 7:852.

Sun, J. Gu, J. Zeng, J. Han, S. Song, A. Chen, F. Chen, S. (۲۰۱۳) Changes in leaf morphology, antioxidant activity and photosynthesis capacity in two different drought-tolerant cultivars of chrysanthemum during and after water stress. Scientia Horticulturae. ۱۶۱:249-258.

Weathers, P.J. Towler, M.J. and Xu, J. (2010) Bench to batch: advances in plant cell culture for producing useful products. Appl. Microbiol. Biotec. 85: 1339–1351.

# The effect of hormones on antioxidant content in the root of *Scrophularia striata*

***Zeinab Rostami*, Arash Fazeli***

*Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University.*

z.rostami1368@yahoo.com

**Abstract**

*Scrophularia striata* is one of the medicinal plants that due to its medicinal properties can play an important role in the prevention and treatment of some diseases. Due to the importance of antioxidant properties in the roots of this plant, an experiment was conducted to investigate the effect of the jasmonic acid, salicylic acid and gibberellic acid hormones at concentrations of 100 and 300 ppm on the activity of antioxidant enzymes. According to the results, foliar application increased the activity of antioxidant enzymes in most treatments compared to the control. In general, it seems that the appropriate concentration of eliminators can increase the activity of antioxidants by creating oxidative stress. Oxidize the plant, according to which this property can be used for medicinal and therapeutic purposes.

**Keywords**: *Scrophularia striata*, Antioxidant, Salicylic acid, Jasmonic acid, Gibberellic acid.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# مطالعه فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی گل در دو گونه گل گاوزبان ایرانی رویش یافته در غرب کشور

**یاور وفایی*، حسین معروفی**

گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

* y.vafaee@uok.ac.ir

**چکیده:** گیاهان دارویی از دیرباز نقش ویژه‌ای در زندگی تمدن‌های کهن ایرانی از جمله تمدن‌های غرب کشور ایفا نموده است. در این بین دو گونه گل گاوزبان شامل *Anchusa italica* var. *kurdica* و *Anchusa strigosa* استفاده گسترده‌ای در بین بومیان و روستائیان به دمنوش و گیاه دارویی دارد. مطالعه ترکیبات فیتوشیمیایی اولین قدم در ارتباط با شناسایی ترکیبات با ارزش و امکان سنجی اصلاح گیاهان دارویی می‌باشد. با توجه به اینکه اطلاعات کمی در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی گونه‌های گل گاوزبان رویش یافته در غرب ایران وجود دارد، مطالعه حاضر جهت شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره هیدروالکلی گل دو گونه گل گاوزبان ایران انجام گرفت. پروفایل GC-MS عصاره هیدروالکلی گل در هر دو گونه منجر به شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی متفاوتی شد. در این بین برخی ترکیبات در بیشترین میزان ممکن وجود داشتند که می‌توان به H-1-Pyrindine، Diethyl Phthalate، Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, trans- و Isosorbide Dinitrate اشاره کرد.

**کلمات کلیدی**: کروماتوگرافی گازی، گل گاوزبان، ترکیبات فیتوشیمیایی.

## مقدمه

یکی از جنس‌های Boraginaceae که دارای پراکندگی در نواحی مدیترانه‌ای، اروپا، غرب آسیا و مناطق حاره‌ای آفریقا می‌باشد جنس *Anchusa* است (Selvi and bigazzi, 1998). گونه *Anchusa srigosa* عمدتاً در مناطق گرمسیری مخصوصاً جنوب لرستان، ایلام و خوزستان به صورت انبوه‌تری مشاهده می‌گردند (آخوندعلی و بهداروند، ۱۳۹۰). *Anchusa italica* را بیشتر می‌توان در تبریز، همدان، خرم‌آباد، تهران، سنندج و در تمام مناطق استان کرمانشاه یافت (Abass et al., 2009). گل‌گاوزبان گیاه دارویی نسبتا متداول است که از زمان باستان استفاده شده است. این گیاه به خاطر اثرات مفید بر ذهن، دفع سودا و شادابی معروف است. همچنین شاخ و برگ آن مدر می‌باشد و برای تسکین بافت‌های آسیب‌دیده و تحریک شده شده استفاده می‌شود (Hoffman, 2003). مطالعه ترکیبات فیتوشیمیایی اولین قدم در ارتباط با شناسایی ترکیبات با ارزش و امکان سنجی اصلاح گیاهان دارویی می‌باشد. با توجه به اینکه اطلاعات کمی در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی گونه‌های گل گاوزبان رویش یافته در غرب ایران وجود دارد، مطالعه حاضر جهت شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره هیدروالکلی ریشه، برگ و گل دو گونه گل گاوزبان ایران انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق طی سال‌های ۹۷ و ۹۸ در دانشگاه کردستان انجام شد. نمونه‌های گل مربوط به دو گونه *Anchusa italicaa* var. *kurdica* و *Anchusa strigosa* از سطح شهرستان سنندج جمع‌آوری شدند و گل‌ها در آزمایشگاه خشک شده و با آسیاب

آزمایشگاهی پودر شدند. استخراج عصاره از ۱۰ گرم پودر خشک حاصل از گل در دستگاه سوکسله توسط مخلوطی از حلال‌های متانول و اتانول و آب (نسبت به ترتیب ۱:۲:۲) با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر به مدت ۶ ساعت انجام شد. به منظور حذف حلال‌ها، عصاره‌های به‌دست آمده با دستگاه روتاری تحت عملیات تقطیر در خلأ قرار گرفتند. برای جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در عصاره حاصل از گل از دستگاه Agilent،GC/MS مدل A7890 و C5979 مجهز به ستون HPS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرومتر استفاده گردید. برنامه دمایی ستون ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت ۳ درجه بر دقیقه، گاز حامل، هلیم با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و مقدار اسانس تزریق شده به دستگاه ۱/۵ میکرولیتر بود. شناسایی اجزای فرار اسانس با استفاده از مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه آنها با اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS توسط برنامه کامپیوتری،زمان بازداری انجام شد.

**بحث و نتیجه**

بیشترین ترکیب موجود در عصاره گل *A. italicaa* var. kurdica به 5H-1-Pyrindine (C8H7N) به میزان ۲۵/۰۳ درصد بود (جدول ۱). ترکیبات دیگری نیز همانند Isosorbide Dinitrate، Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, cis، Benzyl-3,3-dimethyldiaziridine-1 و DL-2,3-Butanediol نیز در مقادیر بالای ۲ درصد مشاهده شد. ترکیب 5H-1-Pyrindine در بررسی های فیتوشیمیایی در Mukia maderaspatana (Ramamurthy and S. Krishnaveni, 2014) مشاهده شده است. عصاره حاصل از این گونه‌ها به ترتیب دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضد لاروی بوده است. بخشی از این خصوصیات می‌تواند به دلیل وجود 5H-1-Pyrindine در عصاره این گیاهان باشد. همچنین در بررسی اجزای مراتع و پوشش‌های آتش گرفته که به خاک وارد شده اند نیز یافت شده است (Kiersch et al., 2012). یکی از ترکیات با ارزشی که در عصاره گل گونه *Anchusa italica* var. Kurdica مشاهده شد، ترکیب Isosorbide dinitrate می‌باشد که در درمان آنژین قلبی، پیشگیری از حملات قلبی و نارسایی قلبی و بیماری اسپاسم مری استفاده می‌شود. این ترکیب به میزان ۶/۵۵ درصد کل ترکیبات موجود در عصاره زیرگونه kurdica وجود داشت. ترکیب Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, cis که در تحقیق حاضر شناسایی شد در عصاره برگ *Achyranthes aspera* (خاصیت قارچ کشی) (Rani and Santhi, 2016)، نیز گزارش شده است.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در عصاره گل خشک شده در گونه *Anchusa italica* var. Kurdica

| | نام ترکیب | فرمول | درصدترکیب | شاخص | وزن‌مولکولی |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Tridecane, 3-methyl | $C_{14}H_{30}$ | 0.838 | 11.184 | 136 |
| 2 | 1H-1,2,3-Triazol-1-amine, N-[(4-methylphenyl)methylene]-4-pheny | $C_{16}H_{14}N_4$ | 0.964 | 4.690 | 136 |
| 3 | 2-Heptenal, (E)- | $C_7H_{12}O$ | 0.987 | 5.714 | 136 |
| 4 | 1-Undecene, 4-methyl | $C_{12}H_{24}$ | 1.168 | 10.721 | 152 |
| 5 | 1,2,3-Propanetriol, monoacetate | $C_5H_{10}O_4$ | 1.361 | 9.531 | 148 |
| 6 | Decane | $C_{10}H_{22}$ | 1.380 | 12.323 | 196 |
| 7 | Hexane, 2,3,4-trimethyl | $C_9H_{20}$ | 1.695 | 8.003 | 196 |
| 8 | Diglycerol | $C_6H_{14}O_5$ | 2.047 | 8.106 | 136 |
| 9 | Undecane, 5,7-dimethyl | $C_{13}H_{28}$ | 2.663 | 7.911 | 148 |
| 10 | DL-2,3-Butanediol | $C_4H_{10}O_2$ | 3.078 | 7.196 | 166 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 164 | 17.324 | 4.554 | $C_{10}H_{14}N_2$ | 1-Benzyl-3,3-dimethyldiaz iridine | 11 |
| 238 | 17.879 | 5.429 | $C_{16}H_{16}$ | Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, cis- | 12 |
| 204 | 7.316 | 6.039 | $C_8H_{18}$ | Hexane, 3,3-dimethyl | 13 |
| 238 | 14.41 | 6.110 | $C_{14}H_{30}$ | Decane, 2,3,5,8-tetramethyl | 14 |
| 204 | 10.583 | 6.553 | $C_6H_8N_2O_8$ | Isosorbide Dinitrate | 15 |
| 192 | 11.264 | 6.957 | $C_{20}H_{42}$ | Eicosane | 16 |
| 178 | 13.748 | 8.24 | $C_{13}H_{28}$ | Tridecane | 17 |
| 192 | 7.677 | 25.032 | $C_8H_7N$ | 5H-1-Pyrindine | 18 |
| – | – | 85.095 | – | جمع | |

آنالیز GC-MS عصاره هیدروالکلی حاصل از گل در A. strigosa منجر به شناسایی ۲۳ ترکیب فیتوشیمیایی شد (جدول ۲). در این بین بیشترین میزان مربوط به Cyclobutane, 1,2-diphenyl، Hexadecane، Oxalic acid, isobutyl pentyl ester و Glycerin

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در عصاره گل خشک شده در گونه Anchusa italica var. Kurdica

| وزن‌مولکولی | شاخص | درصدترکیب | فرمول | نام ترکیب | |
|---|---|---|---|---|---|
| 192 | 5.651 | 0.49 | $C_{12}H_{16}O_2$ | Benzeneacetic acid, 1,1-dimethylethyl ester | 1 |
| 86 | 9.588 | 0.688 | $C_6H_{14}$ | Butane, 2,2-dimethyl | 2 |
| 162 | 12.243 | 0.711 | $C_6H_{10}O_5$ | 1,6-Anhydro-.beta.-D-glucofuranose | 3 |
| 128 | 10.333 | 0.847 | $C_9H_{20}$ | Nonane | 4 |
| 104 | 9.851 | 0.921 | $C_4H_8O_3$ | 3,4-Furandiol, tetrahydro-, cis | 5 |
| 142 | 14.658 | 1.087 | $C_{10}H_{22}$ | Octane, 2,7-dimethyl | 6 |
| 222 | 15.178 | 1.474 | $C_{12}H_{14}O_4$ | Diethyl Phthalate | 7 |
| 188 | 11.339 | 1.555 | $C_{12}H_{25}F$ | Dodecane, 1-fluoro | 8 |
| 86 | 9.467 | 1.596 | $C_4H_{10}N_2$ | 1,2,3-Trimethyldiaziridine | 9 |
| 166 | 7.974 | 1.671 | $C_6H_{14}O_5$ | Diglycerol | 10 |
| 128 | 12.506 | 1.891 | $C_8H_{16}O$ | 3,4-Dimethyl-5-hexen-3-ol | 11 |
| 124 | 12.924 | 2.162 | $C_6H_{14}O_2$ | 1,2-Butanediol, 3,3-dimethyl | 12 |
| 150 | 9.708 | 2.451 | $C_{10}H_{14}O$ | Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl | 13 |
| 117 | 7.674 | 3.719 | $C_8H_7N$ | 5H-1-Pyrindine | 14 |
| 212 | 14.223 | 3.923 | $C_{15}H_{32}$ | Dodecane, 2,6,11-trimethyl- | 15 |
| 282 | 14.188 | 4.21 | $C_{20}H_{42}$ | Eicosane | 16 |
| 306 | 14.233 | 4.705 | $C_{19}H_{30}O_3$ | Pentanoic acid, 5-hydroxy-, 2,4-di-t-butylphenyl esters | 17 |
| 184 | 16.717 | 4.758 | $C_{13}H_{28}$ | Tridecane | 18 |
| 92 | 10.761 | 5.336 | $C_3H_8O_3$ | Glycerin | 19 |
| 216 | 7.282 | 7.593 | $C_{11}H_{20}O_4$ | Oxalic acid, isobutyl pentyl ester | 20 |
| 226 | 10.566 | 14.097 | $C_{16}H_{34}$ | Hexadecane | 21 |
| 208 | 17.335 | 20.278 | $C_{16}H_{16}$ | Cyclobutane, 1,2-diphenyl | 22 |
| 192 | 5.651 | 0.49 | $C_{12}H_{16}O_2$ | Benzeneacetic acid, 1,1-dimethylethyl ester | 23 |
| – | – | 98.56 | – | جمع | |

بود که به میزان بیش از ۵ درصد کل اجزای عصاره وجود داشتند. از ترکیات فیتوشیمیایی مهم بین ۱ تا ۵ درصد عصاره هیدروالکلی می‌توان به Pentanoic acid, 5-hydroxy-, 2,4-di-t-butylphenyl esters، H-1-Pyrindine۵، Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl، Butanediol, 3,3-dimethyl-۱،۲- و Dimethyl-5-hexen-3-ol–۳،۴ اشاره کرد. ترکیباتی متعددی در

عصاره هیدروالکلی گونه A. strigosa وجود داشتند که در عصاره گونه *A. italica* var. kurdica دیده نشد. بیشتر این ترکیبات خصوصیات و ویژگی‌های دارویی شامل خصوصیات ضد اکسایشی، ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و سایر خصوصیات دارویی می‌باشند که نشان از ارزش دارویی هر دو گونه می‌باشد و اینکه چرا این دو گونه در طب سنتی غرب کشور از گل و پیکره رویشی آن به عنوان تسکین دهنده درد مورد استفاده قرار می‌گیرد.

**فهرست منابع:**

آخوند علی بهداروند، ع و بهداروند، م. ۱۳۹۰. طرح احیا و بهره‌برداری *Anchusa strigosa* در دزفول. اداره منابع طبیعی دزفول.

Abbas M, Disi A and Al-Khalil S. 2009. Isolation and identification of anti-ulcer components from *Anchusa strigosa* root. Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2(2): 131-139.

Hoffmann,J. 1998. Assessing the effects of environmental changes in a landscape by means of ecological characteristics of plant species. Landscape and Urban planning. 41:239-248.

Ramamurthy, V., & Krishnaveni, S. 2014. Larvicidal efficacy of leaf extracts of *Heliotropium Indicum* and Mukia maderaspatana against the dengue fever mosquito vector Aedes aegypti. Journal of Entomology and Zoology Studies. 2(5): 39-44.

Kiersch, K., Kruse, J., Eckhardt, K. U., Fendt, A., Streibel, T., Zimmermann, R. & Leinweber, P. 2012. Impact of grassland burning on soil organic matter as revealed by a synchrotron-and pyrolysis–mass spectrometry-based multi-methodological approach. Organic geochemistry. 44: 8-20.

Rani, J., & Shanthi, G. 2016. Studies on the antifungal activities the leaves of *Achyranthes aspera*. L against oral Candidiasis. Asian Journal of Innovative Research. 1(3): 42-47.

Turkmen N., Sarı F., Velioglu Y.S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry. 93: 713–718.

## Phytochemical evaluation of flower hydroalcoholic extract two borage species grown in Western Iran

***Yavar Vafaee*[1], *Hossein Maroufi*[2]**

*1- Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan*
*2- AREEO (Agricultural Research, Education and Extension Organization) Kurdistan*

**Abstract**

Medicinal plants have been used for long time in ancient civilization in Western Iran. In this regard two Iranian borage species including *Anchusa strigosa* and *Anchusa italicaa* var. *Kurdica* have been extensively used as food and medicine by local peoples. The study of phytochemical constituents is the first step for identification of medicinally valuable compounds and the possibility of medicinal plant breeding. As there is a linited information on Iranian borage phytochemicals, the present research was aimed to identify the phytochemical ingredient of hydroalcoholic extract of flower in two Iranian borage species. The GC-MS results identified different phytochemical ingredients in both species. In this connection, some compounds such as H-1-Pyrindine, Diethyl Phthalate, Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, trans and Isosorbide Dinitrate were at highest level among all identified phytochemicals.

**Keywords**: *Anchusa*, Borage, Gas-Chromatography, Phytochemicals.

# بررسی میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت ضداکسایشی عصاره هیدروالکلی ریشه، برگ و گل دو گونه گل گاوزبان ایرانی

**یاور وفایی*، حسین معروفی**
گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان
* y.vafaee@uok.ac.ir

**چکیده:**
در غرب ایران دو گونه گل گاوزبان *Anchusa italica* var. *kurdica* و *Anchusa strigosa* رویش دارند که برگ و گل آن‌ها به صورت خام و پخته استفاده می‌شود. ترکیبات فنولی گروهی از متابولیت‌های ثانویهٔ آروماتیک هستند که به طور گسترده در پیکره گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی همچون فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی دارند. در تحقیق حاضر میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت ضداکسایشی عصاره هیدروالکلی برگ، گل و ریشه دو گونه گل گاوزبان ایرانی بررسی شد. براساس نتایج، میزان فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت ضد اکسایشی عصاره اندام‌های گونه *Anchusa italica* var. *kurdica* بیشتر از گونه *Anchusa strigosa* بود. بین اندام‌های مورد مطالعه نیز عصاره هیدروالکلی حاصل از گل بالاترین مقادیر را دارا بود. فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش میزان فنل و فلاونوئید کل افزایش پیدا کرد. عملکرد آنتی‌اکسیدانی بالقوه عصاره گل به دلیل گروه‌های فنلی و به خصوص ترکیبات فلاونوئیدی است که به میزان بالایی در گل گاوزبان یافت می‌شود.
**کلمات کلیدی**: گل گاوزبان، ظرفیت ضداکسایشی، عصاره هیدروالکلی.

## مقدمه

گل‌گاوزبان گیاه دارویی مهمی است که از زمان باستان استفاده می‌شود. این گیاه به خاطر اثرات مفید بر ذهن، دفع سودا و شادابی معروف است. همچنین شاخ و برگ آن مدر می‌باشد و برای تسکین بافت‌های آسیب‌دیده و تحریک شده استفاده می‌شود (Al-Snafi, 2014). در ایران گونه‌های مختلف گیاهی همانند *Echium* و *Boragina* به عنوان گل‌گاوزبان شناخته می‌شود اما در غرب ایران دو گونه *Anchusa italica* var. *kurdica* و *Anchusa strigosa* به عنوان گاوزبان و در اصطلاح محلی "گُزِروان" شناخته می شوند. (Khatamsaz, 2003). با توجه به اینکه برگ و گل این دو گونه به عنوان داروی گیاهی استفاده گسترده‌ای در مناطق غرب ایران دارد و مطالعات کمی در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی آن‌ها صورت گرفته است؛ لذا شناسایی ترکیبات این دو گونه ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این تحقیق بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی، ظرفیت ضداکسایشی عصاره هیدورالکلی حاصل از برگ، ریشه و گل و نیز میزان فنل کل و فلاونوئید کل در دو گونه گل گاوزبان ایرانی می‌باشد.

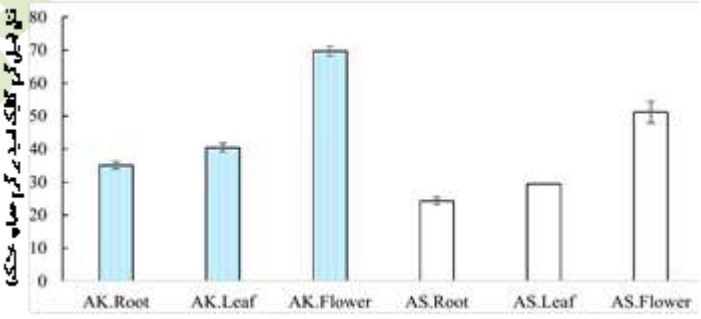
## مواد و روش‌ها

این تحقیق بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی و با سه تکرار طی سال‌های ۹۷ و ۹۸ انجام شد. در هنگام جمع‌آوری از هر قسمت گیاه (گل، برگ و ریشه) هر دو گونه ۳ نمونه در هر تکرار تهیه شد و نمونه‌ها در آزمایشگاه در سایه خشک شده، با

آسیاب آزمایشگاهی پودر شدند. استخراج عصاره از ۱۰ گرم پودر خشک حاصل از ریشه، برگ و گل در دستگاه سوکسله توسط مخلوطی از حلال‌های متانول و اتانول و آب (نسبت به ترتیب ۱:۲:۲) با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر به مدت ۶ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد به منظور حذف حلال‌ها، عصاره‌های به‌دست آمده با دستگاه روتاری تحت عملیات تقطیر در خلأ قرار گرفتند و در نهایت برای خشک کردن عصاره‌ها در دستگاه آون تحت خلا و با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. جهت استخراج فنل کل نمونه‌ها بر اساس روش معرف فولین–سیکالتیو صورت گرفت (Folin and Ciocalteu, 1927) و برای این کار از نمودار منحنی گالیک‌اسید استفاده شد. اندازه‌گیری فلاونوئید بر اساس رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی از همان نمونه‌هایی که جهت استخراج فنل و فلاونوئید به کاربرده شد، استفاده شد. برای این منظور با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH از روش (Sanchez-Moreno, 1998) استفاده شد. برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار MSTATC استفاده شد.

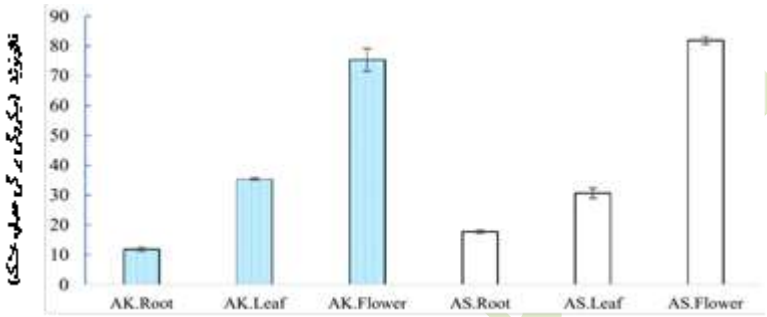
**نتیجه و بحث**

بر اساس نتایج، بیشترین میزان فنل کل در هر سه اندام مربوط به گل در گونه *A. italica* var. kurdica بود (شکل ۱). استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آنهاست زیرا وجود ترکیبات فیتوشیمیایی است که باعث اثر درمانی در گیاه می‌گردد. یکی از آنتی اکسیدان‌های دفاعی مهم در مقابل تنش اکسیداتیو ترکیبات فنلی هستند. تجمع ترکیبات فنلی در بافت های گیاهی برای تثبیت کربن فتوسنتزی و ارتقای سازوکارهای دفاعی بسیار مهم است. این ترکیبات با قابلیت آنتی اکسیدانی و سمیت زدایی رادیکال‌های اکسیژن باعث افزایش مقاومت گیاهان می‌شوند. عوامل متعددی مانند مراحل آماده‌سازی گیاه (نحوه خشک کردن، زمان و دمای عصاره‌گیری)، نمونه گیاهی (نوع گونه، جمعیت، اندام مورد استفاده، مرحله نمو)، شرایط محیطی گیاه (ساختار خاک، شرایط اقلیمی، تنش‌ها) و روش‌های سنجش می‌تواند بر میزان ترکیبات فنلی تاثیرگذار باشد (Moraes et al., 2008). نتایج بدست آمده در این پژوهش نیز بیانگر نقش موثر گونه گیاهی و جایگاه رویش با توجه به خصوصیات اکولوژیکی متفاوت آنها روی انباشتگی متابولیت‌های ثانویه بود.



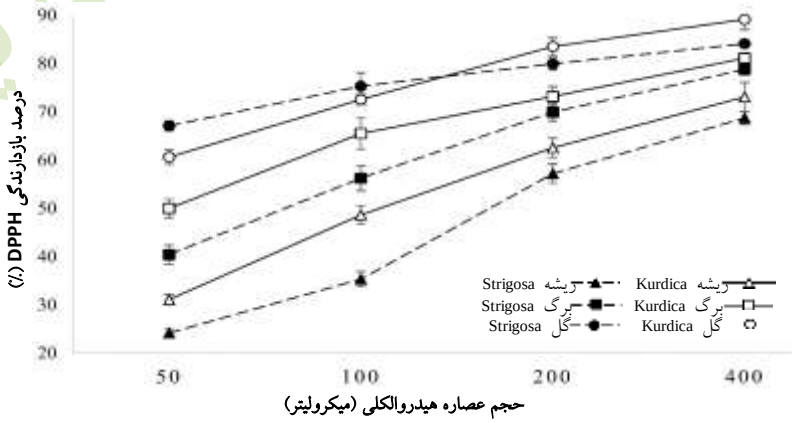

شکل ۱– میزان فنل کل در اندام‌های مختلف دو گونه گل گاوزبان ایرانی. AK: *Anchusa italica* var kurdica؛ AS: *Anchusa strigosa*. ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

بیشترین فلاونوئید کل به ترتیب در اندام ریشه و گل مربوط به گونه *A. strigosa* و در اندام برگ مربوط به گونه *A. italica var. kurdica* بود (شکل ۲). بین اندام‌های مختلف هر گونه هم بیشترین فلاونوئید مربوط به گل بود (شکل ۴-۲). فلاونوئید ها ترکیبات پلی فنلی با اسکلت کربنی C6-C3-C6 هستند و براساس ساختار شیمیایی به آنتوسیانین‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاوانون‌ها، فلاونول‌ها و کاتچین دسته‌بندی می شوند که دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند. فتحی و محمدی (۱۳۹۵) نشان دادند که در عصاره‌ی اندام هوایی و برگ گل‌گاوزبان محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی بالا و قابل توجه است. مشاهدات این تحقیق و همچنین نتایج سایر محققین نشان می‌دهد که نوع اندام مورد استفاده تاثیر شگرفی بر میزان متابولیت‌های ثانویه دارد.




شکل ۲- میزان فلاونوئید در اندام‌های مختلف دو گونه گل گاوزبان ایرانی. AK: *Anchusa italica* var kurdica؛ AS: *Anchusa strigosa*. ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH در عصاره‌ها با افزایش غلظت، بیشتر شد (شکل ۳). در هر دو گونه بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به اندام گل بود (به ترتیب ۸۹/۱۳ و ۸۴/۰۷ در گونه‌های *Anchusa italica* var. *kurdica* و *Anchusa strigosa*)، در حالی که کمترین میزان بازدارندگی در آزمون DPPH مربوط به ریشه بود. در بررسی میزان فنل کل و فلاونوئید کل هم بیشترین میزان این ترکیبات در اندام گل هر دو گونه گل‌گاوزبان مشاهده شد. مطالعات نشان داده است که ارتباط مستقیمی بین میزان فنل کل و فلاونوئید کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (Turkmen and Velioglu, 1998). عملکرد آنتی‌اکسیدانی بالای اندام گل گل‌گاوزبان به دلیل گروه‌های فنلی و به خصوص فلاونوئیدی است که به میزان بالایی در گل این گیاه یافت می شود.



شکل ۳- درصد بازدارندگی عصاره ریشه، برگ و گل دو گونه *A. italica var.* kurdica و *A. strigosa* در ۴ غلظت ۵۰؛ ۱۰۰؛ ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر عصاره هیدروالکلی.

**فهرست منابع:**

Al-Snafi, A. E. 2014. The pharmacology of Anchusa italica and Anchusa strigosa–A review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6(4): 7-10.

Folin, O. and Ciocalteu, V. 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. Journal of biological chemistry. 73(2): 627-650.

Khatamsaz, M. 2002. Anchusa – In: Assadi, M., Khatamsaz, M. & Maassoumi, A.A. (eds), Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. 39: 191-214.

Moraes de souza R, A., Oldoni, T.L.C., Regitano, D., Arce, M.A.B. and Alencar, S.M. 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. Ciencia Tecnololia de Alimentos. 6(1): 41-7.

Turkmen N., Sarı F., Velioglu Y.S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry. 93: 713–718.

## The evaluation of phenol, flavonoid and antioxidant activity of hydroalcoholic extract from root, leaf and flower in two Iranian borage species

***Yavar Vafaee*[1] , *Hossein Maroufi*[2]**

*1- Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan*

*2- AREEO (Agricultural Research, Education and Extension Organization) Kurdistan*

**Abstract**:

*Anchusa strigosa* and *Anchusa italica* var. *Kurdica* are two borage species grown in West of Iran which their leaf and flowers are used as raw and cooked. Phenolic compounds comprises a group of secondary aromatic metabolites with anti-oxidant and anti-bacterial impacts that are extensively distributed in plant tissues. In the present research, the level of total phenols, total flavonoid and antioxidant activity of hydro-alcoholic extract obtained from leaf, flower and root of two Iranian borage species was studied. Based on the results, the content of total phenols and total flavonoid and the antioxidant capacity of *Anchusa italica* var. *Kurdica* was higher than extracts obtained from *Anchusa strigosa.* Among studied organs, the hydro-alcoholic extract of flowers represented the highest values for evaluated attributes. The antioxidant activity was enhanced with increased content of phenol and flavonoid. The higher antioxidant activity of flower extract can be due to the presence of phenolic compounds in particular flavonoids.

**Keywords**: Antioxidant activity,Borage, Hydro-alcoholic extract

# مقایسه نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تحمل به تنش خشکی در گیاهان طبیعی وموتانت M1 کرچک

***سارا شریفی سلطانی، سید کمال کاظمی‌تبار**، غلامعلی رنجبر، علی پاکدین پاریزی، حمید نجفی زرینی***

*۱- دانشجوی دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری*

*۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری*

*sdklkr@ymail.com*

**چکیده:**

به‌منظور مقایسه نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تحمل به تنش خشکی در گیاه کرچک آزمایشی در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. به‌منظور بررسی تحمل خشکی اکوتیپ مادری به همراه اکوتیپ‌های موتانت نسل $M_1$ با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل ٤ اکوتیپ و فاکتور دوم تنش خشکی با ۳سطح (شاهد و دو سطح ۱۱، ۲۲ روز بعد از قطع آبیاری) بود. صفات آزمایش شامل آنزیم-های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اکوتیپ، تنش و اثر متقابل‌شان در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که با افزایش سطح تنش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. بیشترین میزان آنزیم‌ها در اکوتیپ تیمار شده با امواج فراصوت در شرایط تنش مشاهده گردید. بنابراین می‌توان گفت که جهش با امواج فراصوت نسبت به اتیل متان سولفانات تاثیر مطلوبی در ایجاد موتانت متحمل به خشکی داشته است.

**کلمات کلیدی:** پراکسیداز، تنش کم‌آبی، موتاسیون، کرچک

**مقدمه**

تنش خشکی از جمله تنش‌های محیطی است که علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). کرچک (*Ricinus Communis*) متعلق به تیره فرفیون در مناطق گرمسیری رشد می‌یابد و منشا آن غرب آفریقا است (انجانی، ۲۰۱۲). اتیل متان سولفانات (EMS) به عنوان یک موتاژن شیمیایی به‌طور گسترده‌ای به منظور القای جهش نقطه‌ای در گیاهان استفاده می‌شود (یانکوویچ- سیسکاک و تیل، ۲۰۱٦). استفاده از امواج فراصوت یکی از روشهای موجود در بررسی فرایندهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک می‌باشد (فاریابی و همکاران، ۱۳۸۷). گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی دارند (میلر، ۲۰۱۰). رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در نتیجه تنش‌های مختلف محیطی تولید می‌شوند برای اجزای سلولی بسیار خطرناک هستند بنابراین باید به دقت تنظیم گردند. گیاهان چندین سیستم آنتی-اکسیدانی را برای مقابله با این ترکیبات کشنده توسعه داده‌اند از جمله کاتالازها (CAT)، پراکسیدازها (POD)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و ... که در پاسخ بیوشیمیایی گیاهان در مقابل تنش خشکی فعال می‌شوند (یانگ و همکاران، ۲۰۱۷). باتوجه به اینکه کشت کرچک به مناطق خشک و نیمه خشک گسترش یافته و لاجرم تنش خشکی از عوامل

تاثیرگذار در این مناطق است لذا در مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر موتاسیون بر میزان تحمل به تنش خشکی با بررسی صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اکوتیپ‌های کرچک انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۹۸-۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی ساری با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ٤ اکوتیپ کرچک (کوتیپ وحشی (شهرستان ساری، اکوتیپ جهش یافته با اولتراسوند، اکوتیپ جهش یافته با EMS با غلظت ۲۵ میلی‌مولار، اکوتیپ جهش یافته با EMS با غلظت ۵۰ میلی‌مولار) و فاکتور دوم تنش خشکی با ۳ سطح (صفر (آبیاری کامل)، ۱۱ و ۲۲روز بعد از قطع آبیاری) بود. بذور بعد از ضدعفونی کامل با هیپوکلرید سدیم (وایتکس) و قارچکش کربوکسی تیرام (ویتاواکس)، در گلدان‌ها کشت گردید. آبیاری براساس نیاز گیاه و باتوجه به توصیه-های زراعی انجام گردید. تنش خشکی در اوایل رشد سنبله اعمال شد.

## روش‌های اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی

فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش ابی (۱۹۸٤) و بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد. آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز مطابق روش تانگ و نیوتن (۲۰۰۵) مورد سنجش قرار گرفت در نهایت اعداد جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤۷۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) مطابق با روش یوشیمورا و همکاران (۲۰۰۰) سنجیده شد. واکنش اکسیداسیون بستگی به حضور آسکوربیت در این محلول دارد که در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

## نتایج و بحث

تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی و اثر متقابل آن‌ها بر تمامی صفات مورد بررسی از لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

**جدول ۱- تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اکوتیپ‌های مختلف (اکوتیپ مادری و موتانت) کرچک تحت تنش خشکی**

| منابع تغییر | درجه آزادی | کاتالاز (بر حسب u/gr.plant) | گایاکول پراکسیداز برحسب u/gr.plant) | آسکوربات (بر حسب u/gr.plant) |
|---|---|---|---|---|
| اکوتیپ | ۲ | ۲٤۹٦/۲۱** | ٤۷۰۰/۷۹** | ۲۱۹۰/٤۲** |
| خشکی | ۳ | ۸۳۳/٦۷** | ۱۱٦۸/۱۹** | ۷۸۰/٦۱** |
| اکوتیپ× خشکی | ٦ | ۱۰٤۳/۲۲** | ۱٤۷٦/۱۸** | ۹٤۹/٤۲** |
| خطا | ۲٤ | ۸/۹٤ | ۲/۸۲ | ۹/۹۳ |
| cv | - | ۹/۷۳ | ٤/۱۹ | ۱۰/۸۹ |

***و** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و یک درصد  ns عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد**

این موضوع نشان داد که صفات کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات تحت تاثیر اثرات اصلی و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفته است. باتوجه به مقایسات میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و اکوتیپ‌ها می‌توان اظهار کرد که مقادیر کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با افزایش سطح تنش افزایش یافتند. ( جدول ۲).

در بررسی که ب ساجدی و همکاران (۲۰۱۲) برروی گیاه روغنی گلرنگ تحت تنش کم‌آبی صورت گرفت.نتایج نشان داد که اثر متقابل تنش کمبود آب و رقم اثر معنی‌داری برروی کاتالاز و محتوای مالون‌دی‌الدهید دارد. در واقع تنش کم‌آبی در مقایسه با تیمار شاهد به‌میزان قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌ها را افزایش داد. در بررسی حیدری و همکاران (۱۳۹۷) که برروی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه روغنی لوبیا تحقیق کردند نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت.

**جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل خشکی در اکوتیپ بر صفات مورد بررسی**

| اکوتیپ در تنش خشکی Ecotype × Drought | کاتالاز | گایاکول پراکسیداز | آسکوربات |
|---|---|---|---|
| E1S0 | 35.34 C | 50.54 E | 32.61 C |
| E1S1 | 44.58 B | 63.03 B | 42.59 B |
| E1S2 | 0 E | 0 G | 0 E |
| E2S0 | 27.73 D | 43.97 F | 25.98 D |
| E2S1 | 45.67 B | 53.97 DE | 43.17 B |
| E2S2 | 61.98 A | 73.22 A | 59.42 A |
| E3S0 | 32.62 C | 42.28 F | 30.11 CD |
| E3S1 | 42.95 B | 55.41 CD | 40.38 B |
| E3S2 | 0 E | 0 G | 0 E |
| E4S0 | 34.25 C | 42.59 F | 31.77 C |
| E4S1 | 43.50 B | 56.47 C | 41.04 B |
| E4S2 | 0 E | 0 G | 0 E |

## نتیجه‌گیری

بیشترین میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیمار با امواج فراصوت در مقایسه با افزایش سطح تنش (۲۲ روز بعد از قطع آبیاری) بدست آمد که می‌توان نتیجه‌گیری کرد احتمالا این آنزیم‌ها باعث مقاومت گیاه را در برابر تنش خشکی شدند و گیاه زنده ماند در حالیکه سایر اکوتیپ‌ها از بین رفتند لذا توصیه می‌شود کارهای تحقیقاتی بیشتری به‌منظور کاربرد سایر مواد موتاسیون‌زا (شیمیایی و فیزیکی) برروی گیاه کرچک که مطالعات اندکی برروی آن صورت گرفته انجام شود.

## منابع

حیدری، م.، طالعی، ع.ر.، عباسی، ع.ر. ۱۳۹۷. بررسی اثر تنش خشکی بر مولفه‌های جوانه زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phasseolus vulgaris* L.). نشریه علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۹ (۱): ۲۷-۱۱.

**فاریابی، ا.، زارع‌منش، ح.، کشوری، م. ابدالی، ن.** ۱۳۸۷. بررسی تاثیر امواج فراصوت بر فرایندهای فیزیولوژیکی تنژیدن بذور فلفل دلمه و تربچه. مقالات اولین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر ایران، گرگان، ۲۳-۲۲ آبان. صفحه ۲۲۱.

Aebi/ H. (1984). Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*. Academic Press. 105:121-126.

Anjani/ K. (2012). Castor genetic resources: A primary gene pool for exploitation. *Industrial Crops and Products.* 35: 1–14.

Jankowicz-Cieslak/ J. and Till, B.J. (2016). Chemical Mutagenesis of Seed and Vegetatively Propagated Plants UsingEMS.Curr. Protoc. *Plant Biology.* 1: 617–635.

Miller/ G.,Suzuki/ N. andCiftci-Yilmaz/ S. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalingdu-ring drought and salinity stresses. *Plant Cell and En-viro*. 33:453-467.

Sajedi/ N. A., Ferasat/ M., Mirzakhani/ M. and Boojar/ M. M. A. (2012). Impact of water deficit stress on biochemical characteristics of safflower cultivars. *Physiology and Molecular Biology of Plants.* 18(4): 323-329.

Sharma/ P., Jha/ A., Dubey/ R. and Pessarakli/ M. (2012).Reactive oxygen species, oxidative damage, and anti-oxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*. 14:1-26.

Tang/ W. and Newton/ R. J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*. *46*(1): 31-43.

Yang/ G., Yu/ L., Zhang/ K., Zhao/ Y., Guo/ Y., Gao/ C. (2017) AThDREBgene fromTamarix hispidaimproved the salt and drought tolerance of transgenic tobacco and T. hispida. *Plant Physiology and Biochemistry.* 113:187–197.

Yoshimura/ K., Yabuta/ Y., Ishikawa/ T., & Shigeoka/ S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant physiology*. *123*(1):223-234.

## Comparison of antioxidant enzymes role in drought tolerance in natural and M1 mutant ecotypes of Castor bean

***Sara Sharifi Soltani, Seyed Kamal Kazemi Tabar, Golam Ali Ranjbar, Ali Pakdin Parizi, Hamid Najafi Zarini***

## Abstract:

In order to comparison of antioxidant enzymes in drought tolerance of castor bean, an experimental study was conducted at the research greenhouse of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources in 2019-2020. In order to evaluate the drought tolerance of the native ecotype with M1 generation mutant ecotypes, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. The first factor consisted of 4 ecotypes and the second factor was drought stress with 3 levels (control and two levels 11, 22 days after irrigation cut off). Experimental traits included catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase. The results of variance analysis showed that the effect of ecotype, stress and their interaction were significant at the level of one percent. The results of variance analysis showed that the amount of antioxidant enzymes increased with increasing stress level. The highest amount of enzymes was observed in ultrasound-treated ecotypes under stress conditions. Therefore, in concluded, the mutation with ultrasound in comparison to ethyl methane sulfate had a favorable effect on the formation of drought tolerant mutants.

***Key words:*** Peroxidase, Water deficit stress, Castor bean**,** Mutation

# بهینه‌سازی تولید فیکوسیانین در *Spirulina* با استفاده از روش RSM

**لیلا زرندی میاندوآب * ، انیس رنجبرزاد حق، نادر چاپارزاده**
گروه زیست شناسی دانشکده، علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
* zarandi@azaruniv.ac.ir

**چکیده**

فیکوسیانین قویترین آنتی‌اکسیدان طبیعی است که تولید بیشینه آن مورد توجه است. به منظور القاء تولید فیکوسیانین توسط *Spirulina* آزمایشی به روش رویه سطح پاسخ با استفاده از نرم افزار Design-Expert10 با سه فاکتور تاثیرگذار کیفیت نور، غلظت گلوکز و هیپوکلریت‌سدیم طراحی و طی یک هفته اجرا شد. آنالیز داده‌ها نشان داد نور قرمز با طول موج ٦٤٠ نانومتر، گلوکز ۲۵ گرم‌برلیتر و هیپوکلریت‌سدیم ۰/۰۱۲٪ منجر به افزایش رشد تا حدود ۲/۵ گرم برلیترخواهد شد. برای تولید فیکوسیانین به بیشینه مقدار (٤ میلی‌گرم برگرم وزن تر) باید سلول‌ها در نور سبز (٥٤٢ نانومتر) و گلوکز ۲٦/۷ گرم‌برلیتر و هیپوکلریت‌سدیم ۰/۰۲۲٪ قرار داده شوند. نور قرمز با افزایش کارایی فتوسنتز منجر به افزایش رشد می‌شود. اما چون کلروفیل قادر به جذب و استفاده از نور سبز نیست، فیکوسیانین به‌عنوان رنگدانه کمکی بیشتر سنتز و انباشته می‌شود. احتمالاً تنش اکسیداتیو هم در تحریک تولید فیکوسیانین موثر است.

**واژه‌های کلیدی**: *Spirulina* ، بهینه‌سازی، گلوکز، نور، رنگدانه‌های فتوسنتزی.

**مقدمه**

*Spirulina* ، یک جلبک پروکاریوتی متعلق به شاخه Cyanophyta می‌باشد که در آب‌های شیرین قلیایی به‌خوبی رشد می‌کند. این سیانوباکتر **اتوهتروتروف** است یعنی علاوه بر فتوسنتز، توانایی استفاده از مواد آلی موجود در محیط را نیز دارد [۱]. امروزه *Spirulina* به دلیل دارا بودن مقادیر قابل ملاحظه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از جمله فیکوسیانین، کلروفیل و کاروتنوئید بسیار مورد توجه متخصصین علوم پزشکی، دارویی، زیست‌شناسی و صنایع غذایی می‌باشد [۲]. از جمله فواید *Spirulina* که به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تولید رنگدانه فیکوسیانین مرتبط است، می‌توان به مواردی همچون تقویت سیستم ایمنی بدن، کنترل کلسترول، بهبود عملکرد سیستم گوارش، کمک به هضم غذا، کاهش خطر ابتلا به سرطان، اثرات ضدویروسی، مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدها، محافظت‌کننده کبد و ضد التهاب اشاره کرد [۳]. افزایش رشد و تولید فیکوسیانین یکی از اهداف و چالش‌های مهم صنعت استخراج آنتی‌اکسیدان از منابع طبیعی می‌باشد. استفاده از یک منبع هیدرات‌کربنی مازاد در محیط کشت با رویکرد قابلیت فتوهتروتروفی سیانوباکتر در رشد و تولید فیکوسیانین توسط *Spirulina* اثر مثبت و تقویتی داشته است [٤]. همچنین تیمار کشت جلبکی با طول موج‌های مختلف نتایج درخور توجه در پی داشته است. نتایج آزمایشات لی و همکاران در سال ۲۰۱٦ نشان داد که میزان فیکوسیانین در نور آبی و توده‌سلولی در نور قرمز افزایش یافت [٥]. استرس اکسیداتیو نیز منجر به تغییر در متابولیسم و

بیوسنتز رنگدانه‌ها می‌شود [٦]. از اینرو برای بررسی اثر کیفیت نور (آبی، سبز و قرمز)، قند گلوکز و ماده هیپوکلریت‌سدیم (مولد سوپراکسید) بر رشد و تولید فیکوسیانین از روش **رویه سطح پاسخ** استفاده شد.

مواد و روش‌ها

**طراحی آزمایش و آنالیز داده‌ها**

یکی از راهکارهای دستیابی به حداکثر سود و بهبود عملکرد یک سیستم، فرایند یا تولید با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره **بهینه‌سازی**[3] است. از میان چندین روش موجود، روش رویه سطح پاسخ (**R**esponse **S**urface **M**ethodology) رایج‌ترین روش موجود است. این روش اولین بار توسط باکس و همکاران در دهه ۱۹۵۰ ایجاد شد. روش **RSM** مجموعه‌ای از تکنیک های ریاضی و آماری است که برای مدل‌سازی و تجزیه و تحلیل مورد استفاده قرار می‌گیرد که در آن پاسخ مورد نظر، تحت تأثیر چندین متغیر مختلف است. هدف از روش سطح پاسخ، یافتن بهترین مجموعه از سطوح عوامل برای رسیدن به بعضی ویژگی‌های خاص می‌باشد. طراحی آزمایش در طرح باکس بنکن با سه کیفیت نور (نانومتر) آبی (٤٥٠)، سبز (٥٤٥) و قرمز (٦٤٠)، سه سطح گلوکز صفر، ۲۵ و ۵۰ (گرم بر لیتر) و سه غلظت از ماده اکسیدان هیپوکلریت‌سدیم ۰، ۰/۰۲ و ۰/۰٤ درصد صورت گرفت که منجر به ۱۳ سری آزمایش شد (جدول ۱). طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Design-Expert10 صورت گرفت.

| سری آزمایش | Light | Glucose | NaClO |
|---|---|---|---|
| 1 | 640 | 25 | 0 |
| 2 | 450 | 25 | 0.04 |
| 3 | 450 | 50 | 0.02 |
| 4 | 640 | 25 | 0.04 |
| 5 | 640 | 0 | 0.02 |
| 6 | 450 | 25 | 0 |
| 7 | 545 | 50 | 0 |
| 8 | 545 | 0 | 0 |
| 9 | 545 | 50 | 0.04 |
| 10 | 545 | 0 | 0.04 |
| 11 | 545 | 25 | 0.02 |
| 12 | 640 | 50 | 0.02 |
| 13 | 450 | 0 | 0.02 |

**شرایط کشت *Spirulina sp***

برای تکثیر سلول‌های *Spirulina* از محیط کشت مایع Zarrouk استفاده شد [۷] و نمونه‌ها به مدت یک هفته در شرایط نور مداوم با شدت ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و دمای ۱±۳۲ درجه سانتیگراد تحت تیمارهای طراحی شده توسط نرم‌افزار Design-Expert10 در محیط آزمایشگاه انکوبه شدند.

**اندازه‌گیری رشد**

[3] Optimization

۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت رسوبگیری (۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دورد در دقیقه) و وزن‌تر و خشک نمونه‌ها با استفاده از ترازوی حساس اندازه‌گیری شد. ماده تر به مدت ۲٤ ساعت در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و ماده خشک هر تیمار برحسب گرم‌برلیتر محیط کشت اندازه‌گیری گردید.

**سنجش رنگدانه‌ها**

رنگدانه‌های فتوسنتزی به روش Lichtenthaler [۸] و فیکوبیلی‌پروتئین‌ها به روش Wayman [۹] اندازه‌گیری شدند. مقدار کلروفیل و کاروتنویید برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر و غلظت فیکوبیلی پروتئین‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن‌تر گزارش گردید.

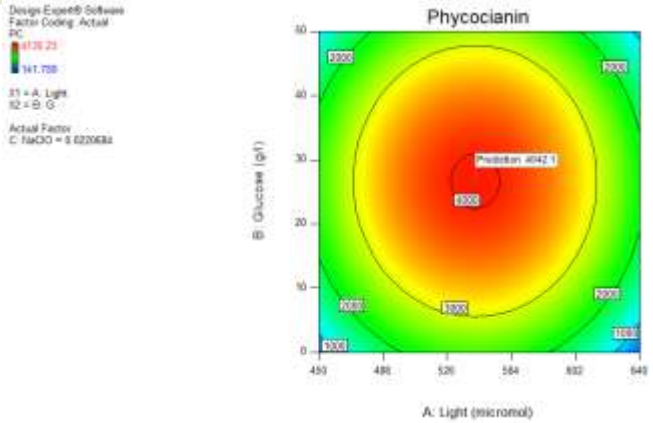
**نتایج و بحث**

داده‌های حاصل از محاسبه مقادیر رشد و رنگدانه‌ها وارد نرم‌افزار شد و مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج حاصل به‌صورت جدول ۲ جمع‌آوری شد. مدل حاصل از داده‌های همه صفات اندازه‌گیری شده با توجه به مقادیر p و F معنی‌دار است و با توجه به هدف تعیین شده برای هر کدام از صفات، نقطه بهینه پیش‌بینی شده متفاوت خواهد بود که در جدول ۲ مشخصات نقطه بهینه ارائه شده است.

جدول۲- نتایج حاصل از آنالیز مدل و پیش‌بینی نقطه‌بهینه برای پاسخ‌های مورد نظر.

| پاسخ | معنی داری مدل | | نقطه بهینه | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | P | F | هدف | کیفیت نور | گلوکز | هیپوکلریت سدیم | مقدار پیش بینی شده |
| وزن خشک | ۰/۰۰٤۰* | ۵/۹۳ | بیشترین | ٦٤۰ | ۲۵/۰۸ | ۰/۰۱۲ | ۲/٤۷۵ گرم‌برلیتر |
| فیکوسیانین | ۰/۰۰۰۱* | ۱٦/۹۳ | بیشترین | ۵٤۲ | ۲٦/٦۸ | ۰/۰۲۲ | ٤۰٤۲ میکروگرم بر گرم وزن‌تر |
| فیکواریترین | ۰/۰۳۸۵* | ۲/۸۳ | کمترین | ٦۱۵ | ۰/۰۲ | ۰/۰۰۰۰۲۷ | ۰ میکروگرم بر گرم وزن‌تر |
| آلوفیکوسیانین | ۰/۰۱۵٦* | ۳/۷ | کمترین | ٤۵۹ | ٤۹/۹۵ | ۰/۰۰۰۰۱۷ | ۰/۰۲ میکروگرم بر گرم وزن‌تر |
| کلروفیل‌ها | ۰/۰۰۰۳* | ۷/۹ | کمترین | ٦۲۰ | ٤٤/۰۷ | ۰/۰۳۹ | ۷۸/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر |
| کاروتنوئیدها | ۰/۰۰۰۱* | ۲۲/۷۷ | کمترین | ۵٦۳ | ۳۱/۹ | ۰/۰۳۹ | ۰ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر |

نقطه بهینه برای بیشینه تولید فیکوسیانین و کمینه تولید سایر رنگدانه‌ها هم در نور سبز (۵۵۰ نانومتر)، مقدار گلوکز ۳۱/۹٦ گرم بر لیتر و مقدار هیپوکلریت‌سدیم ۰/۰۳٦ درصد پیش‌بینی می‌شود. نمودار کانتر رسم شده توسط نرم‌افزار حاکی از اهمیت بالای نور سبز در تولید فیکوسیانین می باشد. مقادیر متوسط گلوکز و NaClO نیز در تولید بیشینه فیکوسیانین نقش دارند (نمودار ۱).




نمودار۱- ***Error! No text of specified***

با توجه به اهمیت کیفیت نور در تغییر و یا تعدیل متابولیسم سلولی، مشاهده می‌شود که نور قرمز می‌تواند منجر به افزایش وزن خشک و رشد *Spirulina* شود. با توجه به کارایی بالای نور قرمز در فتوسنتز افزایش تولید و ماده‌سازی انتظار می‌رود [۱۰]. نور سبز چون توسط کلروفیل یعنی رنگدانه اصلی فتوسنتزی جذب نمی‌شود و در این شرایط نیاز به حضور و عملکرد رنگدانه کمکی افزایش می‌یابد، بنابراین این پیش‌بینی نیز کاملاً مطابق با بیولوژی و رفتار فیزیولوژیک جلبک می‌باشد. وجود مقدار مناسبی از قند گلوکز به‌عنوان منبع هیدرات کربن که بصورت تغذیه هتروتروفی مورد استفاده سلول‌های سیانوباکتر قرار می‌گیرند به رشد و تولید رنگدانه فیکوسیانین کمک می‌کند. همچنین تنش اکسیداتیو حاصل از افزودن هیپوکلریت سدیم نیز تاثیر قابل توجهی در تولید و انباشتگی فیکوسیانین دارد.

**فهرست منابع:**

1. Setyoningrum, T.M. and M.A. Nur, *Optimization of C-phycocyanin production from S. platensis cultivated on mixotrophic condition by using response surface methodology.* Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2015. **4**(4): p. 603-607.
2. Gabr, G.A., S.M. El-Sayed, and M.S. Hikal, *Antioxidant Activities of Phycocyanin: A Bioactive Compound from Spirulina platensis.* Journal of Pharmaceutical Research International, 2020: p. 73-85.
3. Yu, P., et al., *Purification and bioactivities of phycocyanin.* Critical reviews in food science and nutrition, 2017. **57**(18): p. 3840-3849.
4. Chen, F., Y. Zhang, and S. Guo, *Growth and phycocyanin formation of Spirulina platensis in photoheterotrophic culture.* Biotechnology letters, 1996. **18**(5): p. 603-608.
5. Lee, S.-H., et al., *The production of high purity phycocyanin by Spirulina platensis using light-emitting diodes based two-stage cultivation.* Applied biochemistry and biotechnology, 2016. **178**(2): p. 382-395.
6. Boonma, S., et al., *The FinR-regulated essential gene fprA, encoding ferredoxin NADP$^+$ reductase: Roles in superoxide-mediated stress protection and virulence of Pseudomonas aeruginosa.* PloS one, 2017. **12**(2): p. e0172071.
7. Zarrouk, C., *University of Paris; France: 1966. Contribution a l'etude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setchell et Gardner) Geitler*, Ph. D. thesis.
8. Lichtenthaler, H.K., *[34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes.* Methods in enzymology, 1987. **148**: p. 350-382.
9. Wayman, M. and P. Fay, *Underwater light climate and the growth and pigmentation of planktonic blue green algae.* Proc. R. Soc. London B, 1986. **227**: p. 381-393.
10. Shi, W.-q., et al., *Investigation of main factors affecting the growth rate of Spirulina.* Optik, 2016. **127**(16): p. 6688-6694.

# Optimization of phycocyanin production in *Spirulina* using RSM

***Leila Zarandi-Miandoab**, Anis Ranjbarzad-Hag, Nader Chaparzadeh***

*Department of Biology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran*
*Corresponding author's Email: zarandi@azaruniv.ac.ir*

**Abstract**

Phycocyanin is the most potent natural antioxidant whose maximum production is considered. In order to induce phycocyanin production by *Spirulina*, an experiment was designed by Response Surface Method using Design-Expert10 software with three effective factors of light quality, glucose concentration and sodium hypochlorite and was performed within a week. Data analysis showed that red light of 640 nm, 25 g $l^{-1}$ glucose and 0.012% hypochlorite sodium will increase growth to about 2.5 g $l^{-1}$. To produce the maximum amount of phycocyanin (4 $mgg^{-1}$ F.W), cells must be exposed to green light (542 nm), 26.7 glucose g $l^{-1}$, and 0.02% sodium hypochlorite. Red light increases growth by increasing photosynthetic efficiency. But because chlorophyll is unable to absorb and use green light, phycocyanin is further synthesized and accumulated as an auxiliary pigment. Oxidative stress may also be involved in stimulating phycocyanin production.

**Key words**: *Spirulina*, Optimization, Glucose, Light, Photosynthetic pigments.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# نقش مالتوز بر افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی پسته (*Pistacia vera* L.) رقم احمدآقایی

***اکبری افزادی، جواد[1]* و پاک کیش، زهرا***

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

***E-mail:aminreza1390@yahoo.com***

۲- دانشیار بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

***Email: zahrapakkish@uk.ac.ir***

**چکیده**

امروزه تیمارهای زیادی به منظور بهبود رشد رویشی و زایشی در بسیاری از محصولات کشاورزی در دنیا تحت شرایط تنش استفاده می شود. هدف از انجام این تحقیق، افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی درخت پسته با استفاده از تیمار مالتوز (۰، ۱۰ و ۲۰درصد) روی پسته رقم آحمدآقایی بوده است. بدین منظور محلول پاشی روی درختان در مرحله اوایل تشکیل میوه و آزمایش به صورت یک آزمایش طرح بلوک های کامل تصادفی با ٤ تکرار انجام شد. مقایسه میانگین ها نشان داد تیمار مالتوز ۲۰درصد تاثیر معنی داری در افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی، نشان دادند.. طبق نتایج ، تیمار مالتوز ۲۰درصد بهترین اثر را روی بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی درخت پسته داشت.

**واژه های کلیدی:** مالتوز، پسته، ویژگی های آنتی اکسیدانی

**مقدمه**

پسته (*Pistacia vera*) یکی از محصولات کشاورزی است که با نام ایران در آمیخته و تولید آن در کشور ما سابقه تاریخی و طولانی دارد. بسیاری از محققان، ایران را کشور باغبانی می دانند. در بین محصولات باغبانی کاشت و پرورش پسته، از گذشته ای خیلی دور در ایران متداول بوده است. به تایید بسیاری از محققین، ایران یکی از رویشگاه های اصلی پسته بوده و هم اکنون نیز جنگل های وسیع پسته های خودرو در شمال شرق ایران مورد بهره برداری قرار می گیرد. بررسی تاریخی کاشت پسته نشان می دهد که در هر دوره ای یکی از مناطق ایران، بیشتر از سایر مناطق به کاشت و پرورش پسته اختصاص داشته است. در روزگاری پسته گرگانی و پسته سبزواری شهرت داشته است ودرحال حاضرنیز پسته کرمان صاحب نام و آوازه است (درویش ، ۱۳٤٦ و درویشیان، ۱۳۷۸).

پسته گونه ای درختی و دو پایه است و به طور وسیعی در نواحی مدیترانه ای اروپا، شمال آفریقا، خاورمیانه، چین و کالیفرنیا کاشته می شود (درویشیان، ۱۳۷۸). پسته گیاهی دو پایه بوده و گل آذین های نر و ماده آن هر دو به صورت خوشه هستند که ممکن است هر کدام حاوی یکصد تا چند صد گل منفرد باشند( Crane and Iwakiri, (1980). گل آذین ها به طور معمول همزمان با شکفتن جوانه های برگ ظاهر می شوند، که این روند با توجه به شرایط آب و هوایی، مقدار سرمای زمستانه و نوع رقم تغییر می نماید(شیبانی، ۱۳۷۳ و Crane, 1985)، همه گونه های پسته دو پایه هستند (گل های نر و ماده روی درختان مجزا تولید می شوند) درختان نر تولید گرده فراوان می کنند به طوری که در بیشتر باغ ها فقط یک درخت نر به ازای ۱۰ تا ۱۲ درخت ماده وجود دارد، اما نسبت رایج ترکیب درخت نر به ازای هر ۸ درخت ماده است (Thakur and Rathore, 1991).

قندهای ساده به‌صورت‌مستقیم و غیرمستقیم‌برفعالیت‌های‌فیزیولوژیک، رشد و نموگیاه‌موثر واقع‌می‌شوند (حاج سیدهادی و همکاران،۱۳۸۹). اسیدهای آمینه با اثر بر افزایش تحمل به تنش های محیطی، افزایش غلظت کلروفیل و در نتیجه اثر بر فتوسنتز بر رشد و عملکرد گیاهان موثر واقع می شوند (پوریوسف میاندوآب و شهروان،۱۳۹۳). مالتوزدی‌ساکاریدی است که «قند جوانه جو» نیز نامیده می‌شود که از تجزیه آنزیمی (آمیلاز، نشاسته به قند با راندمان ۸۰٪ حاصل می‌شود.یا به طور طبیعی توسط آنزیم موجود در جوانه جو نشاسته به قند مالتوز تبدیل میشود. مالتوز، دی‌مر گلوکز است که در آن، اکسیژن همی‌استالی یک مولکول گلوکز) در فرم -α آنومری) با-C ٤ مولکول دیگر پیوند دارد. در این آرایش، واحد گلوکزی با خواص شیمیایی خاص خود، به صورت محافظت نشده باقی می‌ماند. مثلاً مالتوز یک قند کاهنده است، اوسازون تشکیل می‌دهد و موتاروتاسیون در آن انجام می‌گیرد. مالتوز با محلول اسید یا آنزیم مالتاز، هیدرولیز شده، به دو مولکول گلوکز تبدیل می‌شود. شیرینی آن به اندازه یک‌سوم ساکارز است. مالتوز + آب «=» گلوکز + گلوکز) (Miao et al., 2000: Weast, 1981). بنابراین، در این پژوهش، هدف بررسی تاثیر تیمار مالتوز روی کاهش بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی درخت پسته رقم احمدآقایی بوده است.

**مواد و روش ها**

پژوهش در سال ۱۳۹۸ در یک باغ تجاری در منطقه ی کوهبنان استان کرمان روی درختان پسته ۱۵ساله (رقم احمد آقایی) انجام گرفته است. به منظور دقت بیشتر و به حداقل رساندن خطا، حتی الامکان درختانی که از نظر قدرت رشد و اندازه یکنواخت بودند انتخاب شدند و محلول پاشی توسط تیمار مالتوز (۰، ۱۰و ۲۰درصد) در مرحله اوایل تشکیل میوه به صورت یک طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تیمار و ٤ تکرار انجام گرفت. سپس درمردادماه برگ های درخت جهت بررسی میزان پرولین، آنتوسیانین و کاروتنویید مورد بررسی قرار گرفتند.

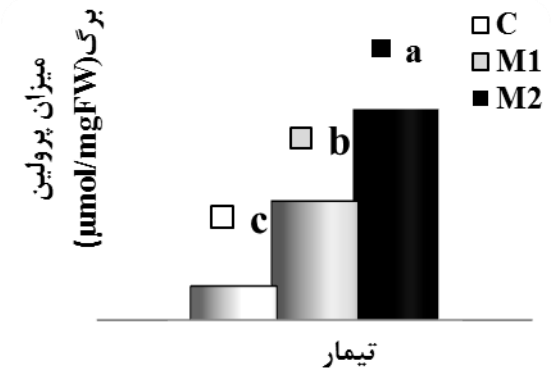
آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، انجام گرفت و رسم نمودارها توسط نرم افزار Exel صورت گرفت.

***نتایج و بحث***

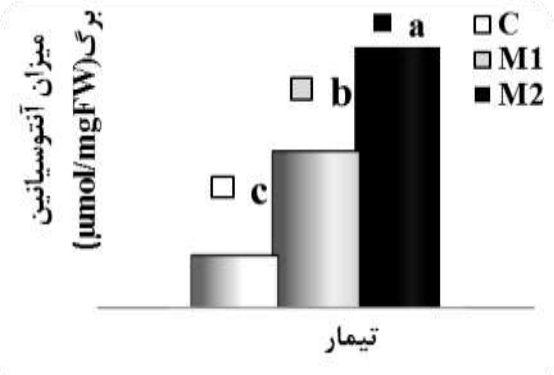
طبق نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، تیمار مالتوز ۲۰ درصد تاثیر معنی داری در افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی، نشان دادند. طبق نتایج، تیمار مالتوز ۲۰ درصد بهترین اثر را روی میزان افزایش پرولین داشت (شکل ۱). همچنین تیمار مالتوز سبب افزایش رنگیزه های کارتنویید و آنتوسیانین که هر دو جز مواد آنتی اکسیدانی هستند، شد (شکل ۲ و ۳).

وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند پرولین و آنتوسیانین و کارتنویید، می تواند با از بین بردن رادیکال های آزدی که طی تنش در درخت تولید می شود را به میزان چشمگیری کاهش دهد. وجود تیماری مانند مالتوز که جز قندهای ساده می باشد باعث میشود ماده اولیه جهت سنتز ترکیبات انتی اکسیدانی افزایش یابد(Miao *et al*., 2000; Vranov aa et al., 200) ، بطوریکه به هر میزان که غلظت این ماده به صورت خارجی در برگ های پسته افزایش یافت سبب افزایش پرولین، انتوسیانین و کارتنویید شد. از آنجاییکه، مناطق پسته کاری در ایران، دارای خاک و آب شور می باشند و این یک تنش محیطی نامناسب جهت رشد و عملکرد

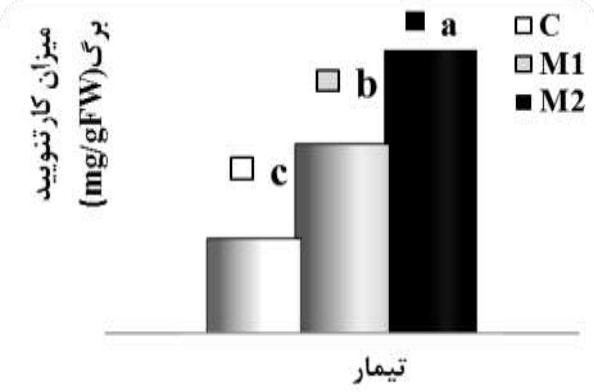
درخت پسته می باشد، بنابراین استفاده از تیمارهایی که ویژگی های آنتی اکسیدانی و مقاومت به تنش را در درختان پسته افزایش دهد، حائز اهمیت می باشد که در این پژوهش کاربرد قند مالتوز سبب این بهبود شده است.




**شکل ۱: اثر تیمار مالتوز روی میزان پرولین برگ در پسته رقم احمدآقایی. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند. C: شاهد، M1: مالتوز ۱۰ درصد و M2: مالتوز ۲۰ درصد.**




**شکل ۲: اثر تیمار مالتوز روی میزان رنگیزه آنتوسیانین برگ در پسته رقم احمدآقایی. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند. C: شاهد، M1: مالتوز ۱۰ درصد و M2: مالتوز ۲۰ درصد.**




**شکل ۳: اثر تیمار مالتوز روی میزان رنگیزه کاروتنویید برگ در پسته رقم احمدآقایی. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند. C: شاهد، M1: مالتوز ۱۰ درصد و M2: مالتوز ۲۰ درصد**

**نتیجه گیری:**

نتایج این پژوهش نشان داد ، تاثیر محلول پاشی مالتوز به میزان زیادی سبب بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی برگ درخت پسته شد. هر دو غلظت مالتوز (۱۰ و ۲۰ درصد) سبب افزایش اسیدآمینه پرولین، رنگیزه آنتوسیانین و کارتنویید شدندکه این ویژگی ها می توتند درخت را در شرایط نامناسب محیطی جهت بهبود رشد و عملکرد یاری نمایید و بنابراین به کشاورزان توصیه می شود.

**"منابع"**

**ابریشمی،** م. ۱۳۷۳. پسته ایران : شناخت تاریخی. مرکز نشر دانشگاهی تهران. ٦٦٩صفحه.

**پوریوسف میاندوآب، م، شهروان، ن.** ۱۳۹۳. اثر محلولپاشی اسیدهای آمینه در زمان های مختلف بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت. فصلنامه علمی و پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی. سال ششم. شماره ۲۳. صفحه های ۳۲-۲۱.

**حاج سیدهادی، م. ر، درزی، م. ت، ریاضی، غ. ح، قندهاری علویجه، ز.** ۱۳۸۹. تأثیر محلولپاشی با اسید آمینه و کاربرد مقادیر مختلف ورمی کمپوست بر صفات مورفولوژیک و عملکرد گل بابونه. یافته های نوین کشاورزی. سال پنجم. شماره ۲. صفحه ها ۱۵۸-۱٤۷.

**درویش، محمد.**۱۳٤٦. گیاه شناسی، سیستماتیک گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران .٤٤٥صفحه.

**درویشیان، محمود.** ۱۳۷۸. کشت وتولید پسته. انتشارات فرهنگی نشر آیندگان(برگردان).۲۷۲صفحه.

**شیبانی، احمد.** ۱۳۷۳. پسته وتولید آن در ایران . انتشارات مرکز تحقیقات پسته ایران ، رفسنجان.۷۳ صفحه.

Crane, J. C.1985. Pistachio, In CRC handbook of fruits set and development. CRC press, pp. 389-399.

Crane, J. C. and B. T. Iwakiri. 1980. Xenia and metaxenia in pistachio. HortScience.15(2):184-185.

Miao Y-U, Song C-P, Dong F-C, Wang X-C.2000. ABA-induced hydrogen peroxide generation in guard cells ofVicia faba.Acta Phytophysiologia Sinica26,53–58.

Thakur, B. S. and D. S. Rathore. 1991. pistachio. S. K. Mitro, T. K. ۱۰Bose, and D. S. Rathore (Eds.). Temperate fruits. Horticulture and Allied Publishers. pp. 451-470.

## Role of maltose on increasing fruit set of "Owhadi" pistachio (*Pistacia vera* L.)

**Akbari afzadi Javad[1*] and Pakkish, Zahra**

**1-Master Science (MSc.)Student , Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, *Shahid***

***Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran***

**2-Associate professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid *Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran***

**Abstract**

Today, treatments used in order to improve antioxidant property of many agricultural products in the world under stress conditions. The purpose of this study, was to increase of antioxidant property with maltose treatment (0, 10and 20%) on "Ahmad Aghaei" pistachio. Therefore trees sprayed by treatments in tip green stage, and research arranged in a randomized complete block design with four replications. Comparison of means showed maltose treatment 20% a significant effect on increasing the antioxidant property. According this results, maltose treatment 20% showed best effect on antioxidant property.

**Key words**: Maltose, Pistachio, Antioxidant property

# نقش آهن در بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی میوه توت فرنگی(*Fragaria × ananassa* Duch.) رقم کاماروس

**ضیا ابراهیمی مهدی، [۱] و پاک کیش، زهرا[۲]**

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی،دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

۲- دانشیار بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

**zahrapakkish@uk.ac.ir**

چکیده

در پژوهش حاضر به بررسی تیمار سولفات آهن روی ویژگی های آنتی اکسیدانی میوه توت فرنگی *(Fragaria × ananassa* Duch.) رقم کاماروس پرداخته شده است. گیاهان توت فرنگی با سولفات آهن: صفر (شاهد)، ۰/۲۵و ۰/۵درصد در مرحله اوایل کاشت تیمار شدند ومیوه های برداشته شده از نظر میزان آنتوسیانین، کارتنویید و میزان اسید آسکوربیک بررسی شدند. نتایج نشان دادند، بوته های تیمار شده با سولفات آهن نسبت به گیاهان شاهد به طور معنی داری ویژگی های آنتی اکسیدانی میوه توت فرنگی را افزایش دادند. بطور کلی نتایج نشان دادند، کاربرد سولفات آهن ۰/۵درصد موثرترین تیمار بوده است.

**کلمات کلیدی: توت فرنگی، سولفات آهن، ویژگی های آنتی اکشیدانی**

مقدمه

توت‌فرنگی از نظر تولید میوه‌ای بسیار جدید است، رقم‌های امروزی ۲۵۰ الی ۳۰۰ سال قبل شناخته شده‌اند، آنچه که تا آن زمان شناخته شده بود ومصرف می‌شد، منحصرا توت‌فرنگی‌های ریز یا توت‌فرنگی‌های موسوم به جنگلی بوده است که صرفنظر از ریزی میوه، عطر، طعم ومزه خاصی داشته‌اند، بیشتر ازنظر خواص دارویی مورد توجه بودند (سیاری، ۱۳۸۲). بر اساس آمار وزارت جهاد کشاورزی در سال۱۳۹۰، سطح زیرکشت‌توت فرنگی کشور ٤٠٦٢ هکتار و میزان تولید ۳۹۷۱۱ تن بوده است و همچنان استان کردستان مقام اول تولید وسطح زیر کشت را در بین استان‌های کشور دارا است (آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۸). توت‌فرنگی‌های که اکنون در سطح تجاری مورد کشت وکار قرار می‌گیرد از جنس *Fragaria* و گونه *ananassa* و اکتاپلوئیدی می‌باشد. توت‌فرنگی گیاه چند ساله علفی بوده و بطور متوسط ۵-۳ سال عمر می‌کنند. این گیاه حاوی طوقه کوتاه که جوانه‌های جانبی بر روی آن تولید ساقه رونده و یا گل‌آذین می‌کنند (تفضلی، ۱۳۸۰). میوه رسیده وتازه توت‌فرنگی منبع غنی ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد همچنین منبع خوبی از ویتامین "آ" بوده و هشت میوه توت‌فرنگی با اندازه متوسط،۳۰ درصد بیشتر از یک پرتقال ویتامین "ث " دارند. میزان ویتامین ث آن به اندازه ویتامین ث موجود در ترتیزک می‌باشد و۲۰ درصد از نیاز روزانه به اسید فولیک را تامین می‌کند. توت‌فرنگی مقدار قابل توجهی فیبر دارد و همچنین منبع غنی پکتین (۰/۵۵ درصد ) می‌باشد، که به فرم پکتات کلسیم قابل دسترس است و به عنوان یک جز ترکیبی آلی در ساخت ژله بکار می‌رود، همین طور منبع غنی پتاسیم،کلسیم، فسفر و مواد جامد محلول (۱۲-۷) می‌باشد آب بخش اعظم (۹۰-۷۰ درصد) میوه توت‌فرنگی را تشکیل می دهد. محتوای مواد جامد محلول از ۵ درصد در میوه‌های سبز کوچک تا ۹-٦ درصد در میوه‌های قرمز افزایش می‌یابد، اسیدیته

قابل تیتراسیون به تدریج در طی رسیدن میوه کاهش می‌یابد و در میوه‌های رسیده ۰/۹ تا ۱/۸۵ متغیر می‌باشد (بهنامیان ومسیحا، ۱۳۸۱). امروزه تعداد واریته‌های توت‌فرنگی به هزاران رقم می‌رسد، در انتخاب ارقام توت‌فرنگی عواملی مانند، درشتی میوه، سفتی یا نرمی بافت میوه، رنگ، طعم، مناسب بودن جهت فرآیند، سازگاری با شرایط محیطی، مقاومت نسبی در برابر آفات وبیماری‌ها، موقعیت بازار وخواسته مصرف‌کننده اهمیت دارد. همچنین ارقام مورد کاشت باید خصوصیات مرفولوزیکی و فیزیولوژیکی لازم از نظر رسیدن همزمان میوه و برداشت مکانیکی را داشته داشته باشد( بهنامیان ومسیحا، ۱۳۸۱).

**آهن، به عنوان یکی از عناصر مهم در تغذیه گیاهان و چهارمین عنصر فراوان در پوسته زمین است. ولی به دلایل متعددی قابلیت جذب آن بسیار کم و محدود می باشد .این عنصر که وجود آن برای رشد گیاهان زراعی و باغی لازم است و در تشکیل سبزینه (کلروفیل) گیاهان نقش اساسی دارد، متاسفانه به دلیل آهکی بودن بخش زیادی از خاکهای کشورمان و مناطق خشک، بسیاری از محصولات از کمبود آهن رنج می برند. امروزه توجه کشاورزان و متخصصین علوم کشاورزی به اهمیت و نقش عناصر کم مصرف روز به روز بیشتر شده و این به دلیل پیدایش مسایل جدیدی از جمله برداشت روز افزون محصول و در نتیجه کاهش این عناصر در خاک است**BARTON& ABADIA, 2007 ). **میزان در دسترس بودن آهن در خاک و جذب آن توسط ریشه گیاه بستگی زیادی ب ه اسیدیته، شرایط اکسید و احیایی خاک و شکل آهن محلول دارد** ( Mo and Sung. 2007: Dris, and Jain. 2001). **طی یک آزمایش دیگر تاثیر محلول پاشی عناصر میکرو از قبیل آهن، روی و بر در کیفیت و عملکرد درختان بالغ انبه بررسی شد. نتایج نشان دادند که استفاده از این عناصر باعث افزایش گوشت میوه، مواد جامد محلول و کاهش اسیدیته و کاهش وزن هسته شد** (Mo and Sung. 2007).

هدف تحقیق:از آنجایی که میوه توت فرنگی بسیار مورد پسند می باشد، بنابراین استفاده از روش ها و تکنیک هایی که هم میزان محصول و افزایش عملکرد را همراه با بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی آن را به دنبال داشته باشد، بسیار مورد توجه می باشد. بنابراین هدف از این پژوهش،تیمار بوته های توت فرنگی با محلول سولفات آهن، به منظور افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی آن بوده است.

مواد و روش ها

پژوهش بر روی بوته‌های توت‌فرنگی رقم کاماروس با فواصل کشت ۳۰ سانتی‌متر روی ردیف و ۹۰ سانتی متر بین ردیف مجهز به سیستم آبیاری قطره‌ای با دور آبیاری ۲ روز انجام گردید.

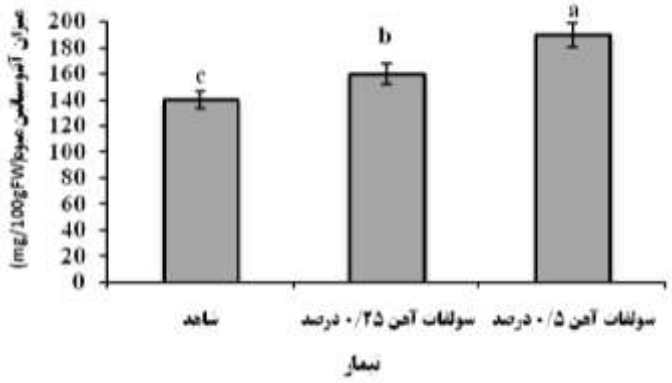
تیمارها شامل سولفات آهن با غلظت‌های صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بودند و بوته های توت فرنگی در زمان اوایل کاشت با تیمارهای ذکر شده محلول پاشی شدند. سپس بعد از رسیدن میوه های بوته های تیمار شده، برداشت انجام شد و برای بررسی میزان آنتوسیانین، کارتنویید و میزان اسید اسکوربیک میوه ها مورد بررسی قرار گرفتند.

**تجزیه و تحلیل آماری:** آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار و ٤ تکرار انجام گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. نمودارها توسط نرم افزار Excel ترسیم شد.

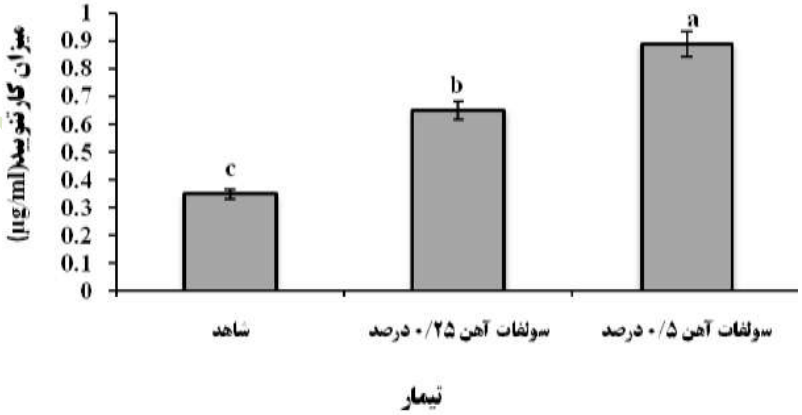
نتایج و بحث

طبق نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، کاربرد سولفات آهن میزان آنتوسیانین، کارتنویید و اسید اسکوربیک میوه توت فرنگی را نسبت به شاهد افزایش داد و در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم داشتند و حتی بین غلظت ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد سولفات آهن نیز تفاوت معنی داری دیده شد و تیمار ۰/۵ درصد بهترین اثر را روی افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی داشت(شکل ۱-۳).

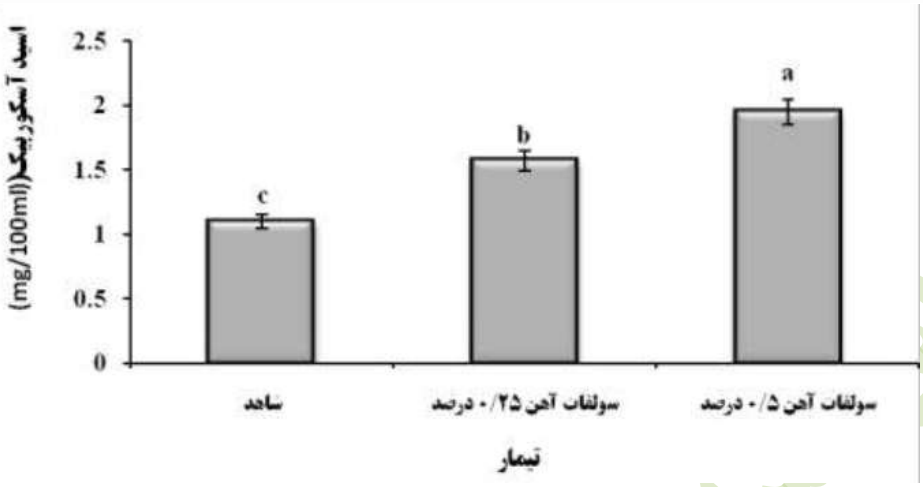
طبق تحقیقات انجام شده، عواملی که سبب بهبود فتوسنتز می شوند، می توانند با سنز هیدارت کربن بیشتر، میزان رشد و نمو میوه] تجمع قند، اسیدهای آلی و سایر ترکیبات موثر در بهبود ویژگی های کیفی میوه را تقویت نمایند (Mo and (Sung. 2007: Dris, and Jain. 2001. پژوهش ها نشان داده است که عنصر آهن نقش مهمی در بسیاری از فرایندهای متابولیکی سلول زنده دارد از جمله تنفس و فتوسنتز(Wisniewski et al., 2001). بنابراین هر عاملی که شرایط طبیعی فتوسنتز را در گیاه مختل نماید، رشد و نمو رویشی و زایشی گیاه را کاهش می دهد، تحقیقات نشان داده است کاربرد خارجی آهن باعث افزایش میزان فتوسنتز در




شکل ۱- نقش تیمار سولفات آهن روی میزان رنگیزه آنتوسیانین میوه توت فرنگی رقم کاماروس. در هر ستون، میانگین های دارای حرف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن با هم تفاوت معنی داری ندارند.




شکل ۲- نقش تیمار سولفات آهن روی میزان رنگیزه کارتنویید میوه توت فرنگی رقم کاماروس. در هر ستون، میانگین های دارای حرف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن با هم تفاوت معنی داری ندارند.




شکل ۳- نقش تیمار سولفات آهن روی میزان اسید آسکوربیک میوه توت فرنگی رقم کاماروس. در هر ستون، میانگین های دارای حرف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن با هم تفاوت معنی داری ندارند.

گیاهان می شود و به دنبال این شدت فتوسنتز مواد آلی زیادی ساخته و در اختیار گیاه قرار می گیرند و بسیاری از این مواد هم در میوه ذخیره می شوند، که افزایش ویژگی های کیفی میوه را بدنبال دارد. که این یافته ها، نتایج تحقیق حاصل راتایید می نمایند و تحقیقات انجام شده روی انگور، انبه، توت فرنگی، پسته (FERNÁNDEZ ET AL., 2009; NEHETE et al., 2011) و....نیز این یافته ها را تایید می نمایند.

منابع

تفصلی، عنایت الله ، ۱۳۸۰، نشریه ترویجی شماره ۱۶ کشت توت فرنگی ، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه شیراز. ۱۲۰ صفحه.

بهنامیان، م و مسیحا، س. ۱۳۸۱. توت فرنگی. انتشارات سوده. ۱۱۵ صفحه.

BARTON, L.L. & ABADIA, J. 2007. Iron Nutrition of Fruit Tree Crops, Iron Nutrition in Plants AND Rhizospheric Microorganisms, Published by Springer, P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands, 477 P.

FERNÁNDEZ, V., ORERA, I., ABADÍA, J., & ABADÍA, A. (2009). Foliar iron-fertilization of fruit trees: Present knowledge and future perspectives--A review. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 84(1): 1-6.

NEHETE, D. S., PADHIAR, B. V., SHAH, N. I., BHALERAO, P. P., KOLAMBE, B. N. & BHALERAO, R. R. 2011. Influence of micronutrient spray on flowering, yield, quality and nutrient content in leaf of mango cv. Kesar. *The Asian Journal of Horticulture*. 6(1):63-67.

Dris, R., R. Niskanen and S. M. Jain. 2001. Crop management and post harvest handling of horticultural products. Science Publishers.1:363-4.

Mo, E. K and C.K. Sung. 2007. Phenyl Ethyl alcohol (PEA) application slows fungal growth and maintains aroma in strawberry. Journal Postharvest Biology Technology. 45: 234-90.

Wisniewski, M., C. Wilson., A. E. L. Ghaouth and S. Droby. 2001. Non- chemical approaches to post harvest disease control. Acta Horticulture. 407-12.

**Role of Fe on improvement of antixidant property strawberry*(Fragaria × ananassa* Duch.)Camarosa**

**Zeia Ebrahimi, Mehdi [1] and Pakkish Zahra [2]**

**1-Master Science (MSc.)Student , Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran**

**2-Associate professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran**

**Abstract**

This experiment was carried out to determine effect of FeSO4 on development of strawberry *(Fragaria × ananassa* Duch.) "Camarosa" fruit. Plants of strawberry were treated with 0 (control), 0.25 and 0.5 % FeSO4 at cultivation time and harvested fruits studied to antocyanine, carotonoid and ascorbic acid. The results showed, fruits treated with FeSO4 compared to control treatment significantly increased antixidant property of fruit.. So, fruits treated with 0.5 % FeSO4 showed the best effect.

**Key words:** Strawberry, FeSo4, Antixidant property

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# اثر برهمکنش شوری و جیبرلیک اسید بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه سویا

**بهزاد امرایی**

*استادیار، گروه زیست شناسی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران*

amraeib@yahoo.com

**چکیده**

این پژوهش به منظور بررسی برهمکنش جیبرلیک اسید و شوری بر روی میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز برگ و ریشه گیاه کلزا به عمل آمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. تیمارهای اعمال شده شامل شوری های ۰، ۷۵، ۱۰۰و ۱۵۰ میلی مولار بر لیتر کلرید سدیم در نظر گرفته شد. سپس میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بر حسب واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه گردید. نتایج به دست آمده از آزمایش نشان داد که تنش شوری تاثیرگذار بر میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می باشد به طوری که با افزایش تنش شوری میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در برگ و ریشه افزایش نشان داد. بالاترین میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تنش شوری ۱۵۰ میلی مول کلرید سدیم و کمترین در تیمار صفر(شاهد) مشاهده گردید. این افزایش در ریشه بیشتر از برگ نشان داده شد. با افزودن جیبرلیک اسید به محیط های فوق میزان آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز افزایش نشان داد که این امر به از بین بردن اثرات مخرب شوری و تعدیل اثرات آن کمک می کند.

**کلمات کلیدی**: **سویا، شوری،** جیبرلیک اسید، **کاتالاز، پراکسیداز**

**مقدمه**

سویا با نام علمی (*Glycine max*) یکی از بقولات دانه ای با اهمیت اقتصادی بالا و از مهم ترین حبوبات مناطق گرم می باشد که دارای میزان روغن و پروتئین بالایی در دانه می باشد(۷). شوری یکی از معضلات بسیار مهم در بخش کشاورزی در اغلب نقاط جهان می باشد که موجب کاهش عملکرد زراعی و مرغوبیت محصول در مناطق خشک و نیمه خشک می گردد. چهل میلیون هکتار از اراضی فاریاب جهان تحت شوری قرار دارند و به علاوه سالیانه ۱/۵ میلیون هکتار از اراضی جهان در اثر شوری از بین می روند. در کل شوری عبارت است از حضور بیش از اندازه نمک هایی قابل حل و عناصر معدنی در محلول آب و خاک که منجر به تجمع نمک در ناحیه ریشه شده و گیاه در جذب آب کافی از محلول خاک با اشکال روبرو می شود(۱۲). یون هایی که در بروز شوری نقش دارند شامل: کلرور، سولفات، بیکربنات، سدیم، کلسیم، منیزیم و به ندرت نیترات و پتاسیم می باشند، اما یون های سدیم و کلر از اهمیت زیادی برخوردارند(٤). تنش شوری مانند هر تنش دیگری موجب انحراف از شرایط بهینه حیاتی می گردد. تغییرات ایجاد شده وپاسخ های تمام سطوح عملکردی گیاه در ابتدا ممکن است قابل برگشت باشند، ولی با تداوم تنش و کاهش توان سازگاری گیاه، آسیب های وارده غیر قابل برگشت شده و آشفتگی حاصل اگر کشنده نباشد موجب کاهش رشد گیاه خواهد شد(٦). آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز، سم زدایی از گونه های اکسیژنی فعال( ROS) را بر عهده دارند.سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدان گیاهی، شامل چندین آنزیم با وزن مولکولی پایین می‌باشد که از نظر سطح سلولی، در گیاهان مختلف، متفاوتند(۳). کاتالاز یک آنزیم گیاهی بوده که دارای گروه هم می‌باشد و در همه موجودات یوکاریوتی هوازی یافت می‌شود که فرآیند تبدیل $H_2O_2$ را به آب و اکسیژن کاتالیز می‌کند. پراکسیداز نیز همو پروتئینی است که وجود هم برای فعالیت آپوپروتئین آنزیم ضرورت

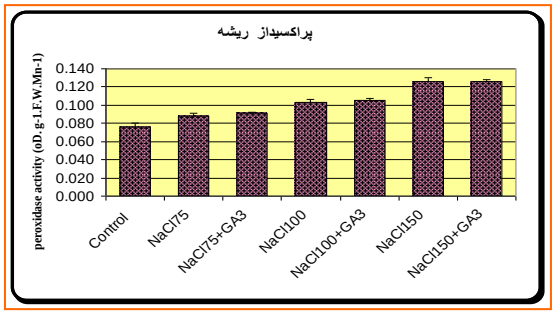
دارد. حذف مقادیر اضافی $H_2O_2$ و دخالت در تنظیم ظریف، مقادیر مناسب $H_2O_2$ سلولی از وظایف این دو آنزیم محسوب می گردد (۸).

**مواد و روش ها**

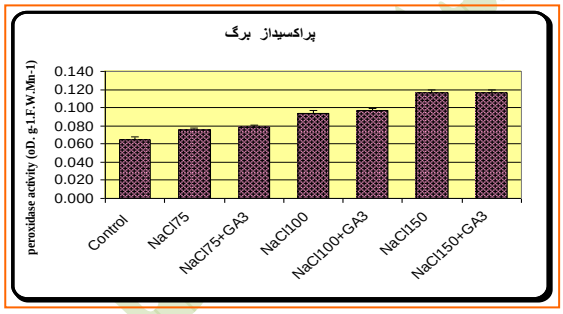
پژوهش حاضر بر روی گیاه سویا صورت پذیرفت. بذر های مذکور از محل مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان لرستان تهیه گردید. سپس بذرها چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. در مرحله بعدی بذرها به سبدهایی با منافذی به ابعاد تقریبی mm ۲×٤ و ۱×۳mm انتقال داده شدند و تا زمان رسیدن به مرحله دو برگی از این محیط استفاده شد. پس از گذشت یک هفته گیاهان یکنواخت انتخاب شده و از سبدها به ظروف تیره ( ٦٥٠ میلی لیتر ) حاوی محلول هوگلند نیم قدرت ( هیدروپونیک) انتقال یافتند. جهت انجام آزمایشات، محلول های کلرید سدیم با غلظت ۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار تهیه گردید. پس از گذشت مدت زمان ۲۰ روزه گیاهان به منظور اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز برداشت شده و بدین منظور جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Maehly & Chance ( ۱۹۹۵) و برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Koroi ( ۱۹۸۹) استفاده گردید. جهت سنجش آنزیم پراکسیداز ابتدا محلول عصاره‌گیری با حجم ۱۰۰ میلی لیتر PH ۷/۵ تهیه گردید، سپس با استفاده از یک گرم بافت تر گیاهی ۵ میلی لیتر محلول عصاره، عصاره ی همگن بدست آمد. جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز نیز پس از تهیه عصاره گیاهی و سانتریفیوژ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت پذیرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و آنالیز داده ها توسط نرم افزار SPSS و همچنین مقایسه میانگین داده ها توسط تست دانکن انجام گرفت.

**نتایج و بحث**

آنالیز واریانس نتایج بدست آمده از سنجش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز نشان داد که با افزایش شوری به ترتیب از۰، ۷۵، ۱۰۰و۱۵۰ میلی‌مولار میزان آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز افزایش می یابد. کلرید سدیم سبب افزایش معنی دار آنزیم پراکسیداز در برگ و ریشه شد، که این افزایش در ریشه بیشتر از برگ می باشد( نمودارهای ۱ و ۲)..



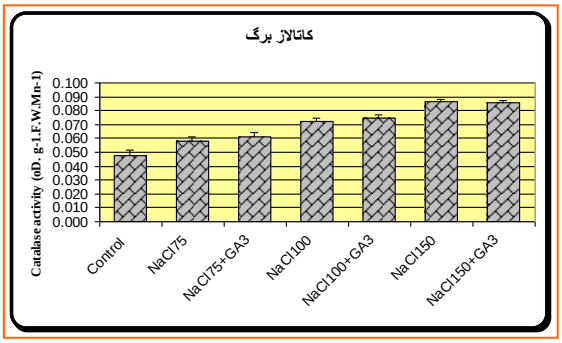

نمودار۱: بررسی اثر شوری و جیبرلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه

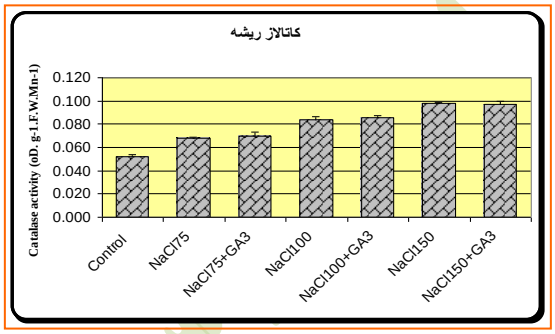



نمودار۲: بررسی اثر شوری و جیبرلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ

میزان آنزیم پراکسیداز در برگ افزایش نشان داد که این افزایش در تمامی تیمارهای مذکور معنی دار می باشد، میزان آنزیم پراکسیداز ریشه نیز همزمان افزایش یافت. با افزودن ۰/۰۵ میلی مولار جیبرلیک اسید به هر کدام از تیمارهای میزان آنزیم پراکسیداز در برگ و ریشه به صورت معنی داری افزایش یافت که نشان دهنده تعدیل تنش در تیمارهای مذکور می باشد.

کلرید سدیم سبب افزایش معنی دار ( $p < ۰/۰۵$)، آنزیم کاتالاز در برگ و ریشه شد. میزان آنزیم کاتالاز در برگ گیاه در تیمارهای مذکور افزایش یافت. همچنین میزان آنزیم کاتالاز ریشه در گیاه با افزایش شوری افزایش معنی داری نشان داد که افزودن جیبریک اسید باعث افزایش بیشتر آنزیم کاتالاز ریشه شد. میزان افزایش آنزیم کاتالاز در ریشه بیشتر از برگ بود(نمودار۳و٤).




نمودار۳: بررسی اثر شوری و جیبرلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه  نمودار٤: بررسی اثر شوری و جیبرلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ

کاتالاز ها و پراکسیداز ها از جمله آنزیم هایی به شمار می آیند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش های غیر زیستی از جمله تنش شوری دارند. پراکسیداز ها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسیداز هیدروژن می باشند.(۱۱) . کاتالاز نیز یک آنزیم فراوان گیاهی دارای گروه هِم بود، که در همه موجودات یوکاریوتی هوازی یافت می شود که فرآیند تبدیل $H_2O_2$ به آب و اکسیژن را کاتالیز می کند. گزارشات متعددی وجود دارند که حاکی از افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش زیستی و غیر زیستی می باشند که می توان به افزایش فعالیت پراکسیداز تحت اثر کلرید سدیم در گوجه فرنگی اشاره نمود(۱). نتایج بررسی اثر شوری در دو رقم توت سفید نشان داد که فعالیت کاتالاز و پراکسیداز تحت استرس شوری به طور معنی داری افزایش یافت، و درصد فعالیت در رقم بردبار بیشتر از رقم حساس بود(۱۳). جهت تنظیم میزان گونه‌های اکسیژنی فعال و حفاظت سلول‌ها در شرایط تنشی، گیاهان دارای چندین آنزیم جاروب‌گر مثل کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز و یک شبکه کارآمد آنتی‌اکسیدان با وزن مولکولی پایین مثل آسکوربات، گلوتاتیون، ترکیبات فنلی، توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشند (۸). با توجه به نتایج مشاهده شده در مطالعه حاضر مشخص گردید که تنش شوری باعث آزاد شدن رادیکال های آزاد و به وجود آمدن استرس اکسیداتیو می شود که منجر به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز می گردد که این آنزیم های سم زدا در کاهش تنش به وجود آمده و حذف مقادیر اضافی $H_2O_2$ نقش مهمی را ایفا می نمایند. جیبرلیک اسید نیز با افزایش تحریک آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش باعث به وجود آمدن یک سیستم تعدیل کنندهٔ تنش در گیاه می گردد.

**منابع**

1. Ajlouni, M., Mohammad, M., Nimril., Shibli , R. (1998) Tomato root and shoot response to salt stress under different levels of phosphorus nutrition , Journal of Plant nutrition .
2. Chance , B., Maehly, C . (1995) Assay of catalase and peroxidase , Methods in Enzymol., 11:764-775.
3. Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R. (2001) Differential antioxidative responses to heavy metal in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. CV. Azad), J. of Exp. Bot-,52:(358): 1101-1109
4. Dubey , R.S. (1994) Protein synthesis by plant under stressful conditions , In Hand book , of plant and crop stress

( ed.M. pessarakli )., 277-299.
5. Koroi, S.A.A.(1998) Gelek trophers tische and spectral photometris chon under change zomein fiussder temperature. And stracture peroxides iso enzyme , physiol. Veg., 20: 15-22.
6. Larcher , W. 1995; Physiological plant ecology springer, Berlin., PP:321-46.
7. Luo, Q., B. Yu and Y. Liu.. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of Glycinemaxand Glycine.soja under NaCl stress.Journal ofPlant Physiology,162 (9):1003-1012.
8. Nector , G., Foyer , C.H. ( 1998) Ascorbat and glutathione : keeping active oxygen under control , Annu. Rev. Plant physiol. Plant. Mol. Biol., 49 : 249-279 .
9. Neumann, P.M. (1995) Inhibition of root growth by salinity stress: Toxicity or on adaptive biophysical response, The Netherlands: Kluwer Academic publishers., PP: 229-304.
11. Shalini ,V ., Duey , R.S. ( 2003 ) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants, Plant Science ., 164 : 1645-1655 .
12. Shannon, M.C., C.M. Grieve, and L.E. francois. 1994. Whole – plant response to salinity, In: R.E. Wilkinson (ed). Plant environment interaction. Marcel Dekker, New York. pp: 199-224.
13. Sudhakar , C. ( 2001) Change in the antioxidant enzyme efficacry in two high yielding genotypes of mulberry ( *Morus alba L.* ) under NaCl Salinity , Plant Science ., 161: 613-619.

**Interaction of salimity and gibberellic acid on antioxidant enzymes activity in Soybean**

***Behzad Amraei***

*Assistant professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran*
*amraeib@yahoo.com*

**Abstract**:
This experiment was performed in order to evaluation antioxidant enzymes activity in soybean under Interaction of salimity and gibberellic acid. The experiment was conducted in factorial based on completely randomized design with three replications. Salinity levels applied were zero (control), 65,100, 150 and 200 mM. The leaves and root catalase and peroxidase based on (OD.g-1.F.W) were measured. The results of this study indicated that salinity was effect on amount of catalaseand peroxidase and increase in salinity increased amount of catalase and peroxidase of leavesand root (p0.05). The highest of catalase and peroxidase was observed in salinity 150 mM NaCland the lowest was in the control treatment.
. **Key Words:** Soybean, Salimity, Gibberellic acid, Catalase, Peroxidase

# ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدان به‌وسیله سه روش DPPH، FRAP وABTS

منصوره آقاسی‌زاده شعرباف[*1]، وحیده پیام‌نور[2]
[1] دانشجوی دکتری، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[2] دانشیار، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
mansooreh.aghasi@gmail.com*

**چکیده**

امروزه عواملی نظیر بروز حساسیت‌ها، پیدایش عوارض جانبی، سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و نیاز بدن به ترکیبات آنتی‌اکسیدان، اهمیت گیاهان دارویی را مجدداً موردتوجه قرارداده است .آنتی‌اکسیدان‌ها در بسیاری از غذاها و محصولات کشاورزی یافت می‌شوند .از طرفی بهره‌گیری از روش‌های نوین، امکان شناسایی مواد مؤثره موجود در گیاهان را فراهم کرده است. در این مقاله سه روش معمول سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های گیاهی شامل DPPH، FRAP و ABTS بررسی شده است.

**کلمات کلیدی**: آنتی‌اکسیدان، DPPH، FRAP، ABTS

## مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات مهمی هستند که می‌توانند سلول را در برابر اکسیداسیون محافظت نموده و در پیشگیری و درمان آسیب‌های اکسیداتیو مؤثر باشند (Zhang *et al*., 2006)، همچنین محافظت بدن را در مقابل تخریب ناشی از استرس‌های اکسیداتیو در اثر رادیکال‌های آزاد بر عهده‌دارند. انواع متفاوتی از مهارکننده‌های رادیکالی در بدن موجود است که اغلب آن‌ها از رژیم غذایی مانند میوه‌ها، سبزیجات و نوشیدنی‌ها تأمین می‌شوند. به نظر می‌رسد که ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی غشای سلول‌ها را در مقابل صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند (Halliwell, 2007). هر ماده‌ای که آسیب اکسیداتیو را برای یک مولکول هدف به تأخیر انداخته، ممانعت یا رفع کند آنتی‌اکسیدان است (Halliwell, 2007). آنتی‌اکسیدان‌ها مستقیماً تولید ذرات فعال را مهار کرده یا به‌طور غیرمستقیم اثر محافظتی آنتی‌اکسیدان را تقویت می‌کنند (Khlebnikov *et al*., 2007). به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدان‌ها در ممانعت از اثرات رادیکال آزاد در ایجاد بیماری‌ها و فساد مواد غذایی، نقش و اثر آنتی‌اکسیدان‌ها موردتوجه محققین، پزشکان و عموم مردم قرارگرفته است و مطالعات ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی یکی از متداول‌ترین موضوعات موردبررسی در سال‌های اخیر بوده است (Aldini *et al*., 2010). همچنین به دلیل تنوع مواد فعال، سازوکار و ویژگی‌های واکنش متفاوت مانند انواع مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها، حضور سایر مواد مداخله کننده در نمونه، عدم شرکت همه آنتی‌اکسیدان‌های نمونه در واکنش روش مورداستفاده و ... که در واکنش اکسایشی دخالت دارند روش ساده و جهانی برای ارزیابی‌های صحیح و تعیین مقداری آنتی‌اکسیدان‌ها تاکنون به ثبت نرسیده است (Zulueta *et al*., 2009). بعلاوه تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مواد غذایی با پیچیدگی‌های بیشتری همراه است مانند خصوصیات کلوئیدی نمونه، شرایط و مرحله اکسیداسیون، ویژگی‌های طبیعی ماده مانند رنگ و pH و محل حضور آنتی‌اکسیدان (Frankel and Meyer, 2000) که این خود باعث عدم نتیجه‌گیری از یک روش می‌گردد.

بنابراین اغلب به‌منظور اعتباربخشی به نتایج یک مطالعه از چندین روش برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های خوراکی استفاده می‌شود. به‌این‌ترتیب بزرگ‌ترین مشکل بر سر راه تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی حقیقی نمونه‌های زیستی و خوراکی فقدان یک روش معتبر می‌باشد.

**روش ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با رادیکال DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)**

این روش اولین بار به دست بلیوس در سال ۱۹۵۸ انجام شد (Blios, 1958) و به‌طور گسترده برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، میوه‌ها، گل‌ها، دانه‌های روغنی، ریشه‌ها و ...استفاده می‌شود (Nabavi *et al.*, 2001). اساس این روش بر مبنای احیاء رادیکال آزاد DPPH به‌وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها در غیاب سایر رادیکال‌های آزاد در محیط می‌باشد که نتیجه این عمل باعث ایجاد رنگی در محیط می‌شود که شدت آن با دستگاه طیف‌سنجی قابل‌اندازه‌گیری است (Prevec *et al.*, 2013). DPPHیک رادیکال پایدار است که محلول متانولی آن دارای رنگ بنفش می‌باشد که بیشترین جذب نوری را در ۵۱۵–۵۲۰ نانومتر نشان می‌دهد . پایه و اساس این روش این است که رادیکال DPPH به‌عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول اهداکننده مانند آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند درنتیجه آن DPPH به $DPPH_2$ تبدیل می‌شود. در این حالت رنگ بنفش محیط به رنگ زرد تبدیل می‌شود بنابراین شدت جذب در ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد از روی اندازه‌گیری کاهش شدت جذب به‌وسیله طیف‌سنجی می‌توان به‌خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن پی برد (Hoseini *et al.*, 2014). برای انجام این آزمایش به حجم معینی از محلول نمونه در متانول، همان میزان از محلول ۰/۱ میلی-مولار DPPH در متانول اضافه می‌شود .مخلوط حاصل به‌خوبی تکان داده‌شده و به مدت 15 تا 30 دقیقه در تاریکی قراردادهشده و سپس جذب مخلوط به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در ۵۱۷ نانومتر خوانده می‌شود (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005).

معمولاً نتایج آزمون DPPH بر پایه IC50 بیان می‌شود. IC50 بیان‌گر غلظت مؤثر از نمونه‌ها است که ظرفیت مهار ۵۰٪ DPPH را دارد و از طریق رگرسیون خطی منحنی درصد ممانعت کنندگی و غلظت به دست می‌آید (Hoseini *et al.*, 2014).

$$\text{Inhibition\%} = \frac{Absorbance\ of\ Control - Absorbance\ of\ Sample}{Absorbance\ of\ Control} \times 100$$

روش DPPH روش ساده‌ای می‌باشد اما به دلیل این‌که رادیکال نیتروژن پایدار است و ازدیاد سینتیک انجام واکنش آنتی‌اکسیدان با DPPH و یا حتی در مواردی عدم انجام واکنش بعضی از آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال آزاد، این روش به چالش کشیده می‌شود. ازآنجایی‌که روش‌های مختلفی برای انجام این آزمایش استفاده‌شده است نتایج حاصل از این روش قابل‌مقایسه نمی‌باشد. به عنوان مثال معمولاًزمان انجام واکنش را ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در نظر می‌گیرند که بازمان واقعی انجام واکنش متفاوت است (Deng *et al.*, 2011). علاوه بر این، واکنش رادیکال آزاد وDPPH برگشت‌پذیر بوده که این قابلیت بازگشت باعث می‌شود که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها معمولاً کمتر از حد مشخص آن خوانده شود (Prevec *et al.*, 2013).

**روش ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس احیاء آهن یا روشFRAP (ferric reducing antioxidant power)**

روش FRAP در ابتدا برای تعیین میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره‌های میوه‌ها به‌کاربرده می‌شد، این روش به سهولت برای عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف قابل به‌کارگیری است .گرچه در ابتدا برای ارزیابی فعالیت تام آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های بیولوژیک مطرح‌شده، اما امروزه این روش بهینه‌سازی شده و به‌طور موفقیت‌آمیزی در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات خالص شیمیایی و عصاره‌های گیاهی بکار می‌رود (Niemeyer and Metzler, 2003). در این روش توانایی آنتی‌اکسیدان در احیاء آهن موردسنجش قرار می‌گیرد (Niemeyer and Metzler, 2003). آنتی‌اکسیدان‌ها ، دو نوع آنزیمی (مانند گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و...) و غیر آنزیمی هستند. آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مثل اسکوربیک اسید اهداکننده‌های الکترون می‌باشند. درواقع در واکنش اکسیداسیون که یک عامل اکسید شونده و یک عامل احیاکننده دارد آنتی‌اکسیدان‌ها نقش احیاکننده را بازی می‌کنند یعنی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به توانایی احیا کنندگیشان بستگی دارد. درروش FRAP از یک واکنش اکسیداسیون احیا استفاده می‌شود که با تغییر رنگ همراه است. زمانی که احیاکننده واکنش (آنتی‌اکسیدان) الکترون خود را اهدا می‌کند ماده‌ای تولید می‌شود که رنگی بوده و به‌راحتی می‌توان شدت رنگ تولیدشده که نشان‌دهنده پیشرفت واکنش است را اندازه گرفت (Gao *et al*., 2003).

$$\text{Fe +3- complex with TPTZ (colourless or yeloow)} \xrightarrow{\text{Antioxidant}} \text{Fe +2 complex with TPTZ (colourless or blue)}$$

برای انجام این واکنش از یک کمپلکس آهن‌دار به نام TPTZ استفاده می‌شود. لازم به ذکراست که مقدار کمپلکس آهن سه‌ظرفیتی همیشه بیش‌ازحد نیاز در محیط حضور دارد و این واکنش غیراختصاصی بوده و هر واکنشگری که در شرایط فوق قابلیت احیا یون آهن سه‌ظرفیتی را داشته باشد در این واکنش شرکت می‌کند (Wootton *et al*., 2011). زمانی که آنتی‌اکسیدان‌ها در محیط حضورداشته باشند شدت رنگ آبی در محیط بیشتر می‌شود که از روی اندازه‌گیری شدت رنگ می‌توان به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پی برد (Liu *et al*., 1982). برای انجام این واکنش نیاز است تا معرف FRAP تهیه گردد این معرف مخلوط کلرید آهن ($FeCl_3$) و TPTZ (2,4,6- tripyridyl-s-triazine)است که در یک بافر مناسب حل‌شده است، این مخلوط بی‌رنگ تا زردرنگ می‌باشد زمانی که نمونه موردبررسی یا استاندارد به این محلول اضافه می‌شود این کمپلکس احیاء شده و تشکیل کمپلس حاوی آهن دو ظرفیتی آبی‌رنگ را می‌دهد که حداکثر جذب را در طول‌موج ۵۹۳ نانومتر دارد .عدد FRAP نمونه‌ها بر اساس میکرومولار در هر یک گرم ماده خشک به شرح زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{FRAP value} = \frac{\textit{The slope of the linear plot for reducing } Fe^{+3}\textit{–TPTZ regent by sample}}{\textit{The slope of the linear plot for FeSO4 (standard)}}$$

از این روش می‌توان برای مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی چند نمونه استفاده کرد و مقادیر به‌دست‌آمده نمونه‌ها را باهم مقایسه نمود که این خاصیت اصلی‌ترین کاربرد این روش می‌باشد (Griffin and Bhagooli., 2004). نتایج آزمون FRAP شدیداً به زمان آنالیز بستگی دارد (Roginsky and Lissi, 2005). بنابراین نظر بعضی از محققین مبنی بر این‌که واکنش FRAP سریعاً انجام می‌شود و حداکثر زمان ٤ تا ٦ دقیقه را می‌خواهد صحیح نمی‌باشد زیرا بعضی از پلی فنلهای خوراکی با سرعت بسیار کم وارد واکنش می‌شود و مثلاً به زمان بالایی مانند۳۰ دقیقه نیاز دارد(Alarcón and Denicola, 2013). ازآنجایی‌که در این روش رادیکال آزادی وجود ندارد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با احیاء آهن بررسی می‌شود زمانی که در تجزیه‌وتحلیل مواد غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرد نتایج متفاوتی ارائه می‌کند بنابراین روشFRAP برای تحقیقات مقایسه‌ای که مثلاً اثر یک تیمار را بر روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بررسی می‌کند مناسب خواهد بود (Gorinstein *et al*., 2010; Samaniego Sanchez *et al*., 2007). مشکل اصلی این روش زمانی نمایان

می‌شود که نمونه موردبررسی عصاره‌های گیاهی و محلول‌های زیستی باشد. TPTZ با محلول‌های پلی فنلی مانند کافئیک اسید، فرولیک اسید و تانیک اسید به آهستگی و در زمان بسیار طولانی ( ۱۸۰ دقیقه ) واکنش می‌دهد (Pulido *et al*., 2000) و از طرف دیگر با آنتی‌اکسیدان‌های تیولدار مانند گلوتاتیون، لیپونیک اسید و کاروتنوئیدها وارد واکنش نمی‌شود (Ou *et al*., 2001).

**روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش کاتیون زدایی رادیکال*ABTS***

رادیکال ABTS یک رادیکال پایدار صناعی بوده که حساسیت بالا برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف بکار می‌رود (Amno, 2000). مولکول‌های ABTS به‌عنوان ماده‌ای معرفی می‌شود که در سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد در صنایع غذایی و در تحقیقات کشاورزی کاربرد زیادی دارد. این ترکیب دارای وزن مولکولی ۵۱٤/٦۲ گرم بر مول است. این روش هم برای ترکیبات هیدروفیل و هم برای ترکیبات لیپوفیل قابل‌استفاده است .این ماده هم‌چنین در تعیین سنتیک واکنش‌های شیمیایی کاربرد دارد و نیز در تشخیص اتصالات مولکولی و آنزیمی به‌خصوص تکنیک الایزا استفاده می‌شود (Khaligh *et al*., 2015).

این روش بر مبنای احیاء رادیکال کاتیون ABTS بوده که جذب بالایی در ۷۳٤ نانومتر دارد .این روش سنجش مستلزم تولید کروموفور ABTS با اکسیداسیون ABTS در حضور یک اکسیدکننده (معمولاً پتاسیم پرسولفات) است. در این روش میزان کاهش رنگ را زمانی که آنتی‌اکسیدان به محلول $ABTS^{o+}$ اضافه می‌شود موردسنجش قرار می‌دهند. ترکیبات چربی‌دوست و همچنین ترکیبات آب‌دوست را می‌توان با این روش مورد ارزیابی قرار داد. این روش به‌طور گسترده برای ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی بکار می‌رود (Srinivasan, 2007). برای تهیه کاتیون ABTS از واکنش محلول استوک ۷ میلی‌مولار ABTS و ۲/٤۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات استفاده می‌شود. مخلوط به مدت ۱۲ تا ۱٦ ساعت قبل از مصرف تهیه‌شده و در محل تاریک در دمای اتاق نگهداری می‌شود. محلول کاتیون ABTS با اتانول رقیق‌شده تا جذبی حدود ۰/۷۰ در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر پیدا کند. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نمونه به محلول رقیق‌شده از ABTS اضافه‌شده و جذب پنج دقیقه بعد خوانده می‌شود. در مجاورت آنتی‌اکسیدان، میزان رادیکال $ABTS^{o+}$ کاهش‌یافته و به ABTS تبدیل می‌شود و شدت رنگ نیز کاهش می‌یابد .فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{Radical scavenging activity\%} = A0\text{-}A1/A0 \times 100$$

جایی که $A_0$ جذب محلول ABTS و A1 جذب مخلوط واکنش است. در عمل از BHT یا ترولوکس به‌عنوان استاندارد استفاده می‌شود. ترولوکس آنالوگ محلول در آب ویتامین E است .از ترکیب کنترل استاندارد، منحنی استاندارد رسم شده و با توجه به منحنی، میزان معادل ترولوکس یاBHT محاسبه و گزارش می‌شود (Re et al. 1999).

**فهرست منابع**

Alarcón, C. L. and Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. Analytica Chimica Acta 763, 1– 10.

Aldini, G. Yeum, K. J. Niki, E. and Russell, R. M. (2010). Biomarkers for Antioxidant Defense & Oxidative Damage: Principles and Practical Applications. Wiley Blackwell, Ames.

Arnao, M.B. (2000 ) Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. Trends Food Science and Technology. 11(11):419-421

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181(4617):1199-1200.

Deng, J. Cheng, W. and Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. Food Chemistry 125, 1430–1435.

Frankel, E. N. and Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. J. SCI. FOOD AGRIC.80: 1925-1941.

Gorinstein, S. Haruenkit, R. Poovarodom, S. Vearasilp, S. Ruamsuke, P. Namiesnik, J. Leontowicz, M. Leontowicz, H. Suhaj, M. and Sheng, G. P. ( 2010). Some analytical assays for the determination of bioactivity of exotic fruits. Phytochemical Analysis 21, 355–362

Griffin, S. P. and Bhagooli, R. (2004). Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 302, 201– 211.

Guo, C. Yang, J. Wei, J. Li, Y. Xu, J. and Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutrition Research 23, 1719–1726.

Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. Biochem Soc Trans. 35(pt5):1147-1150.

Hoseini, S. gharachorlo, M. ghiasi, B. and ghavami, M. (2014). An overview of antioxidant capacity determination methods. Food Technology and Nutrition: 11 ( 4).

Khaligh, F. Namvar, F. and Vesal, M. (2015). Evaluation of Antioxidant Properties of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized by Green Method and Catalase Gene Expression Changes in Human Liver Cancer Cells (HepG2). *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences. 24(4).*

Khlebnikov, A.I. Schepetkin, I.A. Domina, N.G. Kirpotina, L.N. Quinn, M.T. (2007). Improved quantitative structure–activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. Bioorg Med Chem. 15(4):1749-1770.

Liu, T. Chin, N. Kiser, M. and Bigler, W. (1982). Specific pectrophotometry of AscorbicAcid in Serumor Plasmaby Use of AscorbateOxidase. CLIN. CHEM. 28/11, 2225-2228.

Liyanan-pathirana, C.M. and Shahidi, F.( 2005). Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat (Triticum aestivum L.) as affected by gastric pH conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(7): 2433-2440

Nabavi , S.F. Nabavi, S.M. Ebrahimzadeh, M.A. Asgarirad, H. (2011). The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica L*) fruit, stem bark and leaf. Afr J Biotechnol. 10(2): 283-289.

Niemeyer, H.B. and Metzler, M. (2003). Differences in the antioxidant activity of plant and mammalian lignans. J Food Eng. 56(2-3):255–256.

Ou, B. Hampsch-Woodill, M. and Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. J Agric Food Chem. 49(10):4619-26.

Prevec, T. Šegatin, N. PoklarUlrih, N. and Cigić, B. (2013). DPPH assay of vegetable oils & model antioxidants in protic and aprotic solvents. Talanta, 109, 13–19.

Pulido, R. Bravo, L. and Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. J Agric Food Chem., 48(8):3396-402.

Re, R. Pellegrini, N. Proteggente. Pannala, A. Yang, M. and Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 1999; 26(9-10):1231–1237.

Roginsky, V. and Lissi, E. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food .Food Chem. 92, 235–254.

Samaniego Sanchez, C. Troncoso Gonzalez, A. M. Garcia-Parrilla, M. C. Quesada Granados, J. J. Lopez Garcia de la Serrana, H. and Lopez Martinez, M. C. (2007). Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. Analytica Chimica Acta 593, 103–107.

Srinivasan, R. ( 2007 ). Chandrasekar M.J.N, Nanjan M.J, Suresh B. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. J Ethnopharmacol. 113(2):284–291.

Wootton-Beard, P. Moran, A. and Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. Food Research International 44, 217–224.

Zhang, H.Y. Yang, D. P. and Tang, G.Y. (2006). Multipotent antioxidants from screening to design. Drug Discover Today . 11: 749-54.

**Evaluation of antioxidant properties by three methods: DPPH, FRAP and ABTS**

***Mansooreh Aghasizadeh Sharbaaf*** [1*]***, Vahide Payamnoor*** [2]

[1*]*Phd. Student, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran*

[2]*Assoc. Prof., Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran*

**Abstract**

Nowadays, the emergence of allergies, side effects of drugs, antibioticresistant strains, and the need of body to antioxidants emphasized the importance of herbal medicines. Antioxidants are abundant in certain foods and agricultural products. Utilization of new methods has made it possible to identify the active ingredients in plants. In this paper, three common methods for measuring antioxidant activity in plant extracts including DPPH, FRAP and ABTS have been investigated.

**Keywords**: Antioxidant, DPPH, FRAP, ABTS

# افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی میوه پرتقال : نقش دامینوزاید

*طیبه حیدری[۱] و زهرا پاک کیش[۲]*

**۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی،دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران**

۲- دانشیار بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران
zahrapakkish@uk.ac.ir

**چکیده:**

در پژوهش حاضر به بررسی اثرات دامینوزاید روی خاصیت آنتی اکسیدانی میوه پرتقال رقم والنسیا پرداخته شده است. بنابراین، درختان پرتقال با غلظت های مختلف دامینوزاید(صفر،۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر) در مرحله نوک سبزی جوانه ها تیمار شدند و ویژگی های بیوشیمیایی میوه نظیر میزان آنتوسیانین، کاروتنویید و اسید آسکوربیک میوه بررسی شدند. نتایج نشان داد، کاربرد دامینوزاید۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر ، کیفیت خاصیت آنتی اکسیدانی میوه پرتقال والنسیا را در مقایسه با شاهد بهبود بخشیدند. بطور کلی نتایج نشان داد، تیمار دامینوزاید ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر موثرترین تیمار بود.

**کلمات کلیدی**: پرتقال. دامینوزاید.

**مقدمه:**

پرتقال (*Citrus sinensis* L.) یکی از بهترین محصولات کشاورزی است(مشیری۱۳۶۸ ). میوه پرتقال حاوی املاح و سرشار از ویتامین‌های بسیار زیادی می‌باشد که جنبه دارویی و غذایی دارد (Chang1992) و تولید آن نیز در ایران سابقه تاریخی و طولانی دارد(Fotouhi Ghazvini & Fattahi-Moghadam,2003). در بین مهم‌ترین محصولات باغبانی ایران، می‌توان به انار، انجیر، خرما، پسته، سیب، زردآلو و پرتقال اشاره کرد که ایران در بین کشورهای تولید کننده پرتقال مقام هشتم را دارا می‌باشد و این جایگاه خوبی در میان کشورهای تولیدکننده مرکبات می‌باشد (FAO,2018). شرایط اقلیمی متنوع ایران موجب شده‌است که تنوع بسیاری زیادی در ارقام و گونه‌های درختان میوه وجود داشته باشد و میوه‌های تولید شده از کیفیت مناسبی برخوردار باشند ( Fotouhi Ghazvini & Fattahi-Moghadam,2003).

دامینوزاید(B-Nine),(SADH),(Alar)، از کند کننده های رشد می باشند. نام معمولی: Daminozid، نام شیمیایی: N-Dimethylamino succinamic acid) می باشد. دامینوزاید در تولید انبوه واریته های گیاهان زینتی به کار می رود و روی محصولات خوراکی زمانی طولانی نیست که استفاده شده است. ماده کند کننده رشد دامینوزاید رشد شاخه ها را کاهش داده و گلدهی را افزایش می دهد. ولی علاوه بر آن دامینوزاید تشکیل میوه را در انگور و سیب افزایش می دهد و در سیب رسیدن کامل را به عقب انداخته، اندازه میوه را می کاهد و شکل آن را تغییر می دهد. دامینوزاید در گیلاس رنگ را تشدید نموده و رسیدن میوه را به جلو می اندازد. دامینوزاید رشد رویشی را در بعضی درختان و گیاهان زینتی کاهش می دهد(Rademache,2000).

این تحقیق با هدف تاثیر کند کننده رشد گیاهی دامینوزاید بر افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی میوه پرتقال رقم والنسیا انجام شده است.

**مواد و روش ها**

این تحقیق در یک باغ تجاری در استان کرمان، شهرستان جیرفت، روی درختان پرتقال رقم والنسیا ۲۰ ساله در سال ۱۳۹۸ انجام شد. محلول پاشی درختان در زمان نوک سبزی جوانه انجام شد.

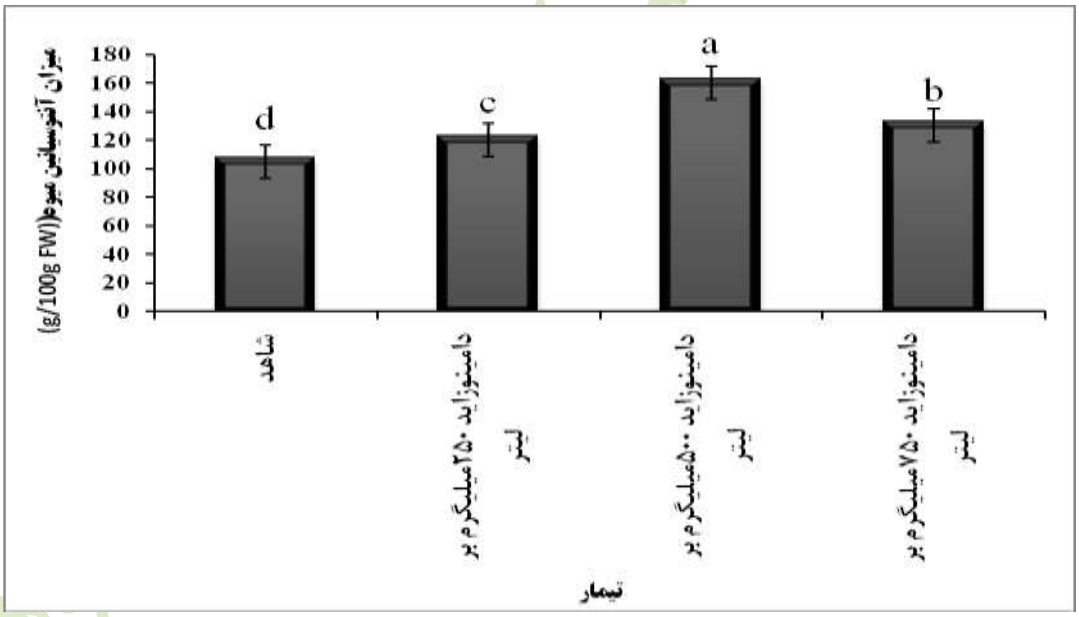
تیمارها عبارت بودند از غلظت های مختلف دامینوزاید(صفر،۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر) در مرحله نوک سبزی جوانه ها تیمار شدند و ویژگی های بیوشیمیایی میوه نظیر میزان آنتوسیانین، کاروتنویید و اسید آسکوربیک میوه بررسی شدند.

**تجزیه و تحلیل آماری**

این آزمایش به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی در ٤ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

**نتایج و بحث**

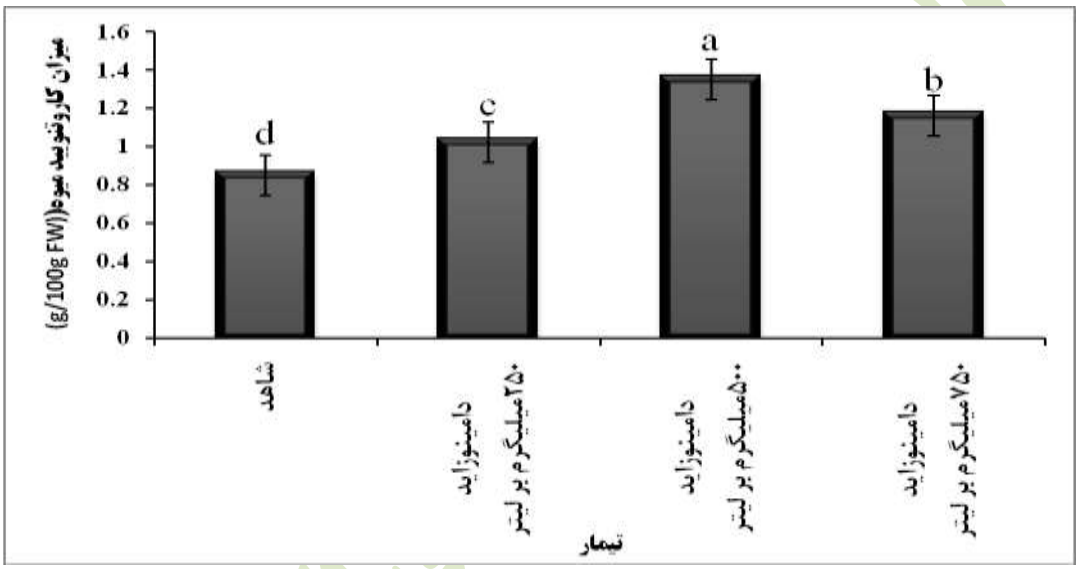
طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش، میوه های درختان تیمار شده با دامینوزاید، از نظر بهبود و افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی میوه پرتقال با شاهد تفاوت معنی داری نشان دادند(شکل۱-۳). نتایج نشان داد تیمار دامینوزاید باعث بهبود ویژگی های کیفی نظیر



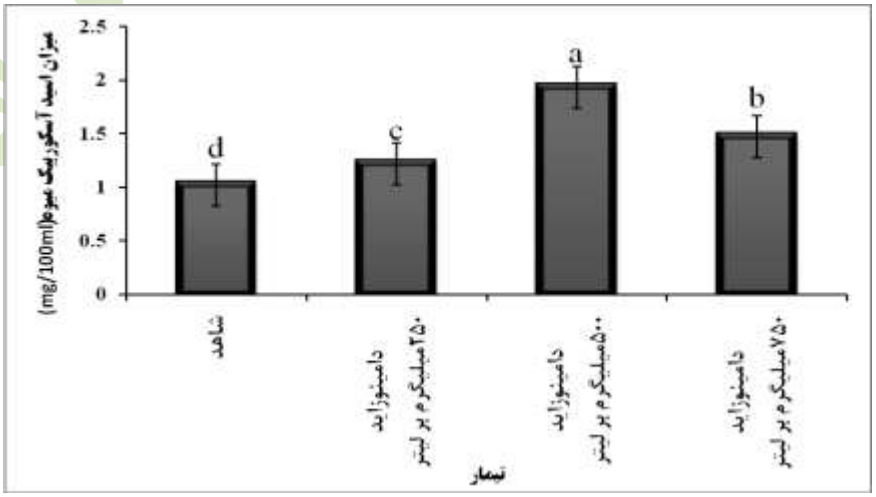

شکل۱- تاثیرمحلول پاشی دامینوزاید روی میزان آنتوسیانین میوه پرتقال رقم والنسیا. میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف یکسانی هستند در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

رنگیزه آنتوسیانین و کارتنویید و اسید آسکوربیک شدند(شکل۱-۳). . نتایج پژوهش های پیشین نشان داد، تیمار دامینوزاید روی سیب ، سبب بهبود ویژگی های کیفی میوه شد (Elfving et al., 1990; Elfving et al., 1991).) تیمار دامینوزاید روی سیب، بر وزن میوه تاثیری نداشت، دامینوزاید از سنتز جیبرلین جلوگیری می کنند، در صورتی که برای رشد میوه وجود هورمون جیبرلین بسیار

لازم و ضروری است(Brown et al., 1997; Moor, 1984) که این یافته ها ، نتایج پژوهش حاضر را تایید می نمایند. بنابراین، افزایش در تجمع رنگیزها میوه های تیمار شده با دامینوزاید، به دلیل کاهش سنتز جیبرلین بوده (Brown et al., 1997; Penter et al., 2002)و دلیل دیگر اینکه، با تیمار دامینوزاید کیفیت میوه افزایش یافت، این است که، دامینوزاید به طور غیر مستقیم، سبب افزایش سنتز هیدرات های کربن و هورمون های گیاهی می شود که همگی باعث افزایش تجمع مواد آنتی اکسیدانی و رنگیز های درون میوه می شوند.




شکل۲- تاثیرمحلول پاشی دامینوزاید روی میزان کاروتنویید میوه پرتقال رقم والنسیا. میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف یکسانی هستند در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.




شکل۳- تاثیرمحلول پاشی دامینوزاید روی میزان اسید آسکوربیک میوه پرتقال رقم والنسیا. میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف یکسانی هستند در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

## نتیجه گیری

کاربرد کند کننده های رشدی نظیر دامینوزاید روی ویژگی های میوه درختان میوه تا کنون بررسی نشده است. طبق تحقیق حاضر کاربرد این ماده سبب بهبود ویژگی های کیفی میوه پرتقال شد. که در سطوح گسترده کشت می تواند به میزان چشمگیری عملکرد و کیفیت میوه را افزایش دهد.

## منابع

مشیری، م. ۱۳۶۸. پرورش درختان میوه. سلسله انتشارات کشاورزی و دامپروری. ۲۹۷ صفحه.

Chang, K. (1992).The evaluation of Citrus demand and supply. Proceeding of International Society Citric. Italy, 3, 1153-1155.

FAO. (2018).Food and Agriculture Organization of the United Nations Website. in: http:// www.faosat.org.

Fotouhi-Ghazvini, R. & Fattahi Moghadam, J. (2003).Citrus growing in Iran. The University of Guilan Press.305p.(In Farsi)

Brown, R. G. S., Kawaide, H., Yang, Y. Y., Radmacher, W. and Kamia, H. 1997. Daminozide and prohexadiene-Ca have similar modes of action as inhibitor of the late stages of gibberllin metabolism. Physiologia Plantarum. 101: 309-313.

Elfving, D. 1988. Economic effect of excessive vegetative growth in deciduous fruit trees. Hort. Sci. 233; 461-463.

Elfving, D. C., Logheed, E. C., Chu, C. L. and Cline, R. A. 1990. Effect of daminozide, paclobutrazol and uniconazol treatment on McIntosh apple at harvest and fllowering storage. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(5): 750-756.

Moor, G.. M. 1984. Mechanisms of hormone action in plants. International Plant Propagators Society Proccidllings. 34: 79-90.

Penter, M. G., Snijder, B., Stassen, P. J. H. and Schaler, E. 2002. The effect of growth inhibitors on fruit production in Hass avocado trees . South African Avocado Growth Association Yearbook. 23: 46-51.

Rademacher, W. 2000. Growth retardants: effect on jibberllin biosinthesis and ather metabolic pathways. Ann. Rev. Plant Physio. Plant Mole. Biol. 51: 501-53.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

**Property Effects of daminozide on characters of plum (Prunus domestica L.) 'Bokhara' fruit**

**Heidari Taiebeh 1 and Pakkish Zahra 2**

1-Master Science (MSc.)Student , Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2-Associate professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

**Abstract**

This experiment was carried out to determine effects of daminozide on antioxidant characters of orange ((Citrus *sinensis* L.) 'Valencia' fruit. However, orange trees were treated with different concentrations 0 (control), 250, 500 and 750 mg/l daminozide during green tip stage of buds and fruit characters such as antocyanin, carotnoid and ascorbic acid evaluated. The results showed, application of daminozide 500 and 750 mg/l, improved antioxidant characters of orange compared to control. So, the results showed, daminozide 500 mg/l had the best effect on orange fruit characters.

**Key words**: Orange, Daminozide

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه مورینگا اولیفرا (*Moringa Oleifera*)

: *آسیه امامی نژاد*[*1]، *محمد فضیلتی*[2]، *فاطمه دانشمند*[2]، *سعید حبیب‌اللهی*[3]

۱- *کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران.*

۲- *گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران.*

۳- *گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، ایران.*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول

*emami_asieh@yahoo.com*

**چکیده**: گیاه مورینگا اولیفرا (*Moringa oleifera*) یکی از گیاهانی است که دارای مقادیر بالای فلاونوئید بوده و دارای خواص دارویی متعدد می‌باشد. بخش‌های مختلف گیاه مورینگا اولیفرا قدرت فوق‌العاده‌ای در درمان بیماری‌های مختلف به خصوص بیماری‌های کبدی داشته است. در این پژوهش، مقدار کوئرستین به عنوان یکی از ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره‌ی متانولی برگ این گیاه با روش طیف‌سنجی UV-Vis و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تعیین شد. نتایج نشان داد که مقدار کل فلاونوئید و کوئرستین در ۱ گرم از برگ مورینگا اولیفرا به ترتیب ۳/٦۹ و ٦٤/۰ میلی‌گرم بر گرم می باشد .

**کلمات کلیدی**: مورینگا اولیفرا، فلاونوئید، کوئرستین، آنتی‌اکسیدان.

## مقدمه

**مورینگا اولیفرا (*Moringa oleifera*) نام گونه‌ای گیاهی از تیره‌ی گز روغنیان است. این گیاه درختی بزرگ، با پوست کرک‌دار و شاخه‌ها و برگ‌های جوان کرک‌دار می‌باشد مورینگا اولیفرا درختی است چند منظوره، مقاوم به خشکی که به سرعت رشد کرده و دارای دانه‌های روغنی است (۱). پژوهش‌های جدید نشان می‌دهد که برگ و دانه‌ی مورینگا اولیفرا خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد، به طوری‌که مقدار فلاونوئید در برگ این گیاه به طور قابل توجهی بیشتر از پودر دانه‌ی آن است (۲). کوئرستین به عنوان یکی از مهم‌ترین فلاونوئیدها می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها مانع از آسیب‌های اکسیداتیو گردد و با اهدای یک الکترون به رادیکال‌های آزاد اکسیژن آن‌ها را به حالت پایدار درآورد (۳). با توجه به قدرت بالای کوئرستین می توان ازان به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی گیاهی در مقابل بیماری‌هایی چون سرطان استفاده کرد . هدف از انجام این پژوهش، شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی و کوئرستین در عصاره‌ی متانولی برگ مورینگا اولیفرا می‌باشد.**

## مواد و روش‌ها

### عصاره‌گیری برگ مورینگا اولیفرا

ابتدا برگ‌های گیاه مورینگا اولیفرا تهیه شد و در هرباریوم دانشگاه اصفهان، جنس و گونه آن تایید گردید. مقدار ۲۵ گرم از آن به مدت ٢٤ ساعت در آون با دمای ٤٠ °C خشک و با استفاده از آسیاب برقی پودر گردید و از الک با اندازه‌ی مش ۸۰ عبور داده شد. با استفاده از ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹٪ (نسبت ۱ به ۱۰) عصاره‌گیری انجام شد. بدین منظور، نمونه داخل کاغذ صافی واتمن ریخته شد و درون سوکسله قرار گفت. حلال نیز داخل بالون ریخته شد و دمای هیتر در گستره‌ی متوسط به بالا تنظیم گردید.

مقدار اضافی حلال به وسیله‌ی دستگاه روتاری در دمای ۵۰ °C جدا شد. عصاره‌ی به دست آمده دور از نور و در فریزر ۲۰- °C نگهداری شد.

**تعیین محتوی فلاونوئیدی کل**

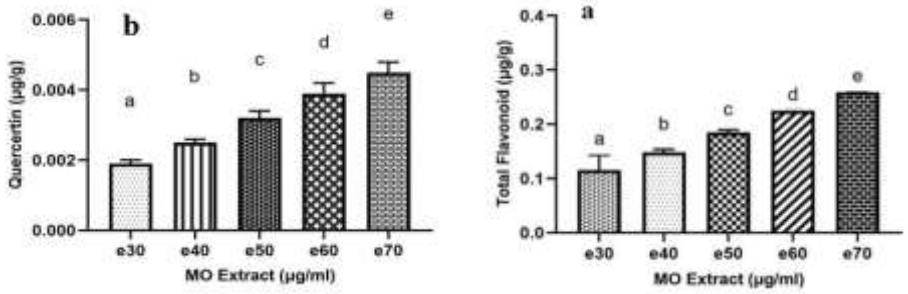
برای تعیین محتوی کل فلاونوئیدی، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۲٪ آلومینیوم کلرید در متانول به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره افزوده شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. جذب نمونه با استفاده از طیف‌سنجی UV-Vis در طول موج ٤١٥ nm اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون، از کوئرستین استاندارد استفاده شد. محلول پایه‌ای از کوئرستین تهیه گردید و از این محلول پایه، غلظت‌های مختلف آماده شد. پس از انجام مراحل آزمایش مقدار جذب نمونه‌ها خوانده شد.

**شناسایی میزان ترکیب فلاونوئیدی با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)**

ابتدا به منظور تهیه محلول استاندارد برای دستگاه HPLC و رسم منحنی استاندارد، مقدار ۰/۰۰۱ گرم از کوئرستین استاندارد با ۵ میلی‌لیتر از متانول ۹۹٪ مخلوط شد، با کمک فیلتر ۰/۲ میکرون صاف گردید و سایر استانداردهای مورد نظر از این محلول استاندارد پایه، تهیه و با سرنگ به داخل دستگاه تزریق شد. آنالیز نمونه‌ها به وسیله‌ی دستگاه HPLC انجام شد. فاز متحرک شامل ۵۰٪ متانول و ۵۰٪ استونیتریل با سرعت جریان مشخص (۰/۹ میلی‌لیتر بر دقیقه) در دمای اتاق از ستونی با مشخصات (µm ۵، mm ۲۵۰ × ٤/٦) $C_{18}$ عبور داده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۷۰ nm اندازه‌گیری شد. برای عصاره‌ها نیز، ۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌ی متانولی برگ مورینگا اولیفرا از فیلتر ۰/۲ میکرون عبور داده شد و به داخل دستگاه تزریق گردید. با مقایسه‌ی زمان بازداری در کروماتوگرام‌های به دست آمده از عصاره‌های متانولی برگ مورینگا اولیفرا در غلظت‌های مختلف و کروماتوگرام حاصل از نمونه‌های استاندارد، ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین شناسایی شد.

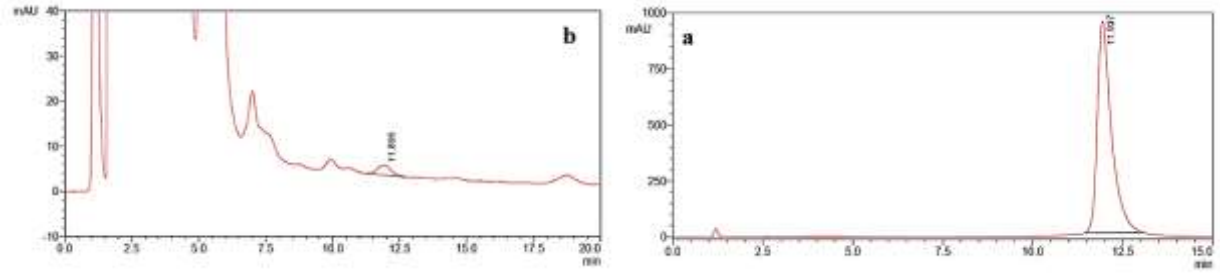
**نتایج و بحث**

در این مطالعه، ابتدا مقدار ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌ی متانولی برگ مورینگا اولیفرا در غلظت‌های مختلف محاسبه گردید. نتایج نشان داد که در غلظت ۷۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ی متانولی برگ مورینگا اولیفرا بیشترین میزان فلاونوئید کل موجود می‌باشد (شکل ۱).




شکل ۱. a) مقدار کل فلاونوئید عصاره‌ی برگ مورینگا اولیفرا (میکروگرم بر گرم). b) مقدار کوئرستین عصاره‌ی برگ مورینگا اولیفرا (میکروگرم بر گرم). داده‌ها به صورت (میانگین ± Se) گزارش شده‌اند (N = ۳). حروف ( a، b، c، d، e) در ستون‌ها از نظر آماری s را نشان می دهد.

وجود کوئرستین به عنوان یکی از ترکیبات مهم فلاونوئیدی در عصاره‌ی متانولی برگ گیاه، با استفاده از آنالیز HPLC تایید شد. با مقایسه‌ی زمان بازداری در کروماتوگرام حاصل از نمونه‌ی استاندارد (شکل ۲، a) و کروماتوگرام‌های عصاره‌ی متانولی برگ مورینگا اولیفرا (شکل ۲، b) کوئرستین شناسایی گردید. مقایسه‌ی سطح زیر پیک در کروماتوگرام‌ها نشان داد که عصاره‌ی برگ مورینگا اولیفرا در زمان بازداری ۱۱/۸۹۵ دقیقه دارای غلظت ٦/١٤٧ میکروگرم بر میلی‌لیتر کوئرستین می‌باشد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون مقدار کوئرستین در غلظت‌های مختلف عصاره به دست آمد. نتایج حاصل نشان داد که عصاره‌ی برگ مورینگا اولیفرا بیشترین مقدار کوئرستین را در زمان بازداری ۱۱/۸۹۵ دقیقه دارد.




شکل ۲. کروماتوگرام‌های حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) a) برای نمونه‌ی استاندارد کوئرستین در غلظت ۲۰۱/۹۲۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر. b) برای کوئرستین در عصاره‌ی متانولی مورینگا اولیفرا در غلظت ٦/١٤٧ میکروگرم بر میلی‌لیتر.

در گزارش‌های مختلف وجود انواع ترکیبات فنول و حدود ۱۲ نوع فلاونوئید از جمله کوئرستین، کامپفرول، ایزورامنتین و اپی‌ژنین در قسمت‌های مختلف این گیاه گزارش شده است، اما مقدار این ترکیبات در گیاه مورینگا اولیفرا، با توجه به تفاوت در شرایط آب و هوایی و جغرافیایی مناطقی که این گیاه در جهان رشد می‌کند و همچنین تفاوت در روش‌های عصاره‌گیری، استخراج، تنوع ژنتیکی گیاهان، تفاوت در سن برگ و مرحله‌ی بلوغ، متفاوت ذکر شده است. در میان انواع مواد موثر دارویی، فلاونوئیدها از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند و تقریباً در تمامی گیاهان وجود دارند. تعداد و موقعیت گروه هیدروکسیل فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (٤). از نقطه نظر ویژگی‌های فارماکولوژی، فلاونوئیدها دارای فعالیت ضد التهابی و ضد سرطانی هستند. از طرفی در فرآیندهایی نظیر التهاب و سرطان‌زایی، آنزیم سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase) به خصوص نوع دوم آن (Cox–۲) نقش به سزایی داشته و مهار آن روش مفیدی در پیشگیری و درمان سرطان است. براساس گزارشی که شده است، آنتی‌اکسیدان‌های فلاونوئیدی مانند: کوئرستین نقش مهمی در مهار این گونه از آنزیم‌ها دارند و ممکن است جایگزین مناسبی نیز برای داروهای ضد التهابی مانند ایبوپروفن باشد. از نقطه نظر دیگری می‌توان به مکانیسم‌های واسطه‌ی اثرات ضد سرطانی کوئرستین از قبیل اثرات آنتی‌اکسیدان، اتصال به گیرنده‌ی آریل هیدروکربن ( Aryl Hydrocarbon Receptor)، واکنش با سیستم‌های پیام‌رسان درون سلولی و تغییر مسیرهای پیام‌رسان جانبی اشاره کرد (٦).

**فهرست منابع:**

۱– مظفریان/ و.ا. (۱۳۸۹) درختان و درختچه‌های ایران. چاپ سوم/ انتشارات فرهنگ معاصر./ تهران.

2. Mustafa/ R. El-Naggar/ E.M.B. Svajdlenka/E. Omran/ G. ELFiky/ F. El-Hawiet/ A. (2020) Enhancement of phenolic content, antioxidant and cytotoxic activities of *Moringa Oleifera* leaf and seed by suspension culture. Natural Product Research. DOI: 10.1080/14786419.2020.1744137.

۳- سلیمانی مهرنجانی/ م. محمدی/ م. (۱۳۹۸) بررسی اثر حفاظتی کوئرستین بر تغییرات بافت شناسی بیضه و شاخص‌های اسپرماتوژنز در موش‌های بالغ پس از تیمار با دگزامتازون. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. ۱: ۱۱۶۳-۱۱۵۰.

4. Karaman/ S. Tütem/ E. Başkan/ K.S. Apak/ R. (2010) Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC– CUPRAC assay. Food Chemistry. 120:1201-1209.

۵- شریفی/ ر. هدایتی/ م. رسمی/ ی. رحمتی یامچی/ م. فاطمی/ ف. دادخواه/ الف. علامه/ ع. (۱۳۸٦) سیکلواکسیژنازها، پیشگیری و درمان سرطان. پژوهش در پزشکی. مجله پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی. ۳: ۲۹۷-۲۸۹.

6. Ciolino/ H.P. Daschner/ P.J. Yeh/ G.C. (1999) Dietary flavonols quercetin and kaempferol are ligands of the aryl hydrocarbon receptor that affect CYP1A1 transcription differentially. The Biochemical journal. 340:715-722.

# Evaluation of flavonoid compounds in *moringa oleifera*

***Asieh Emami Nejad*[1], *Mohammad Fazilati*[2], *Fatemeh Daneshmand*[2*], *Saeed Habibollahi*[3]**
*1. Department of biology, payame noor university, iran.*
*2. Department of biology, payame noor university, iran.*
*3. Department of chemistry, payame noor university, iran.*
*[*]EMAIL: emami_asieh@yahoo.com*

**Abstract:**
*Moringa Oleifera* is one of the plants that has high levels of flavonoids and it has many medicinal properties. Different parts of *Moringa Oleifera* have had extraordinary power in treating various diseases, especially liver diseases. In this research, the amount of quercetin as one of the flavonoid compounds in the methanolic extract of the leaves of this plant was determined by UV-Vis spectroscopy and HPLC analysis. The results showed that the total amount of flavonoid and quercetin in 1 g of *Moringa Oleifera* leaves was 3.69 and 64 mg/g, respectively.

**Key words:** *Moringa Oleifera*, Flavonoid, Quercetin, Antioxidant.

# تیمار سیلیکون سبب تغییر فعالیت آنزیم‌های POD و SOD تحت تنش آبیاری در گیاه گوجه فرنگی می‌شود

**علی پاکدین پاریزی[۱]، سیده فاطمه موسوی رینه[۲]، بهاره جلالی کلکناری[۲]، طوبی احمدی[۲]، علی راعی[۳] و مصطفی حق‌پناه[۳*]**

۱. پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان – دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲. دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل

۳. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

**Masoudhgh@gmail.com***

**چکیده**

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از مهم‌ترین اجزاء در تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی گیاهان محسوب می‌شوند. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین موانع تولید محصولات کشاورزی است و استفاده از الیسیتورهایی مانند سیلیکون می‌تواند از شدت تخریب تنش بکاهد. در این بررسی به تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار سیلیکون بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) تحت تنش کاهش میزان آبیاری گیاه گوجه فرنگی (رقم CH فلات) در قالب آزمایش فاکتوریل برمبنای طرح کاملا تصادفی پرداخته شد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی میزان فعالیت SOD در تیمار صفر و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون کاهش می‌یابد. در حالی که در نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰/۷۵ و سه میلی‌مولار سیلیکون با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم SOD افزایش یافت. همچنین در نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰/۷۵ و سه میلی‌مولار سیلیکون با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم POD افزایش یافت. در این بررسی نشان داده شد که غلظت کم سیلیکون سبب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تخفیف تاثیرات مخرب تنش خشکی گیاه گوجه فرنگی می‌شود.

**کلمات کلیدی**: ROS، تنش خشکی، کم آبی، اسید سیلیسیک

**مقدمه**

کشاورزی در قرن حاضر برای حفظ امنیت غذایی نیازمند افزایش بازدهی ۷۰ درصدی تا سال ۲۰۵۰ است (۱). با این حال فاکتورهای محدود کننده بسیاری نظیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی راندمان تولید این محصولات را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در میان فاکتورهای غیر زیستی تاثیرگذار بر تولید محصولات زراعی، خشکی به دو دلیل از تهدیدات بزرگ محسوب می‌شود اول آنکه به علت گرمایش جهانی، یک سوم زمین های جهان مستعد خشکی هستند (۲). دوم خشکی می‌تواند در تمام بخش‌های آب و هوایی، حتی نواحی مرطوب اتفاق بیافتد (۳). اگرچه در بسیاری از موارد تنش خشکی توام با تنش گرما می‌باشد ولی تاثیر اصلی تنش خشکی بر کاهش میزان آب دسترس گیاه تعریف می‌شود. این پدیده سبب القاء تغییرات فیزیولوژیک مانند کاهش فعالیت فتوسنتزی، کاهش محتوای کلروفیل و القاء گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان می‌شود (۲،٤). تولید ROS در سطح سیتوزول و اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسیزوم‌ها، سبب افزایش دما در سطح سلول و در نتیجه افزایش گرانروی اجزای سلولی، تغییر در میان کنش پروتئین- پروتئین، انباشتگی و دناتوره شدن پروتئین‌ها می‌شود که این امر اختلال در رشد و کاهش کارایی و بهره‌وری گیاه را به دنبال دارد .(5,6)

در طی تکامل، گیاهان با توسعه سیستم‌های آنتی‌اکسیدان و با فعالیت هماهنگ دو بخش آنزیمی و غیرآنزیمی مکانیزمی دفاعی در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد کرده‌اند. آنزیم‌هایی همچون کاتالاز(CAT) ، سوپراکسید دیسموتاز(SOD) ، آسکوربات پراکسیداز (APX)و گایاکول پراکسیداز (POD) از مهم‌ترین آنزیم‌های مهار کننده گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند (۷). کارایی سیستم دفاعی گیاه می‌تواند بواسطه برخی از عناصر نظیر سیلیکون افزایش یابد که سبب تخفیف میزان صدمات حاصل از تنش بر گیاهان می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده است که اگرچه سیلیکون از عناصر ضروری برای گیاه نیست اما علاوه بر تهیج سیستم دفاعی (۸) سبب بازیابی آسیب غشا، کاهش فعالیت SOD وAPX ، افزایش فعالیت(9) CAT ، افزایش میزان فتوسنتز (۲)، ایجاد دفاع آنتی‌اکسیدان (۱۰) و افزایش سرعت رشد نسبی گیاه می‌گردد (۲). مطالعات نشان می‌دهد که سیلیکون باعث تحمل استرس با کاهش غلظت آنیون های سوپراکسید و MDA و همچنین کاهش تنش اکسیداتیو می‌شود (11).

در میان گیاهان مدل مناسب برای بررسی تنش خشکی، ویژگی‌هایی مثل رشد در شرایط مختلف، چرخه زندگی کوتاه و ژنتیک ساده، گوجه فرنگی را به یک مدل ایده‌آل تبدیل می‌کند (۱۲). این گیاه هم به صورت تازه و هم به صورت فرآوری شده مصرف می‌شود و منبع ویتامین‌ها و فیتوشیمیایی‌ها است (۱۳). از این رو افزایش بازدهی تولید آن اهمیت خاصی می‌یابد .

مطالعه نقش سیلیکون در مقاومت حرارتی *Solanum lycopersicum* L نشان داد که استفاده از سیلیکون سبب بهبود زیست توده گیاه گوجه فرنگی، رنگدانه های فتوسنتزی و محتوای نسبی آب می‌شود و همچنین تأثیر نامطلوب تنش گرمایی را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد. در آن بررسی عنوان گردید تیمار سیلیکون منجر به تحمل بیشتر شرایط تنش غیرزیستی با تنظیم سیستم دفاع آنتی اکسیدان، سیگنالینگ SA/ABA و Hsfs در مواجه با تنش گرمایی می شود (۱۱). بررسی نقش سیلیکون بر هدایت هیدرولیکی ریشه گوجه فرنگی تحت تنش آبی نشان داد که تیمار سیلیکون سبب بهبود وضعیت هدایت هیدرولیکی ریشه گوجه فرنگی می‌شود. همچنین تنش آبی تولید گونه های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد و باعث آسیب اکسیداتیو می شود، در حالیکه تیمار گیاه با سیلیکون تاثیر معکوس به همراه خواهد داشت (١٤). مطالعات Shi و همکاران (٢٠١٤) حاکی از آن بود که تیمار سیلیکون فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) را افزایش داد و باعث کاهش تولید آنیون سوپراکسید ($O2^{\bullet}$)و هیدروژن پراکسید ($H_2O_2$) در گوجه فرنگی تحت تنش آب شد (۱۵). مطالعات نشان داده است که پراکسیداز(POD) و سوپر اکسید دیسموتاز(SOD) از مهم‌ترین آنزیم‌ها در تحمل تنش می‌باشند از این رو هدف از این تحقیق، برآورد تاثیر تیمار سیلیکون بر القاء فعالیت این دو آنزیم در گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کم‌آبی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها**

در این بررسی رقم CH فلات در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان – دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در دمای ٢٢-٢٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و ۱۲ ساعت روشنایی کشت شد و به مدت سه هفته، هر هفته ۲ بار تحت چهار سطح تیمار اسید سیلیسیک (سیلیکون) با غلظت‌های صفر، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار محلول در محلول غذایی هوگلند قرار گرفت. سپس با توجه به ظرفیت زراعی (بر اساس وزن گلدان‌ها) مقدار آبیاری به سه سطح FC، ٦٠ و ٤٠ درصد ظرفیت زراعی تغییر کرد. در هفته سوم تنش جهت بررسی‌های بعدی نمونه برداری صورت گرفت.

**استخراج محلول آنزیمی**

جهت استخراج محلول‌های آنزیمی به منظور اندازه گیری صفات بیوشیمیایی ۰/۱ گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی کاملا سرد و نیتروژن مایع هموژن گردید و سپس به آن ۱/۵میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH 7) محتوی EDTA نیم میلی‌مولار، اضافه شد. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش، به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. کمیت سنجی پروتئین کل به روش Bradford تعیین شد (19).

**بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)**

جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، از ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۵۰ میلی مولار، ۳۰۰ میکرولیتر متیونین ۱۲ میلی مولار، ۳۰۰ میکرولیتر نیتروبلوتترازولیوم کلراید ۷۵ میکرو مولار به عنوان استوک اول و ۳۰۰ میکرولیتر ریبوفلاوین ۱ میکرومولار به عنوان استوک دوم استفاده شد. لوله‌های آزمایش شیشه ای، به مدت یک دقیقه، در معرض نور ۱۰ هزار لوکس قرار گرفتند. با خاموش کردن لامپ، واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در طول موج ٥٦۰ نانومتر خوانده شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جز عصاره آنزیمی به عنوان بلانک استفاده گشت. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰ درصد احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می‌گردد (21).

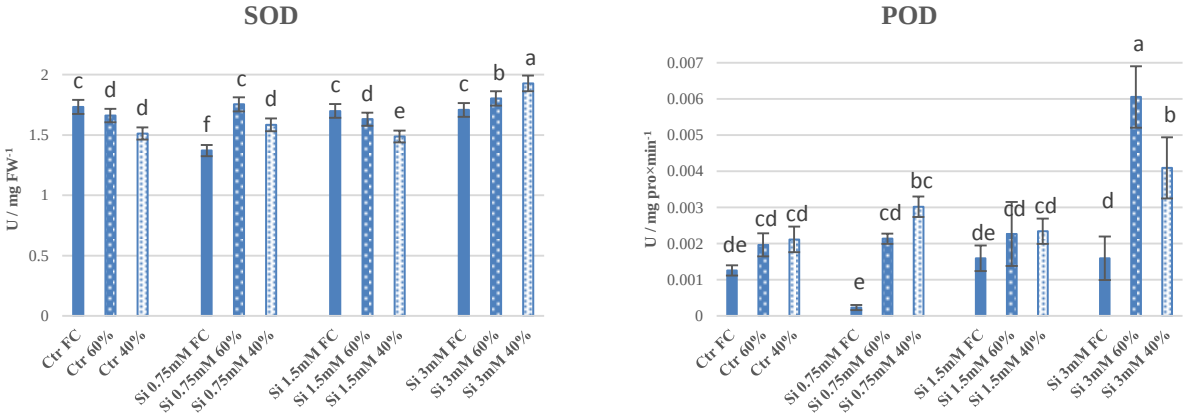
**بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)**

جهت اندازه گیری آنزیم پراکسیداز از ۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات، ۷۰۰ میکرولیتر محلول گایاکول، ۷۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده شد و فعالیت آنزیمی آنزیم مذکور در مدت زمان ۲ دقیقه در طول موج ٤۷۰ نانومتر قرائت گردید (۲۲).

**تجزیه وتحلیل آماری:** تجزیه واریانس این بررسی با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام و از آزمون LSD جهت مقایسه میانگین‌ها با کمک نرم افزار Genstat 14$^{th}$ استفاده شد.

## نتایج

نتایج تجزیه و تحلیل نشان داد که تمامی اثرات ساده و متقابل فعالیت آنزیم‌های SOD و POD در این بررسی در سطح احتمالا یک درصد معنی‌دار بود (نتایج آورده نشده است). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی میزان فعالیت SOD در تیمار کنترل و 1.5mM سیلیکون کاهش می‌یابد. در حالی که نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های 0.75 و 3 میلی‌مولار سیلیکون با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم SOD افزایش یافت. کمترین میزان فعالیت این آنزیم در Si 0.75mM بدون تنش و بیشترین فعالیت در Si 3mM تحت آبیاری ٤۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (شکل ۱-SOD). مطالعات Cao و همکاران (2017) نشان داد که تیمار سیلیکون تحت تنش کم آبی سبب افزایش فعالیت آنزیم SOD و کاهش تخریب حاصل از ROS در گیاه گوجه فرنگی می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم SOD یکی از مارکرهای بیوشیمیایی جهت برآورد میزان تنش و واکنش سیستم دفاعی به آن است. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار که حداقل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در آن مشاهده شد می‌تواند از مناسب‌ترین تیمارها در افزایش تحمل به خشکی باشد.




شکل ۱. تغییر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز(POD) گیاه گوجه فرنگی تحت تیمار مقادیر مختلف سیلیکون و تنش خشکی

فعالیت آنزیم POD در تیمار کنترل و 1.5mM سیلیکون تحت تنش خشکی (مقادیر مختلف آبیاری) تغییر نکرد. ولی در نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های 0.75 و 3 میلی‌مولار سیلیکون با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم POD افزایش یافت (شکل ۱- POD). مطالعات نشان می‌دهد که تیمار سیلیکون سبب افزایش فعالیت POD در گیاهان تحت تنش خشکی می‌شود (Ning et al., 2020; Sattar et al., 2019; Zhang et al., 2020). آنزیم POD یکی از آنزیم‌های کلیدی در مسیر سنتز لیگنین و جاروب ROS است (He, He, Zhang, Zou, & Wang, 2007; Yang et al., 2018) و افزایش فعالیت این آنزیم سبب القای تحمل به تنش می‌شود. برخلاف ادعا مطرح شده در مورد آنزیم SOD به نظر می‌رسد تیمار 3mM سیلیکون نقش اساسی‌تری در تحمل به تنش کم آبیاری دارد. این تضاد می‌تواند به این دلیل باشد که آنزیم SOD اختصاصا در مواجهه با رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعالیت دارد در حالی که آنزیم POD در مسیرهای مختلف از جمله سنتز لیگنین فعال می‌باشد. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که غلظت بالای سیلیکون (سه میلی‌مولار) نیز به عنوان تنش ثانویه بر تنش قطع آبیاری افزوده می‌شود و با از بین رفتن سلول‌های گیاهی مسیر سنتز لیگنین شدت می‌گیرد.

**جمع بندی**

تیمار سیلیکون سبب استحکام و یکپارچگی دیواره سلول گوجه فرنگی تحت تنش آبیاری می‌شود (Cao et al., 2017). در این بررسی نشان داده شد که غلظت کم سیلیکون سبب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تخفیف تاثیرات مخرب تنش خشکی گیاه گوجه فرنگی می‌شود.

**فهرست منابع:**

Cao, B., Wang, L., Gao, S., Xia, J., & Xu, K. (2017). Silicon-mediated changes in radial hydraulic conductivity and cell wall stability are involved in silicon-induced drought resistance in tomato. *Protoplasma*, *254*(6), 2295–2304.

He, Z., He, C., Zhang, Z., Zou, Z., & Wang, H. (2007). Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *59*(2), 128–133.

Ning, D., Qin, A., Liu, Z., Duan, A., Xiao, J., Zhang, J., … Liu, Z. (2020). Silicon-Mediated Physiological and Agronomic Responses of Maize to Drought Stress Imposed at the Vegetative and Reproductive Stages. *Agronomy*, *10*(8), 1136.

Sattar, A., Cheema, M. A., Sher, A., Ijaz, M., Ul-Allah, S., Nawaz, A., … Ali, Q. (2019). Physiological and biochemical attributes of bread wheat (Triticum aestivum L.) seedlings are influenced by foliar application of silicon and selenium under water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum*, *41*(8), 146.

Yang, C., Liang, Y., Qiu, D., Zeng, H., Yuan, J., & Yang, X. (2018). Lignin metabolism involves Botrytis cinerea BcGs1-induced defense response in tomato. *BMC Plant Biology*, *18*(1), 103.

Zhang, Z., Fan, J., Wu, J., Zhang, L., Wang, J., Zhang, B., & Wang-Pruski, G. (2020). Alleviating effect of silicon on melon seed germination under autotoxicity stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *188*, 109901.

# Silicon treatment modifies the activity of POD and SOD enzymes in tomato plants under irrigation stress

***Ali Pakdin Parizi[1], Seyedeh Fateme Mousavi Rine[2], Bahareh Jalali Kalkenari[2], Tooba Ahmadi[2], Ali Raei[3] & Mostafa Haghpanah[3*]***

1. *Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan - Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University*
2. *Amol University of Special Modern Technologies*
3. *Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University*

**Abstract**

In tolerating the biotic and abiotic stresses in plants, antioxidant enzymes have one of the most important roles. One of the most significant challenges to agricultural development is drought stress, and the use of elicitors such as silicon can decrease the intensity of stress degradation. The impact of different silicon treatment concentrations on the superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) enzymes activity under the stress reduction of tomato irrigation (CH Falat cultivar) was studied in a factorial experiment based on a completely randomized design. The findings have shown that the level of SOD activity in the treatment of Control and 1.5 mM silicon decreases as the severity of drought stress increases. While the samples treated with concentrations of 0.75 and 3 mM silicon increased the activity of SOD enzyme with increasing stress intensity. Also, increased stress severity, raised POD activity in the treated samples with concentrations of 0.75 and 3 mM silicon. In this study, it was shown that low concentrations of silicon alter the activity of antioxidant enzymes and alleviate the destructive effects of drought stress on tomato.

**Keywords:** ROS, Drought stress, Dehydration, Silicic acid

# اثر پرایمینگ بور (B) بر محتوای آنتی‌اسیدانی گیاهچه کینوا (*Chnopodium quinoa* willd)

***علی منصوری، حشمت امیدی*، امیر بستانی***

*دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران*

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: omidi@shahed.ac.ir*

**چکیده**

آنتی اکسیدان‌ها موادی هستند که از گیاهان و جانوران در مقابل عوامل بیرونی و بخصوص گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند. به منظور بررسی اثر پرایمینگ بذور کینوا (ژنوتیپ تیتیکاکا) با عنصر کم مصرف بور در پنج سطح (شاهد، ۱در هزار، ۲در هزار، ۳در هزار و ٤در هزار) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. نتایج پژوهش نشان داد که پرایمینگ بذور با عنصر کم مصرف بور بر میزان فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه اثر مثبت و معنی‌دار داشت. محلول ۱ در هزار بور به عنوان بهترین تیمار این آزمایش باعث افزایش میزان فعالیت کاتالاز (۲۲۲ درصد)، آسکوربات پراکسیداز (۸٦/٤ درصد) و پلی فنل اکسیداز (۷٦ درصد) شد. همچنین مشاهده شد که پرایمینگ بذور با محلول ٤ در هزار بور باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه شد که می‌تواند به علت سمیت بور در غلظت‌های بالا باشد.

**کلمات کلیدی:** آسکوربات پراکسیداز، آنتی اکسیدان، بور، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز

## مقدمه

کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa* willd از خانواده Chenopodiaceae گیاهی ارزشمند با خواصی ارزشمند است (FAO, 2013). کینوا ازنظر تغذیه‌ایی بسیار غنی است و تنها ماده گیاهی است که تمام آمینواسیدهای موردنیاز بدن را در خود دارد. بذر کینوا دارای حدود ۱٦ تا ۲۲ درصد پروتئین است و تعادل مناسب آمینواسیدهای آن مشابه با آمینواسیدهای ضروری موجود در شیر است (Bhargava *et al.*, 2006). ترکیب اسیدهای چرب موجود در دانه کینوا عمدتاً از اسیدهای چرب غیراشباع تشکیل‌شده که اثرات مثبت تغذیه‌ایی دارند و از بروز بیماری‌های قلبی–عروقی جلوگیری می‌کنند و سبب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند (Abugoch and James, 2009).

آنتی اکسیدان‌ها (ROS) موادی هستند که با غیرفعال کردن گونه‌های اکسیژن فعال موجب جلوگیری از اثرات مخرب آنها و محافظت از سلول‌ها می‌شوند. سیستم آنتی اکسیدانی در پیکره گیاهان مبتنی بر دو حالت آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد. سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی در گیاهان شامل فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد (Varghese *et al.*, 2008). یکی از اشکال بسیار مخرب گونه‌های فعال اکسیژن پراکسید هیدروژن می‌باشد. آنزیم کاتالاز این ماده را به آب و اکسیژن تبدیل کرده و مانع از عمل مخرب این ماده می‌شود (Mittler, 2002). آنزیم پلی فنل اکسیداز تبدیل مونوفنول‌ها را بـه دی‌فنول‌هـا و همچنین اکسیداسیون دی‌فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلیمریزاسیون رنگدانه نقش دارند، کاتالیز می‌کند. کوئینون‌ها ماده بسیار سمی هستند که مانع حمله پاتوژن‌ها به سلول‌ها می‌شوند (Breusegem *et al.*, 2001).

پرایمینگ روشی ساده، ارزان و بسیار کارآمد است. در این روش بذور به صورت کنترل شده در آب یا محلول‌های اسموتیک آب جذب می نمایند و سپس خشک می‌شوند. میزان جذب آب در این روش به اندازه‌ایی است که موجب آغاز فعالیت‌های شیمیایی جوانه‌زنی شده اما قبل از خروج ریشه‌چه متوقف می‌شود (Hashemi fesharaki *et al.*, 2016). نتایج پژوهشی نشان داد که پرایمنیگ موجب افزایش میزان جوانه‌زنی و بهبود محتوای شیمیایی کینوا می‌شود (Mansouri and Omidi, 2018). تحقیقات نشان می‌دهد که پرایمینگ بذور باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه می‌شود (Chiu *et al.*, 2002).

بور عنصری کم مصرف اما ضروری برای موجودات زنده می‌باشد. بور نقش موثری در انتقال قند، جذب کاتیون و آنیون و متابولیسم نیتروژن، فسفر، کربوهیدرات و چربی (Rehman *et al.*, 2012)، متابولیسم فنل، جذب نمک، فرآیند گلدهی و میوه‌دهی و جوانه‌زنی دانه گرده دارد (Rafeii and Pakkish, 2014). پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر پرایمنیگ بور بر محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاه کینوا انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه فرآوری بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد تهران انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. پرایمینگ بذور کینوا (ژنوتیپ تیتیکاکا) با عنصر بور در پنج سطح شاهد، غلظت‌های ۱ در هزار، ۲ در هزار، ۳ در هزار و ٤ در هزار بور بود. از کاغذ واتمن شماره یک استریل شده به عنوان بستر کشت در پتری دیش استفاده شد. تعداد ۱۰۰ عدد بذر در هر پتری قرار داده شده و سپس پتری ها به ژرمیناتور با دمای ۱±۲۰ درجه سانتی گراد، رطوبت ۷۰٪، ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند (ISTA, 2013). دوره جوانه زنی طی ٦ روز کامل شد. سپس گیاهچه‌های به وجود آمده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به محیط کشت هیدروپونیک منتقل شدند و تا مرحله ٦ برگی در آن شرایط نگهداری شدند. پس از آن محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاهچه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش چانس و مهلی (1995)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (1981) و برای اندازه گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز از روش محمدی و کاظمی (2002) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده با نرم افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین توسط آزمون دانکن انجام شد.

## نتایج و بحث

**کاتالاز:** اثر پرایمینگ بور بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). محلول ۱ در هزار بور موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد (۲/۲ برابر) اما با افزایش غلظت تا سطح ۳ د رهزار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به محلول ۱ در هزار کاهش یافت (جدول ۱). پرایمینگ با محلول ٤ در هزار بور تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشت. اسدی آقبلاغی و رضوی (2020) گزارش کردند که پرایمینگ موجب افزایش فعالیت کاتالاز می‌شود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. افزایش میزان فعالیت کاتالاز می‌تواند به علت افزایش میزان متابولیسم نیتروژن بر اثر پرایمینگ بور باشد.

**آسکوربات پراکسیداز:** اثر پرایمینگ بور بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). پرایمینگ با محلول‌های ۱ در هزار، ۲ در هزار و ۳ در هزار بور موجب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد شد و بیشترین فعالیت آنزیم با پرایمینگ بذور با محلول ۱ در هزار بدست آمد (جدول ۱). استفاده از محلول ٤ در هزار بور باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد شد (٤٨/٩ درصد). خاتمی و همکاران (١٣٩٤) گزارش کردند که پرایمینگ بذور موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز می‌گردد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. عنصر بور اثرات زیادی بر فعالیت‌های اساسی گیاهان دارد که متاسفانه چگونگی آنها تا کنون ناشناخته مانده است.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف پرایمینگ بور بر محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه کینوا

| | منابع تغییرات | | | سطوح مختلف بور | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | بور | خطا | ضریب تغییرات (٪) | شاهد | ۱ در هزار | ۲ در هزار | ۳ در هزار | ٤ در هزار |
| کاتالاز (U/ming fw) | ۳/۰۱۳** | ۰/۰۵۲ | ۱۲/۲۵ | ۱/۰۸۸$^{d}$ | ۳/۵۰۹$^{a}$ | ۲/۰۸۱$^{b}$ | ۱/۵٦۷$^{c}$ | ۱/۱۰٦$^{d}$ |
| آسکوربات پراکسیداز (U/ming fw) | ٤/۲۷** | ۰/۰۷٤ | ۹/٦٦ | ۲/٤۲۷$^{c}$ | ٤/۵۲٤$^{a}$ | ۳/۱۹۰$^{b}$ | ۲/۷۷۰$^{bc}$ | ۱/۲٤۰$^{d}$ |
| پلی فنل اکسیداز U/min/mg ) (protein | ۰/۵۳٤** | ۰/۰۲۸ | ۱٦/۷۸ | ۰/۷۷٦$^{b}$ | ۱/۳٦٦$^{a}$ | ۱/۱۵۹$^{a}$ | ۰/۵۸۹$^{b}$ | ۰/۳۲۲$^{c}$ |
| درجه آزادی | ٤ | ۱۰ | | | | | | |

** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد؛ در هر ردیف میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵ درصد آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند

**پلی فنل اکسیداز:** اثر پرایمینگ بور در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). محلول‌های ۱ در هزار و ۲ در هزار بور به ترتیب باعث افزایش ٧٦ و ٤٩/٣ درصدی فعالیت پلی فنل اکسیداز شد (جدول ۱). محلول ۳ درهزار تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت و محلول ٤ در هزار باعث کاهش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد شد (۵۸ درصد). سهرابیانی و همکاران (2019) گزارش کردند که پرایمینگ بذور باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بخصوص پلی فنل اکسیداز شد.

## نتیجه گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پرایمینگ بذور با محلول بور سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های کینوا شد. محلول‌های رقیق‌تر بور نسبت به محلول‌های غلیظ‌تر نتایج بهتری از خود نشان دادند. حتی مشاهده شد که محلول غلیظ بور (٤ در هزار) موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد شد. طبق نتایج بدست آمده، پرایمینگ بذور با محلول ۱ در هزار بور برای آزمایشات آتی پیشنهاد می‌گردد.

## منابع

Abugoch/ L. and James/ L.E. 2009. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry, nutritional and functional properties. Advances in Food and Nutrition Research. 58:1-31.

Asadi aghbalaghi/ M.V. and Razavi/ F. (2020) Effect of salicylic acid priming on germination and catalase activity in accelerated Field pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Fourth International Conference on Agricultural Sciences, Environment, Urban and Rural Development. March 2020. Tbilisi .Georgia. [in Persian]

Bhargava/ A. Shukla/ S. and Ohri/ D. (2006) *Chenopodium quinoa* – An Indian perspective. Industrial Crops and Products. 23: 73–87.

Breusegem/ F.V. Vranova/ E. Dat/ J.F. and Inze/ D. (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Sci. 161: 405-414.

Chance/ B. and Maehly/ C .(1955) Assay of catalase and peroxidases. Methods Enzymol 11:764–775.

Chiu/ K.Y. Chen/ C.L. and Sung/ J.M. (2002) Effect of priming temperature on storability of primed sh-2 sweet corn seed. Crop Science. 42

FAO. (2013) Quinoa; an acient crop to contribute to world food security. Regional Office for Latin America and the Caribbean, 63 p.

Hashemi fesharaki/ S. Hamidi/ A. and Vazan/ S. (2016) Evaluation of the effect of initial germination percentage and seed size and shape of 704 single cross hybrid corn on some seed vigor indices. Iranian Seed Science and Research. 3(1): 63-73. [in Persian]

Khatami/ S.R. Sedghi/ M. and Seyed sharifi/ R. (2005) Investigation of the effect of priming on the activity of corn antioxidant enzymes under drought stress. Fourth National Congress of Organic and Conventional Agriculture. 19-20 August 2015. Ardebil. Iran. [in Persian]

Mansouri/ A. And Omidi/ H. (2018) Effect of chitosan and potassium nitrate nanoparticles on germination and some morphophysiological characteristics of quinoa seedling. Iranian Seed Research. 5(1): 147-159. [in Persian]

Mittler/ R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405-410.

Rafeii/ S. and Pakkish/ Z. (2014) Effect of Boric acid spray on growth and development of 'Camarosa' strawberry (Fragaria × ananassa Duch.). International journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2(4): 1060-1063.

Mohammadi/ M. and Kazemi/ H.(2002) Changes in Peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with Fusarium graminearum and induced resistance. Plant Science. 162: 491-498.

Rehman/ A. Farooq/ M. Cheema/ Z.A. and Wahid/ A. (2012) Role of boron in leaf elongation and tillering dynamics in fine grain aromatic rice. Journal of Plant Nutrition. 23: 1507-1515.

Sohradiani/ S. Moradi/ A. Salehi/ A. and Baloochi/ H. (2019) ncreasing the physiological and biochemical efficiency of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) with different shelf life under salinity stress. Plant process and function. 7(27): 119-134.

Varghese/ B. Chandra/ S. and Naithani/ C. (2008) Oxidative metabolism-related changes in cryogenically stored neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds. Journal of Plant Physiology. 165: 755- 765.

# Effect of Boron (B) priming on the antioxidant content of Quinoa (*Chnopodium quinoa* willd)

***Ali Mansouri, Heshmat Omidi *, Amir Bostani***
*Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran*
**Email of the responsible author: omidi@shahed.ac.ir*

**Abstract:**

Antioxidants are substances that protect plants and animals from external factors, especially reactive oxygen species. In order to investigate the effect of Quinoa seed priming (Titicaca genotype) with Boron trace element at five levels (control, 1 per thousand, 2 per thousand, 3 per thousand and 4 per thousand), a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with 3 replications. The results showed that the priming of seeds with Boron had a positive and significant effect on the activity of the studied enzymes. Solution 1 per thousand Boron as the best treatment in this experiment increased the activity of Catalase (222%), Ascorbate peroxidase (86.4%) and Polyphenol oxidase (76%). It was also observed that priming the seeds with a solution of 4 per thousand Boron reduced the activity of the enzymes studied, which could be due to Boron toxicity at high concentrations.

**Key words:** Ascorbate peroxidase, Antioxidant, Boron, Polyphenol oxidase, Catalase

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# اثر پرایمینگ بور (B) بر محتوای آنتی اکسیدانی گیاهچه گندم (*Triticum aestivum* L.)

*علی منصوری، حشمت امیدی**

*دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران*

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: omidi@shahed.ac.ir*

**چکیده:** آنتی اکسیدان‌ها سیستم دفاعی سلول‌های زنده در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن هستند. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پرایمینگ بذور گندم با عنصر کم مصرف بور (در پنج سطح صفر به عنوان شاهد، ۱ در هزار، ۲ در هزار، ۳ در هزار و ٤ در هزار) بر محتوای آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های گندم، به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در ۳ تکرار در آزمایشگاه فرآوری بذر دانشگاه شاهد تهران اجرا شد. نتایج پژوهش نشان داد که اثر پرایمینگ بور بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز بیشتر فعالیت خود را در تیمار ۲ در هزار بور نشان دادند. پرایمنیگ بذور گندم با این محلول باعث افزایش ۸۵ درصدی فعالیت سوپراکسیددسموتاز و افزایش ٦۲/٦ درصدی کاتالاز شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار ٤ در هزار بدست آمد. محلول ٤ در هزار بور موجب افزایش فعالیت پراکسیداز به میزان ٤۰/۳ درصد شد.

**کلمات کلیدی:** آنتی اکسیدان، بور، پراکسیداز، سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز

**مقدمه**

گندم با نام علمی *Triticum aestivum* L. یکی از مهمترین محصولات کشاورزی و تامین کننده درصد بزرگی از غذای جمعیت جهان است. از این رو نیاز است تا با مطالعات هر چه بیشتر، در مسیر بهبود کیفیت کشت و کار و محتوای تغذیه‌ایی آن گام برداشت.

یکی از مهم‌ترین و در عین حال ساده‌ترین روش‌های بهبود رشد و کیفیت محتوای شیمیایی محصولات کشاورزی، پرایمینگ بذر است (Donaldson *et al.*, 2001). در این روش بذور قبل از کاشت طی مدت زمان مشخصی در آب، محلول‌های اسموتیک یا محلول مواد شیمیایی مختلف قرار گرفته و آب جذب می‌کند اما قبل از ظهور ریشه‌چه، جذب آب متوقف می‌گردد (Jensen *et al.*, 2004). این عمل موجب بهبود درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاه‌چه و محتوای بیوشیمیایی و بخصوص محتوای آنتی اکسیدانی گیاهان مختلف می‌گردد (Caseiro *et al.*, 2004; Souza *et al*, 2016; Moreno *et al.*, 2018).

بور (B) یکی از عناصر کم مصرف اما حیاتی برای گیاهان است. عنصر بور دارای اثر بر روی بسیاری از کارکردهای گیاه ازجمله طویل شدن سلول، ساخت اسید نوکلئیک، پاسخ‌های هورمونی،کارکرد غشایی، تنظیم چرخه سلول، ایجاد پیوند کووالانسی در دیواره سلولی (Taiz and Zeeiger, 2006)، متابولیسم نیتروژن، فسفر، کربوهیدرات و چربی (Tanaka and Fujiwara, 2008)، فرآیند گلدهی و میوه‌دهی و جوانه‌زنی دانه گرده دارد (Rafeii and Pakkish, 2014). البته نحوه اثرگذاری بور تا کنون ناشناخته است.

**مواد و روش‌ها**

پژوهش حاضر در آزمایشگاه فرآوری بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد تهران به‌صورت فاکتوریل یک عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ۳ تکرار اجرا شد. عامل مورد بررسی، پرایمنگ بذور با عنصر بور از منبع بوریک اسید در پنج سطح (صفر به عنوان شاهد، ۱ در هزار، ۲ در هزار، ۳ در هزار و ٤ در هزار) بود. تعداد ۵۰ عدد بذر، پس از ضدعفونی توسط هیپوکلرید سدیم، بر روی محیط کشت کاغذ واتمن شماره ۱ در پتری دیش قرار گرفت. به هر پتری دیش میزان ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. به‌منظور کاهش تبخیر آب، درب پتری‌ها با پارافیلم کاملاً بسته شد. پتری‌ها به ژرمیناتور با دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ درصد، ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. پس از گذشت یک هفته محتوای آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های تولیدی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسیددسموتاز از روش جیناپلایتیس و ریس (Giannopolitis and Reis, 1977)، برای اندازه‌گیری پراکسیداز از روش قناتی (Ghanati *et al.*, 2002) و برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ایبی (Aebi, 1984) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

**نتایج و بحث**

**سوپراکسیددسموتاز:** اثر پرایمینگ بور بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). محلول‌های ۱ در هزار و ۲ در هزار بور به ترتیب باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز به میزان ٥٤/۳ درصد و ۸۵ درصد نسبت به تیمار شاهد شدند. اما افزایش غلظت محلول بور تا سطوح ۳ در هزار و ٤ در هزار به ترتیب باعث

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف پرایمینگ بور بر محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه گندم

| | منابع تغییرات | | | سطوح مختلف بور | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | بور | خطا | ضریب تغییرات (٪) | شاهد | ۱ در هزار | ۲ در هزار | ۳ در هزار | ٤ در هزار |
| سوپراکسیددسموتاز (U/gfw) | ٦۲۹۰/۷٦** | ۱۳۷/۲٦ | ۷/۹٤ | ۱۱٤/٦٦$^{cd}$ | ۱۷٦/٦٦$^{b}$ | ۲۱۱/٦٦$^{a}$ | ۱۱۳/۰۰$^{c}$ | ۱۰۱/۳۳$^{d}$ |
| کاتالاز (mMH2O2/gfw/min) | ۰/۲٤** | ۰/۰۰۵ | ۸/۸۸ | ۰/۷۵$^{c}$ | ۰/۹۵$^{b}$ | ۱/۲۲$^{a}$ | ۰/۸۳$^{bc}$ | ۰/٤۳$^{d}$ |
| پراکسیداز (mM/gfw/min) | ٤۹٤۳۲/۹۳** | ۵۲۳/۲٦ | ٦/۰٤ | ۳۷٤/٦۷$^{c}$ | ۱۸٦/٦۷$^{d}$ | ۳٤۵/۳۳$^{c}$ | ٤۵۹/۳۳$^{b}$ | ۵۲۵/۰۰$^{a}$ |
| درجه آزادی | ٤ | ۱۰ | | | | | | |

** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد؛ در هر ردیف میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵ درصد آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند

شد که میزان فعالیت آنزیم ۰/۸ درصد و ۱۱/٤ درصد کاهش یابد (جدول ۱). افکاری (2017) گزارش کرد که پرایمنگ بذور ریحان باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز در گیاهچه شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

سوپراکسیددسموتاز یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان است که باعث محافظت از گیاه در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. این آنزیم باعث حذف و غیرفعال شدن مولکول سوپراکسید شده که یکی از خطرناک‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن است (Smirnoff, 1998).

**کاتالاز:** اثر پرایمینگ بور بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با پرایمنیگ بذور با محلول ۲ در هزار بور بدست آمد. این تیمار توانست میزان فعالیت کاتالاز را به میزان ٦٢/٦ درصد نسبت به شاهد افزایش دهد. محلول‌های ۱ در هزار و ۳ در هزار نیز به ترتیب ٢٦/٦ و ١٠/٦ درصد فعالیت کاتالاز را افزایش دادند. این در حالی بود که تیمار ٤ در هزار میزان فعالیت کاتالاز را کاهش داد (جدول ۱). افزایش فعالیت کاتالاز بر اثر پرایمنگ بذور در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است (Burguieres *et al.*, 2007). پراکسیدهیدروژن ($H_2O_2$) یکی از مخرب‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن است. آنزیم کاتالاز با تجزیه پراکسیدهیدروژن به آب و اکسیژن مانع از عمل مخرب آن می‌شود (Sarvajeet and Narendra, 2010).

**پراکسیداز:** تغییرات میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اثر پرایمینگ بور در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد با افزایش غلظت محلول بور، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار پرایمینگ بذور با محلول ٤ در هزار بور بدست آمد. در این تیمار میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد ٤٠/٣ درصد افزایش یافت. محلول ۱ در هزار باعث کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد و محلول ۲ در هزار تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ایجاد نکرد (جدول ۱). احمدپور دهکردی و بلوچی (2012) نیز در نتایج مطالعه خود با هدف بررسی اثر پرایمینگ روی گیاهچه سیاهدانه نتایج مشابهی را گزارش کردند. آنزیم پراکسیداز در تجزیه هیدروژن پراکسید نقش دارد و در دیـواره سلولی، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و واکوئل یافت می‌شود (Schloss *et al.*, 1987).

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پرایمنگ بور اثرات مثبتی بر محتوای آنتی اکسیدانی گیاهچه گندم دارد. تعیین غلظت مناسب محلول بور نیازمند تحقیقات بیشتر و تمرکز کافی بر هدف مورد نظر دارد. در این پژوهش مشاهده شد که غلظت مناسب برای بدست آمدن بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز، غلظت ۲ در هزار می‌باشد و افزایش غلظت باعث کاهش میزان فعالیت می‌گردد. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت‌های بالاتر می‌تواند به علت بروز اثرات سمی غلظت‌های بالای عنصر بور باشد. از طرف دیگر مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش غلظت محلول افزایش یافت.

## منابع

Aebi/ H. (1984) Catalase in vitro. Journal of Methods in enzymology. 105: 121–126.

Afkari/ A. (2017) The effect of seed priming on germination indices and activity of some antioxidant enzymes of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Joural of Developmental biology. 9(3): 33-44. [In persian]

Ahmadpour Dehkordi/ S. and Balouchi/ H. R. (2012) Effect of seed priming on antioxidant enzymes and lipids peroxidation of cell membrane in Black cumin (*Nigella sativa*) seedling under salinity and drought stress. Journal of Crop Production. 5(4): 63-85. [In persian]

Caseiro/ R. Bennett/ M.A. and Marcos-Filho/ J. (2004) Comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. Seed Science and Technology. 32: 365-375.

Donaldson/ E. Schillinger/ W. F. and Stephen/ M. D. (2001) Straw production and grain yield relationships in winter wheat. Crop Sci. 41:100 106.

Giannopolitis/ C. and Ries/ S. K. (1977) Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plant. Journal of Plant Physiology. 59: 309-314

Jensen/ B. Inge/ M. B. and Funck/ D. (2004) Bio-priming of infected carrot seed with and antagonist, colonostachys rosea, selected for control of seed borne Alternaria spp. Phytopatalogy. 4(6): 551-560.

Moreno/ C. Seal/ C.E. and Papenbrock/ J. (2018) Grain priming improves germination in saline conditions for Chenopodium quinoa and Amaranthus caudatus. Journal of Agronomy and Crop Science. 204: 40-48.

Rafeii/ S and Pakkish/ Z. (2014) Effect of Boric acid spray on growth and development of 'Camarosa' strawberry (Fragaria × ananassa Duch.). International journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2(4): 1060-1063.

Sarvajeet/ S.G. and Narendra/ T. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stresstolerance in crop plants. Plant Physiolgy and Biochemistry. 3: 1-22.

Schloss/ P. Walter/ C. and Mader/ M. (1987) Basic peroxidases in isolated vacuoles of *Nicotiana tabacum* L. Planta. 170: 225-229.

Smirnoff/ N. (1998) Plant resistance to environmental stress. Curr. Opin. Biotechnol. 9: 214-2.

Souza/ M. O. D. Pelacani/ C. R. Willems/ L. A. J. Castro/ R. D. Hilhorst/ H. W. M. and Ligterink/ W. (2016) Effect of osmopriming on germination and initial growth of *Physalis angulata* L. under salt stress and on expression of associated genes. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 88(l): 503-516.

Taiz/ L. and Zeeiger/ E. (2006) Plant Physiology. Sinauer Publishers Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 738p.

Tanaka/ M. and Fujiwara/ T. (2008) Physiological roles and transport mechanisms of B: perspectives from plants. Eur. J. Physiol. 456: 671-677.

# Effect of Boron priming (B) on the Antioxidant content of Wheat seedling (*Triticum aestivum* L.)

***Ali Mansouri, Heshmat Omidi****
*Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran*
**Email of the responsible author: omidi@shahed.ac.ir*

**Abstract:**
Antioxidants are the defense system of living cells against reactive oxygen species. This study was to investigate the effect of low-consumption element Boron priming (at five levels of zero as a control, 1 per thousand, 2 per thousand, 3 per thousand and 4 per thousand) on the antioxidant content of wheat seedlings, in factorial form in the basic design Completely randomized in 3 replications in the seed processing laboratory of Shahed University of Tehran. The results showed that the effect of Boron priming on antioxidant enzymes was significant at the level of 1% probability. Superoxide dismutase and Catalase enzymes showed most of their activity in treatment 2 per thousand Boron. Priming of Wheat seeds with this solution increased the activity of Superoxide dismutase by 85% and increased Catalase by 62.6%. The highest Peroxidase activity was obtained in the treatment of 4 per thousand. Solution 4 per thousand Boron increased Peroxidase activity by 40.3%.

**Keywords:** Antioxidant, Boron, Catalase, Peroxidase, Superoxide dismutase

# تاثیر تیمار پس از برداشت فولیک اسید در افزایش عمر انبار مانی میوه هلو در دمای پایین

برآوردی، حمید[1*] و پاک کیش، زهرا[2]

**۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی،دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران**

**۲- دانشیار بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران**

* (baravardihamid@gmail.com)

**چکیده**

در پژوهش حاضر به بررسی پس از قبل از برداشت فولیک اسید روی مقاومت به سرمای میوه هلو رقم آلبرتا طی انبارمانی در دمای پایین پرداخته شده است. میوه ها با فولیک اسید صفر (شاهد)، ۲۰ و ٤٠ میکرومول تیمار شدند و میوه های تیمار شده در دمای یک درجه سانتیگراد و با رطوبت نسبی ۵±۹۰ درصد برای مدت ۱۵ روزانبارمانی شدند. پارامترهایی مانند میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یون بررسی شدند. نتایج نشان دادند، میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یون میوه های تیمار شده نسبت به شاهد طی انبار مانی کمتر بود. بطور کلی نتایج نشان دادند، کاربرد فولیک اسید ٤٠ میکرومول موثرترین تیمار بوده است.

**کلمات کلیدی**: انبارمانی، فولیک اسید، سرمازدگی، هلو

## مقدمه

هلو غنی ازترکیبات فنلی وکارتنوئیدی هستند که نقش مهمی برسلامت انسان دارند. .میوه هلو حاوی طیف وسیعی از ترکیبات مختلف میباشد رنگ هلو بدلیل ترکیبی از آلفا وبتاکاروتن وبتا کریپتوگزانتین می‌باشد. چندین ترکیب درعطر وطعم هلو دخیل هستند مواد عطری فرار، موادآلی، فنل وقندها شناخته شده‌ترین مواد می‌باشند. اسید عمده در هلو اسیدمالیک (بیش ۵۰٪ از کل اسیدها) پس از آن اسیدسیتریک، اسیدکینیک و اسیدسوکسینیک می‌باشند. اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) موجود در میوه هلو عمدتا پایین است (کمتراز۱۰میلی گرم در۱۰۰گرم وزن تازه میوه) و در برخی ارقام مقدار آن بالاتر است. مقدار قند هلو ممکن است تا۲۰٪ یا بیشترهم برسد (جلیلی مرندی، ۱۳۸۸). بیماری‌های بعد از برداشت نقش مهمی در محدود کردن عمر انبارمانی میوه هلو دارند. پوسیدگی بعد از برداشت مهم‌ترین فاکتوری است که طول عمر بسیاری از محصولات آبدار برداشت شده را محدود می سازد. در طی انبار طولانی به دلیل تغییرات فیزیولوژیکی که در محصول انجام می‌گیرد، باعث می‌گردد، عامل بیماری بتواند در میوه رشد کند و آسیب پذیری نسبت به بیماری‌های بعد از برداشت افزایش یابد (Eckert and Eaks, 1989). برای افزایش عمر انباری هلو به انبار صفر درجه سانتی گراد نیاز است و اگر زمانی طولانی در این دما قرار گیرد باعث سرمازدگی هلو می‌شود که باعث قهوه‌ای شدن میوه می‌شود. استرس سرمازدگی در هلو باعث پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش استحکام سلول‌ها و بافت می شود (Hodges et al., 2004). هلو مستعد سرمازدگی در انبار است که علائم آن قهوه‌ای شدن درونی، نا توانی در رسیدن و کاهش بو مزه می‌باشد. اسید فولیک ترکیب اصلی از مواد هیومیکی (هیومین) است که به طور طبیعی از تجزیه زیستی موجودات زنده و

گیاهان تشکیل و تقریباً ۵۰ درصد کربن کرهی زمین را به خود اختصاص می‌دهد (Miao et al., 2018) .اسید فولیک فعال ترین ترکیب هیومیک بوده و باعث حل شدن مواد معدنی در آب شده و به راحتی عناصر غذایی را از طریق یک کمپلکس به گیاه منتقل می‌نماید. اسید فولیک می‌تواند ویتامین‌ها، ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی را در خود حل نموده و از این طریق باعث بهبود رشد و نمو گیاه شود (ملکوتی و سماوات، ۱۳۸٤). در مطالعه ای اثر نیتروژن آلی و محلول پاشی اسید فولیک بر رشد و عملکرد سویا بررسی شد و نتایج نشان داد که با استفاده از نیتروژن آلی و اسید فولویک به طور قابل توجهی افزایش ارتفاع در گیاه و تعداد برگ ها و عملکرد بذر دیده شد (Kadam et al., 2008). اسید فولیک در تنظیم بسیاری از فرآیندهای اکولوژیکی و زیست محیطی بسیار مهم به عنوان مثال در حفظ رشد و چرخه زندگی گیاه و میکروارگانیسم‌ها، تنظیم چرخه‌ی کربن و نیتروژن و ثبات ساختمان خاک و فلزات سنگین کمک می‌کنند. مواد هوموسی با میکروارگانیسم‌های مفید رشد گیاهی به‌عنوان محرک رشد یا عوامل کنترل بیولوژیکی ترکیب شده‌اند. هیومات ( کود های گیاهی و باکتری‌های محرک رشد گیاه) به‌عنوان پیش ماده برای رشد و جوانه‌زنی بذرها یا محلول پاشی روی برگ ها اعمال شده‌اند و به طور قابل توجهی تولید محصول را افزایش دادند(Olivares et al.,2015). هدف از این پژوهش، به حداقل رساندن ضایعات پس از برداشت و حفظ خصوصیات کیفی میوه در طول مدت انبارمانی میوه هلو با استفاده از محلولپاشی فولیک اسید بوده است.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر روی میوه‌های هسته داری نظیر هلوی رقم آلبرتا، جهت افزایش عمر انبارمانی انجام شده است. تیمارها شامل: فولیک اسید با غلظت ۲۰ و ٤۰ میلی مول و فولویک اسید با غلظت ۱۵ و ۳۰ میلی مول است. در این پژوهش میوه‌هایی که فقط با آب مقطر تیمار شوند، به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شده است. به‌منظور دقت بیشتر و به حداقل رساندن خطا، حتی الامکان میوه‌های ذکر شده که از نظر شکل و اندازه یکسان هستند را انتخاب نموده و به مدت ۵ دقیقه در محلول های تهیه شده غوطه ور می نماییم. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شده است. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار و ٤ تکرار (طی۱۵ روز انبارمانی ) انجام گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و نمودارها توسط نرم افزار Excel ترسیم شد.

## نتایج و بحث

طبق نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و نشت یون در میوه های هلو تیمار شده و تیمار نشده، طی انبارمانی افزایش یافت ولی میوه های تیمار شده در پایان دوره انبارمانی میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و نشت یون کمتری داشتند و با شاهد تفاوت معنی داری داشتند و بین تیمار ۲۰ میکرو مول و ٤۰ میکرومول هم تفاوت معنی دار وجود داشت و کمترین میزان میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و نشت یون در تیمار فولیک اسید با غلظت بالاتر دیده شد. زمانی‌که سلول زنده در معرض تنش قرار می‌گیرد، برای مقابله با تنش، تولید اسمولیت مثل پرولین و قند محلول کرده و مکانیسم غیر آنزیمی را ایجاد و ازسلول حفاظت می‌کند. یکی از آسیب‌های جدی تنش به سلول رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین سلولی است. ترکیبات آلی مثل فولیک اسید، قندهای محلول، ترکیبات آمونیومی، گلایسین بتایین و آلانین

بتایین، همگی در سیتوپلاسم تجمع پیدا می‌کنند. در سلول‌های حساس به تنش مقدار پرولین بیشتری تجمع پیدا می‌کند. پرولین به‌عنوان یک (Chemical Chaperone) باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها شده و از به هم خوردن طبیعی ترکیبات آنزیمی جلوگیری می کند. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت مهم در تعدیل فشار اسمزی سلول تحت تنش‌هایی مانند خشکی، شوری و سرما نقش اساسی دارد. در واقع پرولین باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها ، آنزیم‌ها و غشا سلول می‌شود و از نشت یون و پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌نماید (Olivares et al., 2015)، که این یافته ها نتایج حاصل از پژوهش حاضر را تایید می-نمایند. فولیک اسید به‌عنوان یک اسمولیت مهم در تعدیل فشار اسمزی سلول عمل می کند، باعث پاکسازی رادیکال‌های آزاد، نقش حفاظتی از آنزیم‌های سیتوپلاسم، تثبیت کننده‌ی غشا به‌وسیله برهم‌کنش با فسفولیپیدها و کاهش نشت یون پتاسیم و شرکت در سنتز و تثبیت پروتئین‌ها حفض سلول را در مقابل تنش باعث می‌شود (AminifarD ET AL., 2012).

## نتیجه گیری

زمانی سلول زنده تحت تنش قرار می گیرند، آسیب می بینند که شدت آسیب به میزان تنش و مدت تنش بستگی دارد. ولی کاربرد خارجی موادی مانند فولیک اسید که باعث افزایش مقاومت سلول به تنش می‌شوند، ضروری است، سلول‌های زنده مکانیسم‌های دفاعی قوی و متعددی دارند، از جمله این مکانیسم‌ها، مکانسیم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشند که سنتز و تجمع فولیک اسید از جمله مکانسیم‌های غیر آنزیمی است که با حفظ و پایداری غشا سلول، جلوگیری از نشت یون و حفاظت از ماکرومولکول‌ها، سلول زنده را در مقابل تنش مقاوم می‌نماید، البته مقاومت سلول به تنش فرایند پیچیده‌ای است و تنها سنتز پرولین نمی‌تواند عامل مقاوم بودن آن باشد ولی وجود فولیک اسید به افزایش مقاومت سلول به تنش لازم می‌باشد ولی کافی نیست. بنابراین، کاربرد خارجی فولیک اسید جهت افزایش مقاومت به سرما میوه هلو طی انبارمانی توصیه می‌گردد.

## منابع

جلیلی مرندی، م. ۱۳۸۸. پرورش میوه های مناطق معتدله. انتشارات دانشگاه ارومیه. ۳۶۲صفحه.

Eckert, J. W. and I. L. Eaks. 1989.Postharvest disorders and diseases of citrus fruit. J. Am. Soc. Hort. Sci. 112:25-29.

Hodges, D. M., Leste, G. M., Munro, K. D. and Toivonen, P. M. A. 2004. Oxidative stress: importante for postharvest quality. HortScience. 39: 924-929

Miao, Z. H., Li, K., Liu, P. Y., Li, Z., Yang, H., Zhao, Q., Chang, M., Yang, Q., Zhen, L.and Xu,C. Y. 2018. Natural humic-acid based phototheranostic agent. Advanced HealthcareMaterials.DOI: 10.1002/adhm.201701202.

18-Mayhew, L .2004. Humic acid substances in biological agriculture .Eco-Agriculture. 34(182).

19-Kadam, S.R., Amrutsagar, W.M. Patil, S.R. and Bagwan, I.R .2008. Effect of organic nitrogen sources and fulvic acid spray on growth and yield of soybean in inceptisol. An Asian journal of soil science, 3 (2): 214-216.

Olivares, F. L., Aguiar, N. O. Rosa, R. C. C. and Canellas, L. P. 2015. Substrate bio fortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. Sci. Hortic. 183: 100–108.

Aminifard, M. H., Aroiee, H., Nemati, H., Azizi, M. and Hawa, Z. E. 2012. Fulvic acid affects pepper antioxidant activity and fruit quality. African Journal of Biotechnology. 11(68): 13179-13185.

# Effect of folic acid postharvest treatment on increasing shelf life of peach fruit under low temperature

*Baravardi Hamid [1]* and Pakkish Zahra [2]*

*1-Master Science (MSc.) Student , Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*

*2-Associate professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*

* (baravardihamid@gmail.com)

**Abstract**

This experiment was carried out to determine post-harvest effect of folic acid on increasing resistance of peach "Elberta" fruit to chilling during storage. Fruits of apricot were treated with 0 (control), 20 and 40 µMol folic acid and treated fruits then stored at 1°C, 90±5% relative humidity for 15 days. Parameters such as chilling injury percentage, ion leakage and lipid peroxidation evaluated. Results showed, The chilling injury percentage, ion leakage and lipid peroxidation of treated fruits was lower than control fruits and. So, fruits treated with 40 µMol folic showed the best effect.

**Key words**: Storage, Folic acid, Chilling, Peach

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شش اکوتیپ آویشن شیرازی، تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، γ-ترپینن و لینالول در برابر گونه‌های فعال اکسیژن

*فاطمه رحیمی[۱]، سید مجتبی قوامی[۲]**

*۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه اصفهان ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشگاه ایلام*

mojtaba.ghavami@gmail.com

**چکیده :**تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد برای سلول مضر است. گیاهان دارویی منبعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی پراکسید هیدروژن و محتوای فنل کل، اسانس آویشن از شش اکوتیپ به همراه تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، γ-ترپینن و لینالول استفاده شدند. تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین‌های انحراف معیار حداقل سه آزمایش مستقل بیان شدند. اختلاف معنادار بین تیمارها از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با سطح احتمال $P<0.05$ آنالیز شد. نتایج نشان داد مهارکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن اسانس اکوتیپ‌های آویشن شیرازی، تیمول و کارواکرول وابسته به غلظت بوده و در ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشتر از آن رادیکال‌ها نزدیک ۱۰۰٪ مهار شدند. مهارکنندگی پراکسید هیدروژن نیز بستگی به غلظت داشت و در ۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشتر، فعالیت مهارکنندگی نزدیک ۱۰۰٪ مهار بود. ترکیبات حاوی گروه فنلی نسبت به ترکیبات فاقد آن، فعالیت ضد رادیکالی قوی‌ای را نشان دادند.

**کلمات کلیدی**: آویشن شیرازی، اسانس، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدان، گونه‌های فعال اکسیژن

## مقدمه

گونه‌های فعال اکسیژن مولکول‌های کوچک مشتق از اکسیژن هستند که شامل رادیکال‌های اکسیژن از قبیل سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسید می‌شوند. گونه‌های فعال اکسیژن قادرند تا با مولکول‌های دیگر فعل و انفعال داشته و نقش مولکول‌های هدف را تغییر دهند و یا آن‌ها را تخریب نمایند (Circu et al., 2010). هدف‌های اکسیداسیون شامل پروتئین‌ها، DNA و لیپیدها می‌باشند (Scandalius., 2000). گیاهان دارویی به‌عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های مطرح‌اند. آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss متعلق به خانواده لامیاسه است که در مرکز و جنوب ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید (Hosseinzadeh et al., 2000). اسانس آویشن درصد خیلی بالایی از ترکیبات فنلی از قبیل تیمول و کارواکرول را در اختیار دارد (Shafiee et al., 1999). در این پژوهش فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شش اکوتیپ آویشن شیرازی و ترکیبات اصلی آن در برابر گونه-های فعال اکسیژن مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

بخش‌های هوایی آویشن شیرازی از گیاهان وحشی در کوهستان‌های استان فارس، تهیه شدند. برگ‌ها در سایه برای ۷۲ ساعت خشکانده و در ادامه برای سه ساعت با استفاده از یک کلونجر تقطیر آبی شدند. محصول اسانس آویشن از مواد برگی ۲/۳ درصد

وزنی-وزنی بود. تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، γ-ترپینن و لینالول از Sigma-Aldrich و Fluka تهیه شد.

**سنجش محتوای فنل کل:** محتوای فنل کل با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد (Marinova *et al.*, 2005). جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده و محتوی فنل کل به‌صورت میلی اکی‌والانت اسید گالیک در هر گرم اسانس آویشن بیان شد.

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سنجش مهارکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن:** به این منظور ۱۰ میکرولیتر از اسانس به یک میلی‌لیتر از محلول رقیق شده رادیکال ABTS افزوده شد، بعد از مخلوط کردن، جذب (A) در طول موج ۷۳٤ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدان به‌صورت میلی‌گرم اکی‌والانت های اسید آسکوربیک در هر گرم اسانس آویشن با استفاده از منحنی استاندارد بیان شد. از ویتامین C جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد. درصد مهارکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن از معادله $[(A734_{blank} - A734_{sample}) / A734_{blank}] \times 100$ محاسبه شد. غلظتی که می‌تواند ۵۰ درصد بازدارندگی را فراهم نماید ($IC_{50}$) از نموداری که درصد بازدارندگی در برابر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن را ترسیم می‌کرد، محاسبه شد (Kavoosi et al., 2012).

**سنجش مهار پراکسید هیدروژن:** ۱۰ میکرولیتر از اسانس آویشن با ۱ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن (۵۰ میلی مولار در ۱۰۰ میلی مولار بافر فسفات pH=۷/٤) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦۰ دقیقه انکوبه شد. سپس جذب (A) در طول موج ۲۳۰ نانومتر در برابر یک محلول شاهد حاوی بافر فسفات بدون پراکسید هیدروژن با اسپکتروفتومتر قرائت شد. درصد مهارکنندگی پراکسید هیدروژن از طریق معادله $[(A230_{blank} - A230_{test}) / A230_{blank}] \times 100$ محاسبه و $IC_{50}$ از نموداری که از طریق درصد بازدارندگی در برابر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن ترسیم می‌شد، محاسبه گردید (Kavoosi et al., 2012).

**آنالیز آماری:** داده‌ها به‌صورت میانگین‌های انحراف معیار حداقل سه آزمایش مستقل بیان شدند. اختلاف معنادار بین تیمارها از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با سطح احتمال $P<0.05$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند.

## نتایج و بحث

محتوی فنل کل برای اسانس آویشن اکوتیپ‌های ٦-۱ به ترتیب ۱٤/۳±۰/۸، ۱۲/٦±۰/٤، ۱۱/۱ ±۰/ ۵، ۱۰/۹±۰/۸، ۸/۹±۰/٤، ۸/۸±۰/٦ میکروگرم اکی‌والانت اسید گالیک در هر گرم اسانس آویشن بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس اکوتیپ‌های ٦-۱ آویشن، تیمول و کارواکرول به ترتیب ۱۹/۱±۱/۳، ۱۸/۸±۱/۲، ۱۸ /٤±۱/۲، ۱۸/۳±۱/۱، ۱۵/۱±۱/٤، ۱٤/۹±۱/۳، ۱٦/۸±۱/۳ و ۱٤/۸±۱/۳ میلی اکی‌والانت اسید آسکوربیک در هر گرم ترکیبات، بود. در غلظت‌های مصرفی γ-ترپینن و پارا-سیمن لینالول هیچ‌گونه فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده نشد. نتایج نشان داد مهارکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن وابسته به غلظت بوده و در ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشتر از آن رادیکال‌ها نزدیک ۱۰۰درصد مهار شدند. $IC_{50}$ جهت فعالیت مهارکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن توسط اسانس اکوتیپ‌های ٦-۱ آویشن شیرازی، تیمول و کارواکرول به ترتیب ۳/۷±۰/۲، ۳/۱±۰/۳، ٤/۸±۰/٦، ٤/٦±۰/۵، ۳/۷±۰/۵، ۰/۸ ±۳/۵، ۳ ±۰/٦، ۲/۷± ۰/۷، بود. این مقدار جهت پارا-سیمن، γ-ترپینن و لینالول بیش از ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. فعالیت مهارکنندگی پراکسید هیدروژن نیز وابسته به غلظت بوده و در غلظت ۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشتر از آن، پراکسید هیدروژن نزدیک ۱۰۰ درصد مهار شد. $IC_{50}$ برای فعالیت مهارکنندگی پراکسید هیدروژن توسط اسانس اکوتیپ‌های ٦-۱ آویشن شیرازی،

تیمول و کارواکرول به ترتیب ۰/٦ ±۳/٤، ۰/۵ ±٤/۳، ٤/۰/٦±٤/۵، ۳/۰±۵/۲، ۰/۷±۵/۷، ۰/۵±٦/۱، ٤/۰/٤±٤/۱، ۰/۳ ±٤/۵، بود. این مقدار جهت پارا–سیمن، γ –ترپینن و لینالول بیش از ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. پژوهش ما نشان داد که اسانس اکوتیپ‌های ٦-۱ آویشن شیرازی، کارواکرول و تیمول که حاوی گروه فنلی هستند، فعالیت مهارکنندگی رادیکالی قوی‌ای را دارند، درحالی‌که γ–ترپینن و پارا–سیمن و لینالول که فاقد گروه فنلی‌اند چنین اثراتی را نشان ندادند. چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌گونه‌ای که از طریق آزمون ۱و۱– دی فنیل–۲– پیکریل هیدرازیل اندازه‌گیری شود در پژوهش‌های قبلی هم گزارش شده بود (Shahsavari et al., 2008; Sharififar et al., 2007). تمامی نمونه اسانس‌های آویشن شیرازی به طور قابل‌توجهی از فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های مربوطه جلوگیری کردند. درحالی‌که اسانس آویشن غنی از تیمول فعالیت مهارکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن بیشتری را نسبت به اسانس آویشن غنی از کارواکرول نشان داد. این ظرفیت مهارکنندگی رادیکالی که به‌وسیله مطالعه پیشین نیز تأیید می‌شود به مونوترپن های فنلی شامل تیمول و کارواکرول مربوط می‌شود (Kavoosi et al., 2012; Huang et al., 2011). فعالیت مهارکنندگی رادیکالی این ترکیبات اساساً به‌خاطر پتانسیل اکسیداسیون–احیا آن‌ها است که قادر است نقش مهمی را در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد ایفا نماید. این فعالیت به گروه هیدروکسیل فنلی مربوط می‌شود (Huang et al., 2011; Katalinic et al., 2006). این ظرفیت مهارکنندگی پراکسید هیدروژن که از طریق مطالعه قبلی تأیید شده است به مونوترپن های فنلی شامل تیمول و کارواکرول مرتبط می‌شود (Kavoosi et al., 2012; Katalinic et al., 2006). نتایج نشان داد که پراکسید هیدروژن فعالیت اسانس آویشن را می‌کاهد که دلالت بر نقش سودمند این فرآورده در راستای کاهش صدمات در بافت‌های بیولوژیکی یا احتمال حفاظت بافت‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو از طریق رادیکال هیدروکسیل مشتق شده از پراکسید هیدروژن را دارد.

**فهرست منابع:**

Finkel, T., and N.J. Holbrook. (2000): Oxidants, Oxidative stress and the biology of ageing. NATURE-LONDON-239-47.

Kavoosi, G., Teixeira da Silva, J.A., (2012). Inhibitory effects of *Zataria multiflora* essential oil and its main components on nitric oxide and hydrogen peroxide production in glucose-stimulated human monocyte. Food and Chemical Toxicology 50, 3079-3085.

Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M., Khoshnoodi, M., (2007). *In vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. Food Control 18, 800-805.

Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A., Naghdi Badi, H., (2008). An investigation on the antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. in soy bean oil. journal of Medicinal Plants 7, 56-68.

Shafiee, A., javidnia, K., Tabatabai, M., (1999). Volatile constituents and antimicro bial activity of *Zataria multiflora*, population Iran. Iranian journal of Chemistry and Chemical Engineering 18, 1-5.

# Evaluation of antioxidant activity of six essential oils of six ecotypes of *Zataria multiflora*, thymol, carvacrol, p-cymene, γ-terpinene and linalool against reactive oxygen species

***Fatemeh Rahimi[1], Sayed Mojtaba Ghavami*[2]***
***1-Msc of Biochemistry, Department of Biology,University of Isfahan***
***2-Former Msc student of Horticultural Sciences, Department, college of agriculture,Ilam University***
***Mojtaba.ghavami@gmail.com***

**Abstract**:
Oxidative stress caused by free radicals is harmful to the cell. Medicinal plants are a source of antioxidants. To investigate the antioxidant activity and inhibition of hydrogen peroxide and total phenol content, the essential oils of six Ecotypes of *Zataria multiflora* along with thymol, carvacrol, p-cymene, γ-terpinene and linalool were used. All data were expressed as the mean of standard deviation of at least three independent experiments. Significant differences between treatments were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) with a level of $P < 0.05$. The results showed that inhibition of reactive oxygen species of essential oil of Ecotypes of *Zataria multiflora*, thymol and carvacrol was concentration dependent and in 12 µg / ml and more radicals were almost 100% inhibited. Inhibition of hydrogen peroxide was also concentration dependent and at 18 µg / ml and above, the inhibitory activity was close to 100%. The compounds containing the phenolic group showed stronger anti-radical activity compared to the compounds without it.

**Keywords:** *Zataria multiflora*, essential oil, phenolic content, antioxidant activity, reactive oxygen species

# تاثیر سطوح مختلف شوری بر روی مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین دانه رست های *Origanum vulgar*

**میثم کشتکار گروسی[۱،۲]، فروغ سنجریان[۱*]، علاالدین کردناییج[۲]**

**۱) گروه زیست فراورده های دارویی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری،تهران، ایران**

**۲) گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران ایران**

fsanjarian@nigeb.ac.ir

**چکیده:**

**گیاه** ***Origanum vulgar*** از گیاهان شناخته شده دارویی است که بعنوان چاشنی نیز کاربرد زیادی دارد. خواص دارویی این گیاه بدلیل متابولیت های ثانویه مفید و خواص آنتی اکسیدانی آن است. مقدار متابولیت های ثانویه گیاهان تحت تنش های مختلف از جمله تنش های محیطی تغییر می کنند. در این پژوهش بذرهای این گیاه در حضور سطوح مختلف شوری کشت شده و تاثیر تنش بر روی مقادیر فلاونوئید و آنتوسیانین بررسی شد. نتایج نشان داد که مقدار فلاونوئید اگرچه در برخی سطوح تنش کاهش می یابد اما این کاهش از الگوی مشخصی تبعیت نمی کند. مقدار آنتوسیانین ها با افزایش مقدار شوری تا 100 mM افزایش یافت و پس از آن کاهش شدیدی داشت.

کلمات کلیدی: مرزنجوش، فلاونوئید، آنتوسیانین، شوری

**مقدمه:**

متابولیت های ثانویه گیاهی ترکیباتی مشتق شده از متابولیت های اولیه هستند و فعالیت های فیزیولوژیکی گوناگونی را انجام می دهند، از جمله اینکه به سازگار شدن گیاه در تنش های محیطی کمک می‌کنند. از مهمترین متابولیت های ثانویه گیاهی ترکیبات فنلی یا پلی فنل ها هستند. این ترکیبات شامل گروه های مختلفی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها می شوند. سنتز فلاونوئیدها از مسیر فنیل پروپانوئید است جایی که فنیل آلانین به ٤-کومارین کوآ تبدیل شده و درنهایت وارد مسیر بیوسنتزی فلاونوئید می شود. اگرچه مسیر بیونتز فلاونوئیدها در گیاهان در طی تکامل حفظ شده است اما وجود آنزیم های مختلف مانند ایزومرازها، ردوکتازها، هیدروکسیلازها و دی اکسیژنازهای وابسته به آهن /اگزالات باعث تغییر در اسکلت فلاونوئیدی شده و در گونه های مختلف گیاهی فلاونوئیدهای متفاوتی وجود دارند (۱).

تنش شوری از جمله تنش های مهم غیر زیستی در گیاهان است که می تواند رشدونمو و همچنین عملکرد گیاه در مزرعه را محدود کند. بیش از بیست درصد زمین های زراعی جهان مواجه با شوری خاک است و بسیاری از آب های مورد استفاده در زراعت نیز بدلیل شور شدن قابل استفاده نیستند. شوری باعث القای تنش یونی و تنش اسمزی در سلول‌های گیاهی می شود و نتیجه آن تجمع زیاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که برای سلول‌های گیاهی در غلظت‌های بالا مضر هستند. گیاهان عالی برای مقابله با تنش اکسیداتیو، یک سیستم روبشی پیچیده شامل سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی (آنتی‌اکسیدان‌ها) ایجاد کرده‌اند. ترکیبات فنلی، کارتنوئیدها و توکوفرول ها از جمله ترکیبات با وزن مولکولی پایین هستند که خاصیت آنتی اکسیدانی دارند (۲).

گیاه مرزنجوش Origanum متعلق به خانواده نعناع است و گونه های از آن به صورت وحشی در نواحی مدیترانه ای وجو دارند. در ایران نیز گونه هایی از آن وجو دارند و گونه ***Origanum vulgar*** در استان های گیلان، مازندران، آذربایجان و کردستان پراکنش

دارد. این گیاه از تنوع مورفولوژیکی و شیمیایی بالایی برخوردار است. اندام رویشی گیاه شامل مونوترپن های فنلی مانند کارواکرول، فلاونوئیدها مواد تلخ و ترکیبات موسیلاژی است. از مرزنجوش در طب سنتی و مدرن استفاده می شود و علاوه براین بصورت ادویه نیز کاربرد دارد. عصاره این گیاه خلط آور،ضد نفخ، مدر، اشتهاآور و آرامبخش است و اسانس آن نیز بدلیل غنی بودن از ترکیبات فنلی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی قوی دارد (۳). در این مطالعه مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین در دانه رست های گیاه مرزنجوش تحت تاثیر تنش شوری در سطوح مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش ها:**

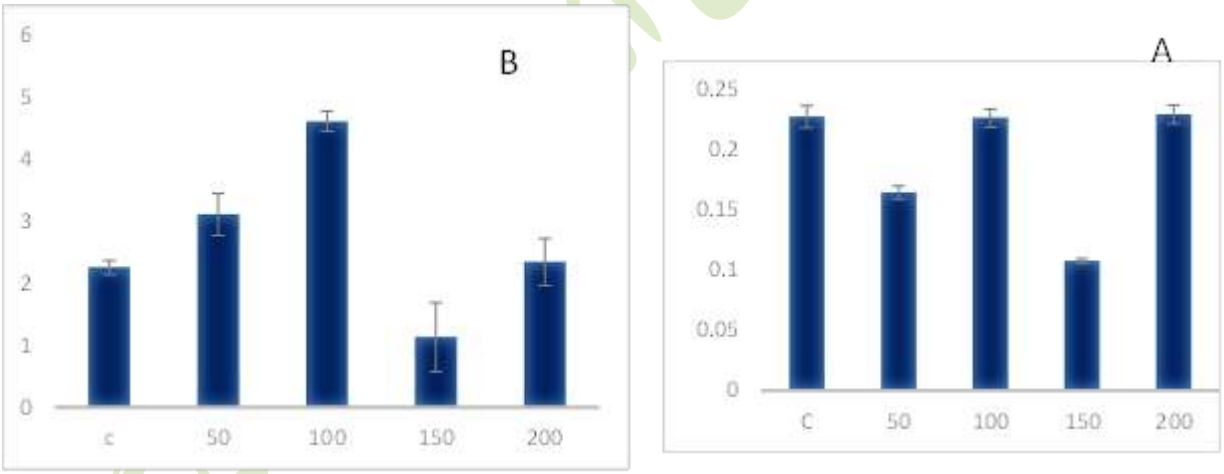
برای استریل کردن بذرهای *Origanum vulgar* از محلول ۵٪ هیپوکلریت سدیم و ۰/۱٪ تریتون استریل استفاده شد. بذرهای استریل در محیط جامد 1/2 MS کشت داده شدند. جهت تیمار دهی به محیط کشت قبل از اتوکلاو شدن از محلول استوک نمک 5M NaCl به محیط کشت اضافه شد تا غلظت ها به 50, 100, 150, 200 mM بدست آمد. بذرهای استریل در پلیت کشت داده شدند و ظروف در اتاقک رشد با شرایط دمایی 25°C و نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی، قرار گرفتند. برای هر تیمار و همچنین نمونه شاهد تکرار سه پلیت و در هر پلیت ۲۵ بذر کاشته شد. بعد از سه هفته دانه‌رست‌ها در نیتروژن مایع برداشت و پودر شدند و سپس به فریزر ۸۰- منتقل شدند. برای تهیه عصاره الکلی، 100mg از نمونه پودر شده با 5ml متانول بخوبی مخلوط شده و به مدت یک شب تا صبح بر روی شیکر قرار گرفت، سپس با کاغذ صافی واتمن صاف شد. از این عصاره الکلی برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد. برای این منظور به 500 µL عصاره الکلی به 1.5 mL متانول، 100 µL کلرید آلومینویم 10%در اتانول و 100 µL پتاسیم استات اضافه شد و حجم با آب مقطر به 5mL رسانده شد. مخلوط حاصل 30 دقیقه در تاریکی و دمای اتاق نگاهداری شد و سپس جذب نوری آن در طول موج 420 nM اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید معادل میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک محاسبه و گزارش شد. به منظور سنجش مقدار آنتوسیانین ها، 100mg بافت پودر شده در ۵ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵ درصد و HCl یک درصد به نسبت ۹۹ به ۱) به خوبی حل شد. عصاره حاصل به لوله آزمایش منتقل و درب آن محکم بسته و با ورق آلومینیومی پوشیده شد. عصاره به مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و در دمای ٤ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از ۲٤ ساعت به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ٤۰۰۰g سانتریفوژ گردید. سپس محلول رویی جدا و به آن ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم جهت حذف کلروفیل اضافه شد. محلول زیری توسط دکانتور جدا شد. ۳ میلی لیتر از محلول زیری را درون کووت ریخته و جذب آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر برای تعیین غلظت آنتوسیانین توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. داده-های بدست آمده از مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین توسط نرم افزار SPSS ver.6 مورد بررسی آماری قرار گرفت و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم شدند.

**نتایج و بحث:**

بذرهای کاشت شده پس از سه روز در تیمار شاهد شروع به جوانه زنی کردند. بررسی مقدار فلاونوئیدها نشان داد که در تیمار ۱۵۰ میلی مولار مقدارفلاونوئید ۰,۱۰۸ میلی گرم کوئرسین بر گرم بود که کمترین مقدار سنجش شده بود. مقدار فلاونوئیدها در تیمار ۵۰ و ۱۵۰ ملی مولار نمک بطور معنی‌داری کاهش پیدا می کند، اما در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ با تیمار شاهد تفاوت معنی داری ندارد (نمودارA-1). کمترین مقدار آنتوسیانین سنجش شده در تیمار ۱۵۰ میلی مولار بدست آمد و بیشترین مقدار آن در

تیمار ۱۰۰ میلی مولار سنجش شد. مقدار آنتوسیانین در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار روند افزایشی معنی داری داشت. پس از آن در تیمار ۱۵۰ به کمترین مقدار خود می رسید، اما در در تیمار ۲۰۰ میلی مولار بطور معنی افزایش داشت و با نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت (نمودار 1-B)، گرچه بازهم نسبت به تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار بطور معنی داری کمتر بود.

فلاونوئیدها ترکیبات پلی فنولی و از جمله آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی هستند که سرکوب رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) نقش دارند. چنانچه به گیاه استرسی وارد شود ROS های درون زاد افزایش می‌یابند. در این حالت فلاونوئیدهایی تجمع یافته در واکوئل‌ها به روبش آنها می پردازند (٤). در گیاه *Securigera securidaca* مقدار فلاونوئیدها تحت تنش شوری فقط در تیمار ۱۲ دسی زیمنس برمتر نسبت به شاهد افزایش نشان داد در حالیکه مقدار آنتوسیانین ها در تیمارهای ۸و ۱۲ دسی زیمنس نسبت به گیاه شاهد افزایش یافتند (۵). در مطالعه دیگری بر روی ارقام مختلف گیاه بادام زمینی تاثیر سطوح مختلف شوری (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی مولار) تغییرات مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین به رقم گیاه بستگی داشت. در برخی ارقام مقدار آنها تحت تاثیر شوری افزایش پیدا می کرد و در برخی دیگر تغییر معنی داری در مقادیر فلاونوئیدها و آنتوسیانین دیده نشد (٦). افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بنظر می رسد که تحت تنش های اسمزی افزایش یابد اما گزارشات نقیض متعددی هم در این مورد وجود دارد. در گیاه همیشه بهار گزارش شده است که تحت تنش خشکی مقدار آنتوسانین و کارتونید افزایش می یابد (۷) اما در گیاه سیاهدانه تنش خشکی مقدار آنها کاهش یافت (۸). بنظر می رسد گیاهان برحسب مقاومت ذاتی به تنش های اسمزی، و همچنین شدت تنش راهکارهای متفاوتی جهت مقابله با تنش در پیش می گیرند.




نمودار۱– تغییرات مقدار (A) فلاونوئیدها (mg/g Quercitin) و B) آنتوسیانین ها در دانه رست های مرزنجوش تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری. C: گیاه کنترل

**فهرست منابع:**

1- Ferreyra, F. Lorena, M. Sebastián, R. Paula, C. (2012) Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. Frontiers in Plant Science 3:222
2- Liang, L. Ma, X. Wan, P. Liu, L. (2018) Plant salt-tolerance mechanism: A review. Biochemical and Biophysical Research Communications 495(1):286-291

۳- مرشدلو م، ر.،احمدی حسین،پیرعلی همدانی مرتضی،یزدانی داراب (۱۳۹۷). مروری بر گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare* L)و خواص فارماکولوژیکی آن. فصلنامه گیاهان دارویی ۱۷ (٤): ۱۵-۳۱

4- Baskar V, Venkatesh R, Ramalingam S. Flavonoids (antioxidants systems) in higher plants and their response to stresses. Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants: Springer; 2018. p. 253-68.

۵- فابریکی اورنگ, صدیقه, مهرآباد پور بناب, ثریا. (۱۳۹۵). 'بررسی اثر تنش خشکی و شوری برخصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی Satureja hortensis L.', *اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*, 4(3), pp. 23-35.

٦- افشار محمدیان منصور، ابراهیمی‌نوکنده ساره، جمال‌امیدی معصومه. اثر سطوح مختلف شوری بر برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی سه رقم بادام زمینی (Arachis hypogaea L.). مجله علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۳۹۳; ٦ (۲٤): (۵۷-۷۱)

۷- جعفرزاده, لیلا, امیدی, حشمت, بستانی, عبدالامیر. بررسی تنش خشکی و کود زیستی نیتروژنه بر برخی ویژگی های بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه بهار (Calendula officinalis L.). *مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران*, 1393; 27(2): 180-193.

۸- کبیری رزیتا ,فرحبخش حسن ,نصیبی فاطمه (۱۳۹۳). اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه سیاه دانه(Nigella sativa L.) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۰ (٤): ٦۰۰-۹

## Effect of different salinity levels on flavonoid and anthocyanin content of *Origanum vulgar* seedlings

***Meysam Keshtkar Garousi [1,2], Forough Sanjarian[1]. Alaeddin Kordenaeej[2]***

1. Plant Bio-product Group, National Institute of Genetic Engineering and Biothechnology (NIGEB), Tehran. Iran
2. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agricultural Sciences, Shahed University,Tehran, Iran

**Abstract**

Origanum vulgar is a well-known medicinal plant that is also widely used as a spice. The medicinal properties of this plant are due to its secondary metabolites and antioxidant properties. The amount of secondary metabolites in plants are different under various stresses, including environmental stresses. In this study, the seeds of the plant were cultured in the presence of different levels of salinity and the effect of stress on flavonoid and anthocyanin levels was investigated. The results showed that although the amount of flavonoids decreases at some levels of stress, this decrease does not follow a specific pattern. The amount of anthocyanin increased with increasing salinity to 100mM and then decreased sharply.

**Keywords:** flavonoid, anthocyanin, *Origanum vulgar*, salinity

# مطالعه برخی ترکیبات آنتی اکسیدان و فعالیت آنتی اکسیدانی پوسته سبز فندق، بادام، گردو و پسته

***فاطمه دانشمند*** [1*]

[1]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[*]نویسنده مسئول: f.daneshmand@yahoo.com

**چکیده**

آنتی‌اکسیدان به ماده‌ای گفته می‌شود که در غلظت کم قادر است از اکسایش غلظت زیاد یک سوبسترای قابل اکسایش جلوگیری کرده یا اکسایش آن‌را بتاخیر اندازد. امروزه توجه زیادی به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان وجود دارد تا بتوانند آسیب‌های اکسیداتیو را کم کنند. هدف از مطالعه حاضر بررسی محتویات فیتوشیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی پوست سبز پسته، گردو، بادام و فندق می‌باشد. تعیین میزان فنل کل و فلاونوئید با روش اسپکتروفتومتری انجام و خواص آنتی‌اکسیدانی با استفاده از تست‌های FRAP، قدرت احیا کنندگی و مهار رادیکال DPPH انجام گرفت. در میان عصاره‌ها فندق بالاترین ترکیب فنلی و گردو بالاترین ترکیب فلاونوئیدی را داشت. نتایج بدست آمده با استفاده از روش تعیین قدرت احیا کنندگی، روش آنتی‌اکسیدانی FRAP، تست مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد که عصاره‌های متانولی نمونه‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است، درنتیجه پوست‌های سبز این میوه‌ها می‌توانند به عنوان یک منبع خوب آنتی‌اکسیدان طبیعی درنظر گرفته‌شوند.

**کلمات کلیدی:** ترکیبات فنلی، فلاونوئید، DPPH

**مقدمه**

آنتی‌اکسیدانها به موادی گفته می‌شود که قادر به ایجاد تأخیر، کندکردن و حتی توقف فرآیندهای اکسیداسیون هستند. این ترکیبات می توانند به نحو مطلوبی از تغییر در رنگ وطعم مواد غذایی ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون جلوگیری کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها از اکسیداسیون لیپیدها در غذاها ممانعت به عمل می آورند و بدن را در برابر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان محافظت می‌کنند. بوتیلات هیدروکسی‌آنیزول(BHA)، بوتیلات هیدروکسی‌تولوئن(BHT) و تری‌بوتیلات هیدروکسی‌کینون (TBHQ)، مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در نگهداری مواد غذایی است با وجود اینکه ترکیبات بالا، ترکیباتی مؤثر، ارزان و پایدار هستند، ولی مشکلات ناشی از اثرات سمی آن‌ها باعث شده که امروزه استفاده از این مواد محدود شود. امروزه آنتی اکسیدان‌های طبیعی مانند $\alpha$- توکوفرول (ویتامینE ومشتقات آن)، ویتامین C و $\beta$- کاروتن و سایر کاروتنوئیدها و عصاره‌های طبیعی گیاهی نیز در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. انواع مختلف رادیکال‌های تشکیل شده در طی اکسیداسیون اهمیت این مسأله را نشان می‌دهد که همه رادیکال‌های آزاد تنها با استفاده از یک نوع آنتی اکسیدان مهار نمی‌شوند. مؤثرترین روش در تأخیر اکسیداسیون لیپیدها استفاده از مخلوطی از آنتی‌اکسیدان‌ها می باشد. بعضی از آنتی‌اکسیدان‌ها قادر می‌باشند در مقایسه با سایر آنتی اکسیدان‌ها به نحو بهتری رادیکال آزاد ویژه‌ای را مهار کنند. اثرات مفید محصولات گیاهی ناشی از حضور ترکیبات فیتوشیمیایی با خواص آنتی اکسیدانی مانند فنول‌ها می‌باشد که قادر به کنترل تنش اکسایشی ناشی از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌باشند، این رادیکال‌های آزاد می‌توانند به مولکول‌های زیستی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها صدمه بزنند. در سال‌های اخیر، تحقیقات زیادی به منظور شناسایی منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی که می‌توانند جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی شوند، انجام

شده است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از نظر مصرف کننده سالم تلقی می‌شوند به دلیل اینکه به طور طبیعی در مواد غذایی یافت می شوند و قرن‌ها می‌باشد که مورد استفاده قرار می‌گیرند. آنتی اکسیدان‌های طبیعی نه تنها اکسیداسیون لیپیدها را در مواد غذایی کاهش می‌دهند بلکه نقش مهمّی در جلوگیری از تعدادی از بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبی، سرطان، پارکینسون و آلزایمر دارند. بنابراین از گیاهان می‌توان به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بهره‌برداری کرد که می‌توانند از بدن در برابر آسیب‌های ایجاد شده به وسیله رادیکال‌های آزاد محافظت کند. عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی به وسیله مقدار فنول کل، فلاونوئید کل، اسیدهای فنولی، کاتچین‌ها، لیگنان‌ها و تانن‌ها مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. یک ماده پلی‌فنل اگر دو شرط داشته باشد به عنوان آنتی‌اکسیدان تعریف می‌شود: اولاً زمانی که غلظت آن نسبت به سوبسترای اکسید شونده کمتر باشد بتواند اکسیداسیون بوسیله رادیکال‌های آزاد را به تأخیر اندازد، مانع شود یا مهار کند و ثانیاً رادیکال‌های آزاد به وجود آمده بعد از مهار باید پایدار باشند (Heinonen 1999). میوه ها و سبزیجات مختلف منابع عمده آنتی اکسیدانهای طبیعی مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئید و ..... است. عمدتا پوست بیرونی و سبز میوه‌هایی چون گردو و بادام و پسته و فندق دور ریخته شده و فقط از قسمت مغز آنها استفاده می شود، در این تحقیق پوست سبز این میوه ها مورد مطالعه قرار گرفته، اهمیت و خواص آنتی اکسیدانی آنها بررسی شده است. در این تحقیق سعی براین است تا مطالعه‌ای روی محتوای فنلی، محتوای فلاونوئید، فعالیت آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی پوست سبز بادام، گردو، فندق و پسته انجام گیرد. پوست سبز رنگ این میوه ها در طب سنتی دارای خواص دارویی متعدد و ضد میکروبی می‌باشد. لذا در این تحقیق سعی شد تا خواص آنتی اکسیدانی پوسته سبز این چهار میوه مورد مطالعه قرار گیرد.

**مواد و روشهای آزمایشگاهی:** چهار نوع میوه گردو، فندق، پسته و بادام از روستاهای شهرستان تفت جمع‌آوری و برای مطالعه در این تحقیق از پوست سبز آنها استفاده شد. از روش خیساندن (Maceration) برای عصاره گیری استفاده و مقدار ۲۰۰ گرم از پوست سبز خشک و پودر شده در ٤ بشر جداگانه ریخته شد و روی هر کدام از آنها ۵۰۰ میلی لیتر متانول اضافه شد. نمونه های تهیه شده چندین بار بهم زده شده و بعد به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق به همین حالت باقی ماند. بعد از ٢٤ ساعت فاز بالایی را برداشته و به روی باقی مانده دوباره ۵۰۰ میلی لیتر متانول ریخته و بهم زده شد. این کار بمدت ۵ روز تکرار شد تا عصاره گیاه بطور کامل استخراج گردد. سپس کل فازهای بالایی صاف شده و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء دوار، حلال، تبخیر و ۳۰ گرم عصاره غلیظ و خشک حاصل شد.

**تعیین محتوای فنلی کل برای عصاره های پوست سبز گردو، بادام، فندق و پسته:** محتوای فنل کل در عصاره های متانولی تهیه شده از پوست سبزها با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو اندازه گیری شد (Singleton 1965). برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده و میزان جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد.

**تعیین محتوای فلاونوئیدکل برای عصارهای پوست سبز گردو، بادام، فندق و پسته:** محتوای فلاونوئید کل درعصاره‌ها با روش رنگ سنجی ارائه شده توسط kaijv و همکاران در سال ۲۰۰٦ اندازه گیری شد. جهت به دست آوردن منحنی کالیبراسیون از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شد و میزان جذب آن در طول موج ۵۰۷ نانومتر خوانده شد.

**اندازه گیری پتانسیل تام آنتی اکسیدان برای عصاره های پوست سبز گردو، بادام، فندق و پسته (روش FRAP):** این روش براساس توانایی نمونه موردنظر در احیای یون های فریک در حضور محلول TPTZ (2,4,6- tripyridyl- triazie) استوار است.

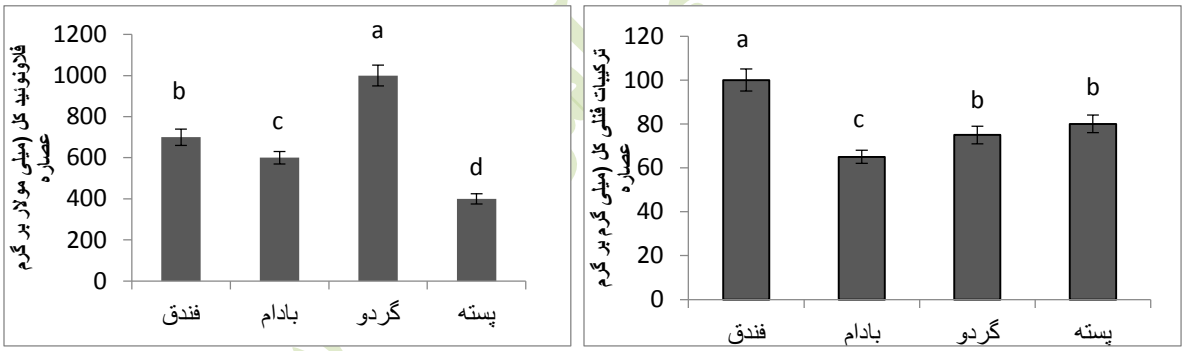
جهت به دست آورن منحنی کالیبراسیون از سولفات آهن به عنوان استاندارد استفاه شد و میزان جذب آنها در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد (Benzie et al. 1996).

**تعیین قدرت احیا کنندگی (Reducig Power) برای عصاره های پوست سبز گردو، بادام، فندق و پسته:** قدرت احیا کنندگی عصاره ها بر طبق روش Oyaizu (۱۹۸٦) تعیین شد. برای این منظور، از عصاره، بافر فسفات (۰/۵ M) با pH=٦/٦، پتاسیم فرو سیانید، اسید تری کلرواستیک و کلریدفریک استفاده شد و سپس میزان جذب آن در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. میزان جذب بالاتر مخلوط واکنش نشان دهنده قدرت احیا کنندگی بالاتر می‌باشد.

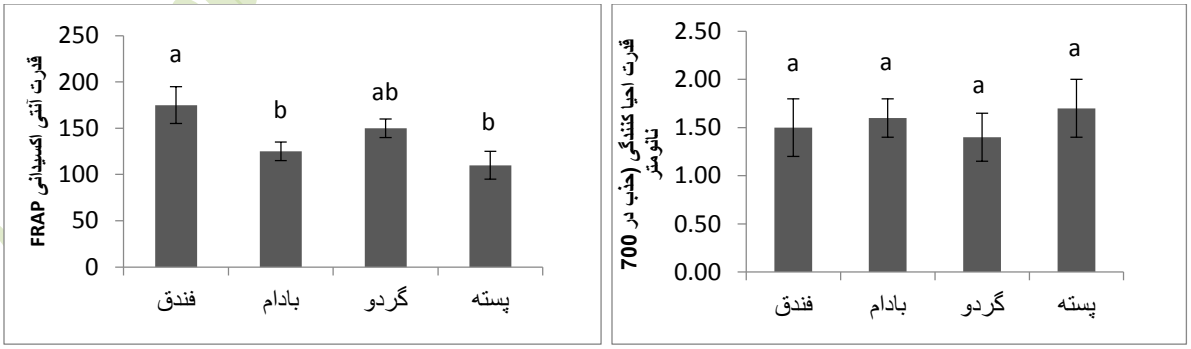
**تعیین قدرت جمع آوری رادیکال DPPH برای عصاره های پوست سبز گردو، بادام، فندق و پسته:** این روش براساس توانایی ترکیب مورد نظر در دادن الکترون یا هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH و در نتیجه مهار رادیکال آزاد DPPH استوار است (Wettasinghe et al. 2000).

**روش آماری:** برای آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS استفاه شد. نتایج به صورت میانگین ±انحراف معیار ارائه شدند. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون Dancan و در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام و کلیه بررسی‌ها در سه تکرار انجام گرفت.

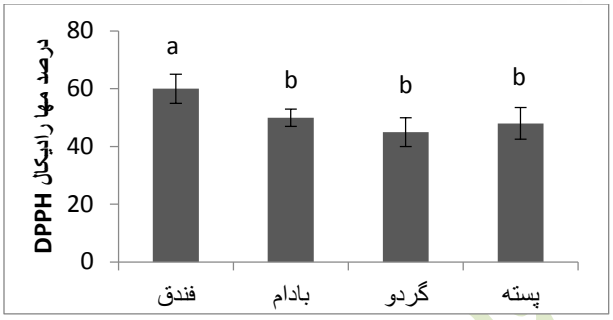
**نتایج و بحث**




شکل ۱: میزان ترکیبات فنلی کل و فلاونوئیدها در عصاره متانولی پوسته سبز پسته، گردو، بادام و فندق.




شکل ۲: میزان قدرت احیاکنندگی و قدرت آنتی اکسیدانی (FRAP) در عصاره متانولی پوسته سبز پسته، گردو، بادام و فندق.




شکل ۳: درصد مهار رادیکال DPPH در عصاره متانولی پوسته سبز پسته، گردو، بادام و فندق

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در پوسته سبز فندق از همه بالاتر و در بادام از همه کمتر است. میزان فلاونوئیدها در گردو از همه بیشتر و در پسته کمتر از همه بود. میزان قدرت احیاکنندگی در هر چهار عصاره یکسان بود و میزان قدرت آنتی اکسیدانی FRAP و درصد مهار رادیکال DPPH در فندق از همه بالاتر بود. پلی‌فنل‌های گیاهی دارای عملکردهای مختلفی هستند و می‌توانند به عنوان یک عامل کاهنده عمل کنند. بعضی از پلی‌فنل‌ها می‌توانند با کلاته کردن یون‌های فلزی مانند آهن و مس فعالیت ضد اکسایشی از خود نشان داده و توان فلزها را برای تولید بنیان‌های آزاد کاهش دهند. پوست سبز گردو، بادام، پسته و فندق به علت دارا بودن ترکیب‌های فنولی قدرت ضد اکسایشی قوی و نیز خاصیت ضد میکروبی قوی دارند. البته عوامل مختلفی نظیر عوامل ژنتیکی و شرایط محیطی، نوع ژنوتیپ، میزان رسیدن و زمان برداشت محصول و درصد و نوع حلال به کار برده شده، بر میزان ترکیب‌های فنولی عصاره استخراجی از پوست سبز این گیاهان مؤثر هستند. ظرفیت مهار رادیکال آزاد، عمدتا تحت تاثیر حضور و موقعیت گروه هیدروکسیل فنلی قرار می گیرد (Catherine et al. 1996). اما شایان ذکر است که ترکیبات فنلی فقط جزیی از آنتی اکسیدان‌های سلولی هستند و تمام آنتی اکسیدان‌ها مانند اسید آسکوربیک، کاروتنوئید و توکوفرول را شامل نمی شوند.

**References:**

Benzie, I.F.F., Strain, J.J., (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of antioxidant power. *Analytical Biochemistry*, 239:70-76

Catherine, A., Rice-Evans, C.A., Nicholas, J.M., George, P., (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine, 20: 933-956.

Kahkonen, M.P., Hopia, A.L., Vuoreal, H.J., Rauha, J.P., Pihalaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., (1999). Antioxidant activity of plants extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 39-54.

Kaijv, M., Sheng, L., Chao, C., (2006). Antioxidant of flavonoids of Green Rhizome. Food Science, 27: 110-115.

Oyaizu, M., (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition, 44: 307-315.

Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.

Wettasinghe, M., Shahidi, F., (2000). Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. Food Chemistry, 70: 17-26.

# Study of some antioxidant compounds and antioxidant activity of hazelnut, almond, walnut and pistachio green hull

***Fatemeh Daneshmand*[*1]**

[1*]Department of biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

[*] ***Corresponding Author***: f.daneshmand@yahoo.com

**Abstract**

An antioxidant is any substance that, at low concentrations, is able to prevent or delay the oxidation of high concentrations of an oxidizable substrate. Today, there is a lot of attention paid to the use of natural antioxidants in plants to reduce oxidative damage. The aim of this study was to investigate the phytochemical contents and antioxidant potential of green shell of pistachios, walnuts, almonds and hazelnuts. Determination of total phenol and flavonoids was performed by spectrophotometry. In order to evaluate the biological properties, FRAP, reducing power and DPPH radical inhibition tests were performed. Among the extracts, hazelnut had the highest phenolic composition and walnut had the highest flavonoid composition. The results obtained using reducing power determination method, FRAP antioxidant method, DPPH free radical scavenging test showed that the methanolic extracts of the samples have strong antioxidant activity, therefore the green hull of these fruits can be considered as a good source of natural antioxidants.

**Keywords**: Phenolic compounds, flavonoids, DPPH

# اثر سینامیک اسید بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی و طول اندام هوایی و ریشه گیاه تنباکو *Nicotiana rustica* L. تحت شرایط تنش شوری کشت در شیشه

*الهام محققیان[۱] ، علی اکبر احسانپور[۲]* **

*دانشکده علوم،دانشگاه اصفهان،ایران*

**ehsanpou@sci.ac.ir***

**چکیده**

تنش شوری یکی از مهمترین تنش های غیرزیستی است که بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تآثیر قرار می دهد. سینامیک اسید (CA) به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان توسط گیاهان در پاسخ به شرایط تنش تولید می شود. CA پیش ماده بیوسنتزی بسیاری از ترکیبات فنلی است که در کاهش میزان گونه های فعال اکسیژن (ROS) و در نتیجه افزایش مقاومت به تنش نقش مهمی را ایفا می کند. در این مطالعه تاثیر CA بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل کل و کارتنوئید) و طول اندام هوایی و ریشه گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica* L.) در شرایط کشت در شیشه تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور قطعات جداکشت گیاه تنباکو رشد یافته در محیط MS (Murashige and Skoog) به محیط های کشت MS حاوی CA ( غلظت های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) و نمک NaCl (غلظت های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار) منتقل گردید. پس از ٤ هفته تیمار، نتایج حاصل از بررسی ها نشان داد تیمار گیاهان با CA میزان رنگیزه های فتوسنتزی و طول اندام هوایی افزایش و در برخی غلظت های CA طول ریشه کاهش یافته است.

**کلمات کلیدی**: تنش شوری، سینامیک اسید، تحمل به شوری و رنگیزه های فتوسنتزی، طول اندام هوایی و ریشه.

**مقدمه**

تحت شرایط تنش های محیطی شامل نور بیش از حد، خشکی، شوری، دمای بالا یا پایین و فلزات سنگین باعث افزایش سطح ROS در گیاه و در نتیجه منجر به تخریب فرایندهای متابولیکی و سیگنالی سلول می شوند و باعث اکسیداسیون ساختار سلول و در نهایت مرگ سلول می شوند (Lushchak 2011). از دید کشاورزی، این استرس های اکسیداتیو از مهمترین عوامل مسئول در آسیب رسیدن به بهره وری محصول هستند (Koca et al. 2007).تنش های غیر زیستی معمولا فرایند فتوسنتز، محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و هموستازی هورمونی را تغییر می دهند(Tuteja and Gill 2016). در سال های اخیر، نشان داده شده است که ترکیبات فنلی نه تنها در اثر عفونت پاتوژنی، بلکه همچنین در استرس های محیطی مانند استرس دمایی و شوری افزایش می یابد. این ترکیبات در القای بیان ژن، هدایت مسیرهای سیگنالی و هموستازی متابولیکی در گیاهان تحت شرایط نامطلوب محیطی برای تنظیم پاسخ های استرس در جهت بقاء مرتبط هستند(Singh et al. 2013). استرس، فنیل پروپانوئید هایی را که از CA مشتق می شوند افزایش می دهد(Guo et al. 2011 و Dixon and Paiva 1995) و CA هسته مرکزی برای سنتز برخی از فنیل پروپانوئید

هایی است که در شرایط نامطلوب محیطی تولید می شود (Zhang et al. 2010 و Wang et al.2007). به نظر می رسد CA به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان باعث افزایش مقاومت گیاه در مقابل ROS نسبت به شرایط تنش می شود(Singh et al. 2013).

**مواد و روش ها:** ابتدا بذر های گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica* L.) به مدت ۱۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد حجمی، سپس به مدت ۳۰ ثانیه با محلول اتانول ۷۰ ٪ ضدعفونی و در پایان با آب مقطر استریل ۳ مرتبه شستشو داده شدند. در مرحله بعد، بذر های استریل بر روی محیط کشت MS کشت داده شدند. جهت تکثیر گیاه یک میانگره از گیاه به محیط کشت انتقال داده شد.در این تحقیق نمونه های گیاهی (explant) در غلظت های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر سینامیک اسید به همراه سطوح شوری ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک NaCl کشت داده شدند. کلیه کشت ها در اتاق کشت با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با اختلاف ۱ تا ۲ درجه، فتوپریود نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور حدود ۳۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه رشد داده شدند. پس از ٤ هفته میزان رنگیزه های فتوسنتزی گیاه اندازه گیری شد.

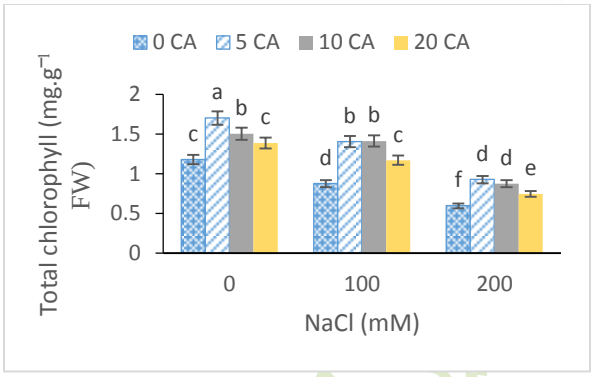
سنجش رنگیزه های فتوسنتزی: سنجش میزان رنگیزه های فتوسنتزی بر اساس روش طیف سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل AE-UV1600 در سه طول موج ٦٦٣، ٦٤٦ و ٤٧٠ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a و کلروفیل b و کارتنوئیدها انجام گردید. میزان کلروفیل a ، کلروفیل b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید طبق معادلات زیر بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر ($mg.g^{-1}FW$) محاسبه شد.

$$chla(mg/g)=[12.21(A_{663})-2.81(A_{646})] \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{W} \qquad Total\ chl(mg/g)=chla+chlb$$

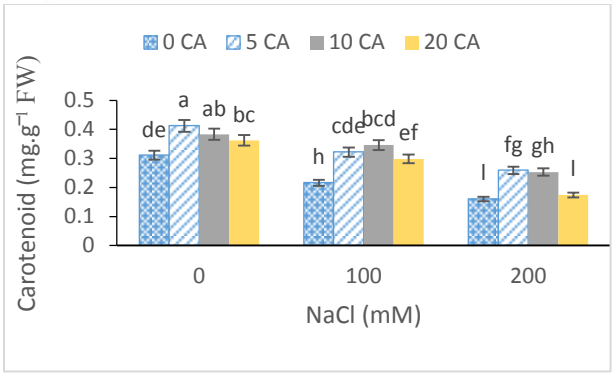
$$chlb(mg/g)=[20.13(A_{646})-5.03(A_{663})] \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{W}$$

$$Car(mg/g)=\frac{1000A470-3.27chla-104chlb}{229}$$

**نتایج و بحث:** همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است میزان کلروفیل کل با افزایش شوری کاهش معنی دار یافته است. این کاهش نسبت به شاهد به ترتیب در شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار ۸٦ و ۹۸ درصد بود. در شرایط بدون شوری میزان کلروفیل کل در دو غلظت ۵ و ۱۰ سینامیک اسید افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشت. در شوری ۱۰۰ میلی مولار افزایش کلروفیل کل نسبت به $S_{100}$ (کنترل شوری ۱۰۰) به ترتیب ۹۹، ۹۹ و ۳٦ درصد بود. میزان کلروفیل کل در شوری ۲۰۰ میلی مولار نسبت به $S_{200}$ (کنترل شوری ۲۰۰) به ترتیب ۵۵، ٤۸ و ۲۵ درصد افزایش داشت (شکل ۱). در شرایط بدون شوری و شوری ۱۰۰ میلی مولار میزان کارتنوئیدها در هر ۳ غلظت ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر سینامیک اسید نسبت به شاهد افزایش معنی دار داشت. بیشترین درصد افزایش کارتنوئید نسبت به تیمار های مشابه بدون سینامیک اسید مربوط به تیمار ۵ سینامیک اسید در شوری ۲۰۰، ۱۰ سینامیک در شوری ۱۰۰ و ۱۰ سینامیک در شوری ۲۰۰ است که به ترتیب ٦۲، ٦۰ و ۵۸ درصد می باشند (شکل۲).

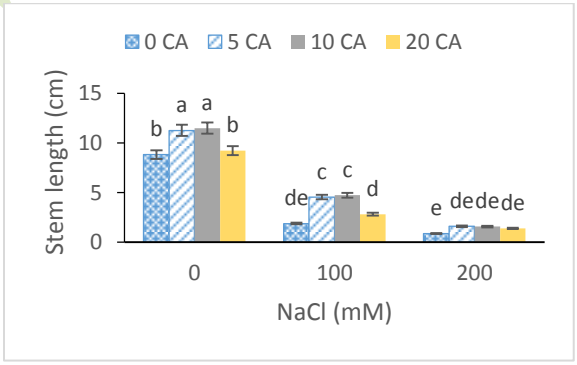



شکل۱- اثر CA بر میزان کلروفیل کل تحت تنش شوری

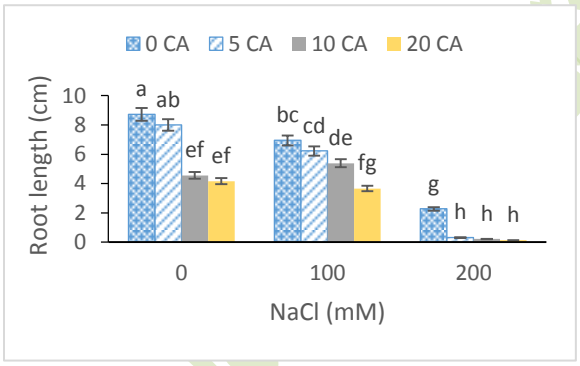



شکل۲- اثر CA بر میزان کارتنوئید تحت تنش شوری

با توجه به شکل ۳ در شوری ۱۰۰ میلی مولار دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر سینامیک اسید به ترتیب باعث افزایش ۱/۴۲و ۱/۵۱ برابری طول ساقه نسبت به تیمار شوری مشابه بدون سینامیک اسید گردید(شکل۳). بر اساس شکل ٤ در شوری ۱۰۰ میلی مولار نیز دو غلظت ۱۰ و ۲۰ سینامیک اسید به ترتیب کاهش ۲۲ و ٤۷ درصد طول ریشه را نسبت به تیمار شوری مشابه بدون سینامیک اسید باعث شد. تیمار۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر سینامیک اسید در شوری ۲۰۰ میلی مولارکاهش طول ریشه نسبت به تیمار شوری ۲۰۰ میلی مولار نمک به ترتیب ۸٦، ۹۰ و ۹٤ درصد بود.




شکل۳- اثر CA بر طول اندام هوایی




شکل٤- اثر CA بر طول ریشه

نتایج ما آشکار کرد که محتوای کلروفیل و کاروتنوئید با افزایش غلظت نمک کاهش می یابد. یکی از دلایل احتمالی آن می تواند به دلیل سست شدن اتصال کلروفیل با پروتئین های کلروپلاستی ، با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (متلاشی کننده ساختار کلروپلاست) در اثر افزایش غلظت یون های سمی سدیم و کلر و تنظیم کننده های رشدی مانند اسیدآبسزیک و اتیلن تحت تنش شوری باشد. محتوای کلروفیل برگ می تواند به دلیل کمبود یون های منیزیم و پتاسیم (به عنوان عناصر اصلی در سنتز کلروفیل) و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و همچنین تخریب ساختمان کلروفیل کاهش یابد (Uddin t al 2012). همانگونه که نتایج به دست آمده در اینجا نشان می دهد سینامیک اسید موجب افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید هم در شرایط شوری و هم بدون

شوری گردیده است. در گزارشی آمده است که سینامیک اسید میزان فتوسنتز را در گیاهان احتمالا به وسیله هم تجمع نیترات بافت داخلی و هم بیوسنتز کلروفیل افزایش می دهد. همچنین سینامیک اسید توانایی فتوسنتز را به واسطه القاء فعالیت روبیسکو تنظیم میکند (Kumar and Kumar 2014). با مطالعه ای بر روی گیاه برنج نشان داده شد که تیمار P–کوماریک اسید (یکی از مشتقات سینامیک اسید) موجب افزایش میزان کلروفیل و کاهش فعالیت آنزیم کلروفیلاز در این گیاه گردیده است (Yang et al 2004). مشابه نتیجه ما در مطالعه ای بر روی گیاه خیار به دست آمده به طوری که مشاهده شد با کاربرد سینامیک اسید در شرایط شوری میزان کلروفیل در گیاه افزایش یافت (Wang et al 2007). افزایش شوری باعث کاهش جذب و انتقال مواد از ریشه به برگ و منجر به کاهش رشد و ارتفاع گیاه می گردد. همچنین ، کاهش ارتفاع گیاهان در شرایط تنش شوری به دلیل کاهش فتوسنتز می باشد (سلامی و همکاران۱۳۸۵). نتایج ما نیز آشکار کرد که در غلظت بالای نمک طول ساقه و ریشه به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. همانگونه که نتایج بدست آمده در اینجا نشان می دهد سینامیک اسید موجب افزایش طول ساقه در شرایط تنش شوری گردیده است. نتایج حاصل از پژوهش ها نشان می دهد که سینامیک اسید (و یا مشتقات آن) در غلظت های پایین در واقع سیگنالینگ اکسین را افزایش می دهند و از طریق تنظیم پاسخ های اکسین موجب گسترش و طویل شدن سلول گیاه می گردد. همچنین بررسی شده است که سینامیک اسید می تواند بر مسیر سیگنالی سیتوکینین نیز اثر گذار باشد (Kurepa et al 2018) و افزایش سیتوکینین نیز تولید بیشتر اندام هوایی را در گیاهان سبب می شود. همچنین گزارش شده است که سینامیک اسید باعث افزایش مقدار آب نسبی گیاه در شرایط استرس شوری می شود و از این طریق نیز می تواند بر افزایش رشد گیاه تأثیر گذار باشد (Wang et al 2007). نتایج ما همچنین مشخص کرد که تیمار سینامیک اسید طول ریشه را هم در شرایط شوری و هم بدون شوری نسبت به نمونه کنترل کاهش داده است. این کاهش طول ریشه می تواند در اثر ورود سینامیک اسید به مسیر فنیل پروپانوئیدی باشد و سینامیک اسید توسط آنزیم C4H (سینامیک اسید-٤-هیدروکسی لاز) به P–کوماریک اسید و سپس به P–کوماریل-کوآ← P–کومارآلدهید ← P–کوماریل الکل که یک مونولیگنین است تبدیل می شود. در گام بعدی واکنش ، این مونولیگنول ها به لیگنین در دیواره سلولی پلیمریزه می شوند. در واقع افزایش سینامیک اسید موجب شکل گیری یک شبکه پیچیده ای می شود که دیواره سلولی را سخت و مستحکم کرده و رشد ریشه را کاهش می دهد ( Salvador et al 2013).

**فهرست منابع:**

**سلامی، م.، ع. صفرنژاد و ح. حمیدی(۱۳۸۵) اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*). پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی (۷۲): ۷۷-۸۳.**

Dixon, R. A., Paiva, N.L. (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell 7:1085–1097.

Guo, D., Wong, W.S., Xu, W.Z., Sun, F.F., Qing, D.J., Li, N. (2011) Ciscinnamic acid-enhanced 1 gene plays a role in regulation of Arabidopsis bolting. Plant Mol Biol 75:481–495.

Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, I. (2007) The effect of salt stress onlipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environ Exp Bot 60:344–351.

Kumar, S. P., & Kumar, C. V. (2014). Impact of cinnamic acid on physiological and anatomical changes in maize plants (*Zea mays* L.) grown under salinity stress. Journal of Stress Physiology & Biochemistry 10(2).

Kurepa, J., Shull, T. E., Karunadasa, S. S., & Smalle, J. A. (2018). Modulation of auxin and cytokinin responses by early steps of the phenylpropanoid pathway. BMC Plant Biology 18(1), 278.

Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. Aquatic toxicology 101(1):13-30.

Santos, C. V. (2004). Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae 103(1), 93-99.

Salvador, V. H., Lima, R. B., dos Santos, W. D., Soares, A. R., Böhm, P. A. F., Marchiosi, R., ... & Ferrarese-Filho, O. (2013). Cinnamic acid increases lignin production and inhibits soybean root growth. PLoS One 8(7), e69105.

Singh, P. K., Singh, R. and Singh, S. (2013) Cinnamic acid induced changes in reactive oxygen species scavenging enzymes and protein profile in maize (*Zea mays* L.) plants grown under salt stress. Physiol Mol Biol Plants 19:53-59.

Tuteja, N., & Gill, S. S. (2016). Abiotic stress response in plants. John Wiley & Sons.

Uddin, M., Juraimi, A. S., Ismail, M., Hossain, M., Othman, R., & Abdul Rahim, A. (2012). Physiological and growth responses of six turfgrass species relative to salinity tolerance. The Scientific World Journal, 2012

Wang, X., Wang, H., Wu, F., Liu, B. (2007) Effects of cinnamic acid on the physiological characteristics of cucumber seedlings under salt stress. Front Agric China 1(1):58–61.

Yang, C. M., Chang, F., Lin, S. J., & Chou, C. H. (2004). Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings: II. Stimulation of consumption-orientation. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 45.

Zhang, E.P., Zhang, S.H., Li, W., BZL, L. and Li, T.L. (2010) Effects of exogenic benzoic acid and cinnamic acid on the root oxidative damage of tomato seedlings. J Hortic For 2(2):022–029.

## The effect of Cinnamic acid on Photosynthetic pigments and aerial and root length of tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants under *in vitro* salt stress

***Mohagheghian , Elham*[1] *. Ehsanpour , Aliakbar*2***
*Department of Biology, University of Esfahan, Iran*
**. E- mail: ehsanpou@sci.ac.ir*

**Abstract**
Salinity stress is one of the most important abiotic stresses that affects many physiological and biochemical processes of plant. Cinnamic acid (CA) is produced by plants as an antioxidant compound in response to stress conditions. CA is a biosynthetic precursor of many antioxidant compounds that plays an important role in reducing the amount of ROS and thus increasing stress resistance. In this study the effect of CA on photosynthetic pigments and aerial and root length of tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants was examined under in vitro culture salinity conditions. For this purpose, explant of tobacco grown in MS medium was transferred to MS medium which contained cinnamic acid (0, 5, 10 and 20 $mg.L^{-1}$) and NaCl (0, 100 and 200 mM). After 4 weeks, the result of the studies showed treatment of plants with cinnamic acid increased photosynthetic pigments and aerial length and decreased root length in some concentration of CA.

**Key word**: salinity stress, cinnamic acid, salinity tolerance, photosynthetic pigments, aerial and root length

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹- دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# بررسی اثر عنصر روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa* willd.) تحت تنش خشکی

***زهرا سلیمانی نیا*** [۱] ***و احمد مهتدی*** [۲*]

[۱] *دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج*

[۲] *دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج*

***نویسنده مسول، نشانی پست الکترونیک: a.mohtadi@yu.ac.ir**

**چکیده**

این پژوهش به‌صورت گلدانی با هدف بررسی اثر سولفات روی بر گیاه کینوا تحت تنش خشکی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنش خشکی با پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ در چهار سطح (۰، ۳-، ٦- و ۹- بار) و عنصر روی از منبع سولفات روی با چهار سطح (۲، ٤، ٦ و ۸ میکرومولار) تهیه شد و در مرحله چهار برگی، تیمارها طی دو هفته در محلول غذایی هوگلند همزمان اعمال شد. طبق نتایج افزایش تنش خشکی موجب افزایش ٦۸ درصدی کاتالاز نسبت به شاهد شد. در سطح ۳- بار خشکی و سطح ۸ میکرومولار سولفات روی بیشترین مقدار سوپراکسید دیسموتاز بدست آمد. در کل کاربرد روی باعث کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی شد.

**کلمات کلیدی**: کاتالاز، کینوا، سوپراکسید دیسموتاز

**مقدمه**

تنش خشکی ازجمله تنش‌های غیرزیستی بوده که سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود. تنش خشکی با تغییر در محتوای کلروفیل و آسیب به ساختارهای فتوسنتزی، میزان فتوسنتز را کاهش می‌دهد. تنش خشکی روابط آبی گیاه را مختل کرده و باعث کاهش کارایی مصرف آب و کاهش عملکرد گیاه می‌شود. همچنین باعث اختلال در تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد، که موجب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و آسیب به پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Farooq et al., 2009). ارتباطی قوی بین افزایش در غلظت آنزیم¬های آنتی اکسیدان و تحمل به تنش¬های اکسیداتیو در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد. گیاهان دارای سامانه دفاعی با کارآیی بالایی هستند که این سامانه شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی ازجمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) است که می‌تواند رادیکال¬های آزاد را از بین برده و خنثی کند. رشد و نمو گیاهان علاوه بر فراهمی عناصر پرمصرف، به فراهمی عناصر کم‌مصرف هم نیازمند است. روی از عناصر مغذی کم¬مصرف بسیار مهم است که وجود آن برای فعالیت¬های متابولیکی گیاهان ضروری است (Hassegawa et al., 2008). با توجه به نقش عنصر روی در فرایندهای حیاتی گیاه، عرضه این عنصر به گیاه تأثیر بسزایی در کمیت و کیفیت تولید محصولات دارد. وجود میزان کافی از این عنصر، به کمک آنزیم¬های ضد اکسیداسیونی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در کاهش تولید و غیر سمی کردن گونه‌های فعال اکسیژن مؤثر بوده و باعث افزایش عملکرد گیاه می¬شود (صادق‌زاده، ۱۳۹٤).در شرایط تنش خشکی به‌خصوص در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور، غلظت عناصر کم مصرف در محلول خاک کم می‌باشد، بنابراین تأمین

این عناصر از طریق فراهم کردن در خاک به صورت کود، برای تغذیه گیاه و افزایش تحمل به خشکی مطرح می‌گردد (بنی‌عباس‌شهری و همکاران، ۱۳۹۰). کینوا (*Chenopodium quinoa* willd.) یکی از محصولات کشاورزی شبه‌غله‌ای و از خانواده اسفناجیان (*Chenopodiaceae*) می‌باشد. از آنجا که گیاه کینوا به عنوان یک گیاه مقاوم در برابر تنش‌های خشکی، شوری و تغییرات آب و هوایی معرفی شده است و مصرف عنصر روی هم می‌تواند تحمل این گیاه به تنش‌ها را افزایش دهد، لذا تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر عنصر روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کینوا تحت تنش خشکی صورت گرفت.

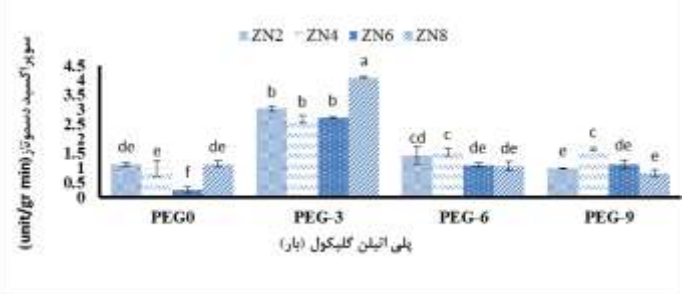
## مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت گلدانی در زمستان ۱۳۹۷ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه یاسوج انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنش خشکی با پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG 6000) در چهار سطح (۰، ۳-، ٦-، و ۹- بار) و روی از منبع سولفات روی با چهار سطح (۲ (شاهد)، ٤، ٦ و ۸ میکرومولار) تهیه شد. گلدان‌ها توسط پرلیت ضدعفونی شده پر شدند. در هر گلدان ۱۰ تا ۱۵ عدد بذر کینوا ضدعفونی شده کاشت شدند. از مرحله کاشت تا جوانه‌زنی آبیاری با آب مقطر صورت گرفت. سپس ماده غذایی یک دوم هوگلند استفاده شد. در مرحله چهار برگی، تیمار سولفات روی و پلی‌اتیلن‌گلیکول طی دو هفته در محلول غذایی اعمال شد. گیاهان در اتاق کشت با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ١٦ درجه سانتی‌گراد در شب و تناوب نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. دو هفته بعد از شروع اعمال تنش، گیاهان برداشت گردید و شاخص های مورد نظر اندازه‌گیری شد. برای استخراج عصاره آنزیمی و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، ۰/۱ گرم نمونه برگ در ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج بر روی یخ همگن گردید. سپس همگن‌های حاصل سانتریفیوژ شد. از بخش شناور رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید. فعالیت کاتالاز (میلی‌مول بر گرم بر دقیقه) با روش اسپکتروفتومتری و براساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ٢٤٠ نانومتر و در مدت ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی برای کاتالاز ۰/۰۳۹٤ بر میلی‌مول بر سانتی‌متر بود (Aebi, 1984). سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش مهار واکنش احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در ٥٦٠ نانومتر انجام گرفت.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با Excel و مقایسه میانگین اثرات اصلی و برهم‌کنش‌های معنی‌دار به روش LSD در سطح احتمال خطای ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

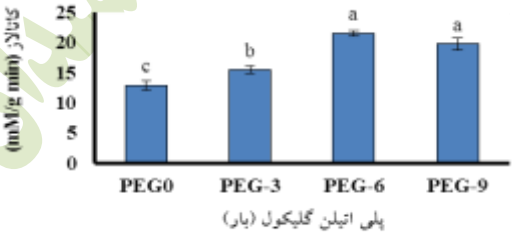
مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱ ٪ تحت تأثیر تنش خشکی، سولفات روی و برهم‌کنش خشکی و سولفات روی قرار گرفت. طبق مقایسه میانگین داده‌ها برای برهم‌کنش عنصر روی و تنش خشکی، در سطح شاهد خشکی سطوح ۲ و ۸ میکرومولار سولفات روی باعث افزایش فعالیت آنزیم شده است ولی در سطح ٦ میکرومولار کمترین فعالیت آنزیم مشاهده شد. در سطح ۳- بار خشکی و سطح ۸ میکرومولار سولفات روی بیشترین مقدار سوپراکسید دیسموتاز بدست آمد. در سطوح ٦- و ۹- بار خشکی، سطح ٤ میکرومولار سولفات روی باعث افزایش فعالیت آنزیم شده است (شکل ۱).




شکل ۱- اثر برهم¬کنش سطوح مختلف سولفات روی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاه کینوا (PEG پتانسیل اسمزی ایجاد شده از طریق پلی اتیلن گلیکول در محلول هوگلند) در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح خطای (٪ ۵) اختلاف معنی داری ندارند.

طبق نتایج بدست آمده توسط کبیری و همکاران (۱۳۹۲) بر روی گیاه سیاهدانه وقتی گیاهان تحت تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول قرار گرفتند فعالیت تمام آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش پیدا کرد. در تنش خشکی گونه‌های فعال اکسیژن افزایش یافته و تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد. گیاهان برای مقابله با این تنش آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز را افزایش می‌دهند.

مقدار آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ ٪ تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت، اما تأثیر سولفات روی و برهم‌کنش تنش خشکی و سولفات روی بر این شاخص معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها برای تنش خشکی نشان داد که بیشترین میزان کاتالاز در سطح خشکی ٦- بار با مقدار ۲۱/٤۸ میلی مولار بر گرم دقیقه بدست آمد که با سطح خشکی ۹- بار تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان کاتالاز در سطح شاهد با مقدار ۱۲/۹۰ میلی مولار بر گرم دقیقه بدست آمد (شکل ۲).




شکل ۲- اثرسطوح مختلف تنش خشکی بر فعالیت کاتالاز برگ. (PEG پتانسیل اسمزی ایجاد شده از طریق پلی اتیلن گلیکول در محلول هوگلند) در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح خطای (٪ ۵) اختلاف معنی داری ندارند.

آنزیم کاتالاز جزء سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی می‌باشد که برای کاهش خسارت ناشی از پراکسیدهیدروژن ($H_2O_2$) تولید شده تحت تنش خشکی، در گیاه افزایش می‌یابد (Khanna-Chopra and Selote, 2007). عنصر روی در بیان ژن‌های سنتز کننده پروتئین‌ها و آنزیم‌های آنتی اکسیدان موثر است و کوفاکتور افزایش این آنزیم‌ها نیز محسوب می‌شود (Grewal and Wiliams, 2000). مطابق با نتایج ما افزایش آنزیم کاتالاز در کینوا تحت تنش خشکی گزارش شده است (Aziz *et al*., 2018).

## منابع

بنی‌عباس‌شهری، ز.، زمانی، غ. و سیاری زهان، م. (۱۳۹۰). اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی سولفات روی بر عملکرد و اجزای عملکرد آفتابگردان (*Helianthus Annuus* L.). مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ٤(۲): ۱۷۲-۱٦٥.

صادق زاده، ب. (۱۳۹٤). نقش عنصر روی در بهبود تولید گندم نان و دوروم در شرایط دیم سردسیری. نشریه زراعت دیم ایران، ٤(۲): ۲۲٤-۱٤۹.

کبیری، ر.، نصیبی، ف. و فرح بخش، ح. (۱۳۹۲). مطالعه برخی پارامترهای اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa*) در شرایط کشت هیدروپونیک. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، ۲(۱): ۱۹-۱۱.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.

Aziz, A., Akram, N. A., and Ashraf, M. (2018). Influence of natural and synthetic vitamin C (ascorbic acid) on primary and secondary metabolites and associated metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants under water deficit regimes. Plant Physiology and Biochemistry, 123, 192-203.

Farooq, M. Wahid, A. Kobayashi, N. Fujita, D. and Basara, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effect, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29: 185-212.

Grewal, H. S. and Wiliams, R. (2000). Zinc nutrition affects alfalfa response to water stress and excessive moisture. Plant Nutrition, 23: 942-962.

Hassegawa, R. H., Fonseca, H., Fancelli, A. L., Da silva, V. N., Schammass, E. A., Reis, T. A. and Correa, B. (2008). Influence of macro and micronutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in corn grains. Food Control, 19(1): 36-43.

Khanna-Chopra, R. and Selote, D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than-susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany, 60(2): 276-283.

# Investigation of the effect of zinc on antioxidant enzymes in quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) under drought stress

***Zahra Solimaninya[1], Ahmad Mohtadi*[2]***

*[1, 2] Department of Biology, Faculty of Science, Yasouj University*

*Corresponding Author: a.mohtadi@yu.ac.ir

**Abstract**

This study was conducted as a pot experiment to investigate the effect of zinc sulfate on quinoa under drought stress in a factorial randomized complete design with three replications. Drought stress was prepared with PEG 6000 at four levels (0, -3, -6 and -9 bar) and zinc element from zinc sulfate source with four levels (2 (control), 4, 6, and 8 µM) and in the four-leaf stage, the treatments were applied simultaneously to Hogland's nutrient solution for two weeks. According to the results, an increase in drought stress caused a 68% increase in catalase compared to the control. The highest amount of superoxide dismutase at -3 bar level with 8 µM zinc sulfate level were obtained. In general, the use of zinc reduced the damage caused by drought stress.

**Key words**: Catalase, *Chenopodium quinoa* Willd., Superoxid dismutase

# سنجش فنل کل در گیاه آویشن تحت تنش خشکی

*پوریا احمدی رکابدار کلایی**، *فروغ سنجریان*
*پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری*
*Pouryaahmadi2pa@yahoo.com

**چکیده:** هدف از انجام این مطالعه سنجش فنل کل در گیاه دارویی آویشن باغی تحت تنش خشکی است، ترکیبات فنلی جزء متابولیت های ثانویه گیاهان هستند که در پاسخ گیاه به تنش های محیطی نقش آنتی اکسیدانی ایفا میکنند. در این مطالعه پس از کشت گیاه آویشن و اعمال سه سطح خشکی در دو بازه زمانی ۲ و ۵ ساعت به بررسی سنجش میزان فنل کل در گیاه پرداخته شد. از معرف Folin-Ciocalteu برای سنجش فنل کل و از کافئیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد. در این آزمایش، اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر روی میزان بیوسنتز ترکیبات فنلی سنجیده شد که بر طبق آن سطح خشکی ۵۰٪ در ۵ ساعت بیشترین و شاهد در ۵ ساعت کمترین مقدار فنل کل را دارا بودند.

**کلمات کلیدی:** تنش خشکی، گیاه آویشن، فنل کل، ترکیبات آنتی اکسیدانی

## مقدمه

آویشن یکی از انواع گیاهان دارویی از خانواده نعناعیان است. اغلب نعناعیان تولید کننده ترپن ها هستند که این ترکیبات را در غدد اپیدرمی برگ ها، ساقه ها و اندام های زایشی ذخیره میکنند .آویشن در نواحی کوهستانی بخش های مرکزی ایران به فراوانی رشد میکند (نقدی بادی و تفتی،۲۰۰۳). آویشن باغی (*Thymus vulgaris L*) یکی از گیاهان دارویی متعلق به جنس آویشن است.

ترکیبات فنلی جزء متابولیت های ثانویه در این گیاهان هستند و توسط مسیر شیکیمات–فنیل پروپانوئید تولید می شوند و نقش آنتی اکسیدانی دارند. رادیکال های آزاد اکسیژن قادر به ایجاد آسیب های مختلف در سلول گیاهی هستند، سلول برای مقابله با این آسیب ها مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدانی را در خود توسعه داده است تا در برابر آسیب سلول توسط ROS ها در گیاه مقاومت ایجاد کند (Lattanzio,2013).

یکی از مهمترین عوامل تاثیرگذار در میزان متابولیت های ثانویه موجود در گیاهان تنش های محیطی اعمال شده بر آنهاست، متابولیت های ثانویه در گیاهان نقش محافظتی در شرایط تنش را ایفا میکنند. از جمله این تنش ها میتوان به تنش خشکی اشاره کرد که یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان است (صیادی و همکاران، ۱۳۹۳).

## مواد و روش ها

برای انجام آزمایش بذر های گیاه آویشن استریل شده و در لیوان های شیشه ای حاوی محیط کشت MS جامد بر روی مش کشت داده شد، لیوان های شیشه ای پس از کشت به اتاقک رشد گیاهی با شرایط ثابت ۲٤ ساعت نور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد منتقل شدند و به مدت یک ماه رشد کردند. سپس گیاهان به محیط کشت هیدروپونیک منتقل شدند و در شرایط ثابت ١٦ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شده و به مدت ۱۰ روزرشد کردند.

برای اعمال تنش خشکی از پلی اتیلن گلیکول (PEG) استفاده شد و گیاهان در معرض غلظت های ۰٪، ۱۰٪، ۲۵٪ و ۵۰٪ از PEG ۸۰۰۰ طی دو زمان ۲ و ۵ ساعت قرار گرفتند.

به منظور استخراج عصاره فنلی از متانول اسیدی ۸۰٪ استفاده شد، به این ترتیب که بافت گیاه در هاون با نیتروژن مایع ساییده شد و پودر حاصل به ویال ۲ میلی لیتری منتقل شد، و به همه ی نمونه ها متانول اسیدی ۸۰٪ اضافه شد، سپس به مدت ۲ ساعت به شیکر انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شد. سپس عصاره ها به مدت ۵ دقیقه در g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند، سپس محلول رویی جدا شده و در میکروتیوب های ۲ میلی لیتری ریخته شد.

برای سنجش فنل کل از معرف Folin-Ciocalteu استفاده شد بدین صورت که در هر ویال ۲ میلی لیتری ۲۴۰۰ µl آب مقطر، ۱۰۰ µl عصاره، ۵۰۰ µl سدیم کربنات ۲۰٪ و ۱۰ µl معرف Folin-Ciocalteu اضافه شد.این مخلوط به خوبی ورتکس شد و پس از نگهداری به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و تاریکی جذب آن در طول موج ۷۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. نمودار استاندارد با استفاده از غلظت های مختلف از کافئیک اسید رسم شد و مقدار فنل کل نمونه ها بدست آمد.

## نتایج و بحث

در مقایسه فنل کل گیاه دارویی آویشن در زمان های ۲ و ۵ ساعته، بیشترین اثر تنش خشکی بر میزان بیوسنتز فنل کل در سطح ۵۰٪ خشکی ۵ ساعته با مقدار ۰,۱۷۲۹ mg/ml ± ۰,۰۱و کمترین اثر تنش خشکی در شاهد ۵ ساعته با مقدار ۰,۰۵۵۸ mg/ml ± ۰,۰۱۴ مشاهده شد.نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد خشکی تاثیر معنی داری بر روی مقدار فنل کل دارد اما تاثیر ساعت برداشت از لحاظ آماری معنی دار نیست.

در نتیجه ی این مطالعه، افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی در پی افزایش سطوح تنش خشکی رخ میدهد که با نقش آنتی اکسیدانی خود منجربه محافظت از گیاه در برابر تنش های محیطی شود.

**جدول۱- تجزیه واریانس مقدار فنل کل بررسی شده در گیاهان آویشن تحت شرایط خشکی مختلف و ساعت های مختلف برداشت**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| درصد خشکی | ۳ | ۳,۱۶۶* |
| ساعت برداشت | ۱ | ۰,۰۰۴ |
| درصد خشکی ×ساعت برداشت | ۳ | ۰,۰۴۵۰* |
| خطا | ۱۶ | ۰,۰۳۲ |
| کل | ۲۴ | – |

*: معنی دار در سطح٪۵/۰

طبق تحقیقات صورت گرفته تنش های محیطی یکی از عوامل تاثیرگذار بر روی متابولیت های ثانویه گیاهان هستند که این متابولیت ها در گیاهان نقش محافظتی در برابر تنش های محیطی ایفا میکنند (Akula and Ravishankar., 2011). قربانلی و

همکاران با اعمال سطوح مختلف تنش خشکی در گیاه دارویی کتان دریافته اند که میزان ترکیبات فنلی با افزایش تنش خشکی، افزایش معنی داری داشته اند (قربانلی و همکاران ,۱۳۹۰). مطالعات انجام شده توسط André و همکاران نشان میدهد که میزان بیان ژن تولید کننده فنل در گیاه سیب زمینی با افزایش تنش خشکی، افزایش می یابد (André et al., 2009).

در این پژوهش با بررسی اثر تنش خشکی بر میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی آویشن، با توجه به میزان تنش اعمال شده بر گیاه شاهد تفاوت معنا داری بودیم.

**فهرست منابع:**

صیادی افسانه, احمدی جعفر, اصغری بهور, & حسینی سیدمحسن. بررسی اثر تنش های خشکی و شوری بر میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی. *Thymus vulgaris L.* ۱۳۹۳.

قربانلی مه لقا, بخشی خانیکی غلامرضا, & ذاکری انوشه. بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیب های آنتی اکسیدان در گیاه دارویی کتان (Linumusitatissimum L.).

نقدی‌بادی, & مکی‌زاده تفتی. (۲۰۰۳). مروری برگیاه آویشن (*Thymus vulgaris L.*) *گیاهان دارویی*, ۳(۷), ۱-۱۲.

Akula, R., &Ravishankar, G. A. (2011). Influence Of Abiotic Stress Signals On Secondary Metabolites In Plants. *Plant Signaling & Behavior*, *6*(11), 1720-1731.

André, C. M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C. A. A., Nomberto, G., ... & Evers, D. (2009). Gene Expression Changes Related To The Production Of Phenolic Compounds In Potato Tubers Grown Under Drought Stress. *Phytochemistry*, *70*(9), 1107-1116.

Lattanzio, V. 2013. Phenolic Compounds: Introduction. Natural Products: Phytochem Botany And Metabolism Of Alkaloids, Phenolics And Terpenes, 1543-1580.

Majdi, M., Malekzadeh-Mashhady, A., Maroufi, A. & Crocoll, C. Tissue-Specific Gene-Expression Patterns Of Genes Associated With Thymol/Car Biosynthesis In Thyme (*Thymus Vulgaris L.*) And Their Differential Changes Treatment With Abiotic Elicitors. Plant Physiology And Biochemistry, 115, 152-162.

## Assessment of total phenol in *Thymus vulgaris L* under drought stress

***Pourya Ahmadi Rekabdarkolaei, Forough Sanjarian***
*National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology*

**Abstract**
The main goal of this study was to evaluate of Total Phenol Content in *Thymus vulgaris* under drought condition. Phenol compounds are secondary metabolites of plants that play an antioxidant and protective role in the response of plants to environmental stresses. In this study, the thyme plant were treated by three levels of drought stress. Then 2 and 5 hours after treatment, the amount of Total Phenol Content was measured by Folin-Ciocalteu reagent and caffeic acid as a standard. The result revealed that maximum amount of phenol was in 50 % of drought in 5 hours and the minimum amount of phenol was assayed 5 hours after treatment in control plants.

**Keywords:** drought stress, *Thymus vulgaris L*,total phenol, antioxidant compounds

# تاثیر علف کش پاراکوات بر میزان تولید بتاکاروتن و ROS کل در جلبک سبز *Dunaliella*

*مرضیه صفری، منصور شریعتی

اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم زیستی و فناوری، گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری
*safari.maz@gmail.com

**چکیده:**

پاراکوات علف کشی بسیار سمی است که از طریق اختلال در انتقال الکترون فتوسنتزی و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن باعث غیر فعال سازی کلروفیل و اکسیده کردن چربیهای غشاء کلروپلاست میگردد. پاراکوات سبب آلودگی اکوسیستم های آبی می گردد وجذب مقادیری از پاراکوات توسط جلبک ها، به عنوان ساکنین اصلی این اکوسیستم ها ممکن است باعث انتقال این آلودگی به سطوح بالاتر زنجیره ی غذایی گردد، در این تحقیق با استفاده از جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella* به عنوان یک مدل زیستی اثر پاراکوات بر میزان تولید بتاکاروتن و میزان تولید ROS کل در دو گونه *D.salina* و *D.tertiolecta* مورد بررسی قرار گرفت. در هر دو گونه جلبک، پاراکوات سبب کاهش تولید بتاکاروتن و افزایش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن نسبت به نمونه شاهد گردید. گونه های جلبکی مورد آزمایش در غلظت های بالاتر نمک، در مقابل پاراکوات از خود مقاومت بالاتری نشان داده اند.

**کلمات کلیدی**: پاراکوات، دونالیه لا، بتاکاروتن، ROS کل.

**مقدمه:**

جلبک *Dunaliella* ، جلبک سبز تک سلولی متعلق به شاخه ی Chlorophyte است، که فاقد دیواره ی سلولی بوده و دارای یک غشاء پلاسمایی انعطاف پذیر می باشد که توسط یک پوشش سطحی موکوسی احاطه شده است(Ben-Amots and Avron,1993). انواع گونه های این جلبک تنها ارگانیسم های یوکاریوتی فتوسنتز کننده ای هستند که قادرند در محیط هایی با غلظتهای بالای نمک بین ۰/۰۵ مولار تا ۵/۵ مولار، رشد نمایند علاوه بر تحمل شوری بالا، این جلبک قادر به تحمل شرایط نامساعد دیگری نظیر فشار بالا، نور شدید و دمای بسیار کم نیز می باشد(Avron and Ben-Amotz, 1992). سویه هایی از *Dunaliella* تحت تنش های محیطی قادر به تولید مقادیر بالای بتاکاروتن می باشند، که رنگ نارنجی دریاچه های نمک، بدلیل وجود این سویه های غنی از بتاکاروتن می باشد(Shaish et al,. 1990). در شرایط تنش، سلول های *D.salina* جهت حفظ شرایط مناسب برای رشد و بقاء و مقابله با اکسیژن های فعال، مقدار بتاکاروتن درون سلولی خود را افزایش می دهند (Pisal and Lele, 2005).

پاراکوات(1, 1'-dimethyl-4, 4'-bipyridylium dichloride) از دسته علف کش های بای پیریدینیوم می باشد. علف کش های بای پیریدینیوم بدلیل ارزان بودن و تاثیر بر طیف وسیعی از علف های هرز درسطح وسیعی در کشاورزی استفاده می شوند(Babbs et al., 1989). ورود این علف کش به اکوسیستم آب، می تواند عواقب خطرناکی برای جلبک ها و فیتوپلانکتونها به

عنوان حلقه های اولیه زنجیره غذایی داشته باشد(Prado et al., 2008; Wong, 2000). پاراکوات با اختلال در عملکرد فتوسیستم I باعث تولید رادیکال های آزاد اکسیژن میگردد(Babbs et al., 1989).

**مواد و روش ها**

به منظور بررسی اثر علف کش پاراکوات بر میزان تولید بتاکاروتن و میزان ROS کل، غلظت بهینه پاراکوات برای انجام آزمایشات برای گونه *D.salina* در غلظت ۰/۵ و ۱/۵ مولار نمک، همچنین گونه *D.tertiolecta* در غلظت ۰/۵ مولار نمک، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤٠ میکرومولار پاراکوات تعیین گردید و برای گونه *D.tertiolecta* در غلظت ۰/۱۷ مولار نمک غلظت های پاراکوات به صورت ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ میکرومولار انتخاب شد. نمونه های تیمار شده در اتاق کشت با دمای۲ ± ۲٦ درجه سانتیگراد و تحت شرایط نوری 100 µmoles pho/$m^2$/s با دوره نوری ۱٦:۸، بر روی شیکر(BOTNINGGEN, UK INFOR AG CH-4103) چرخش rpm ۱۱۰ قرار داده شد. برای جلوگیری از خطا از هر نمونه سه تکرار تهیه شد و هر کدام از آزمایشات با سه تکرار انجام شد.

جهت اندازه گیری بتاکاروتن پس از سانتریفیوژ ۱۳۰۰۰rpm (Eppendorf 5415D) یک سی سی سوسپانسیون جلبکی مایع روئی خارج و رسوب حاصله با استون ۸۰٪ ورتکس (HEIDOLPH REAXTOP) و به مدت ۵ دقیقه rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول روئی برای اندازه گیری میزان بتاکاروتن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160A) در طول موج های ٤۱۲، ٤۳۱، ٤٥٠، ٤٦٠ و ٤۸۰ نانومتر و فرمول مربوطه، مورد استفاده قرار گرفت(Eijckelhoff and Dekker,1997).

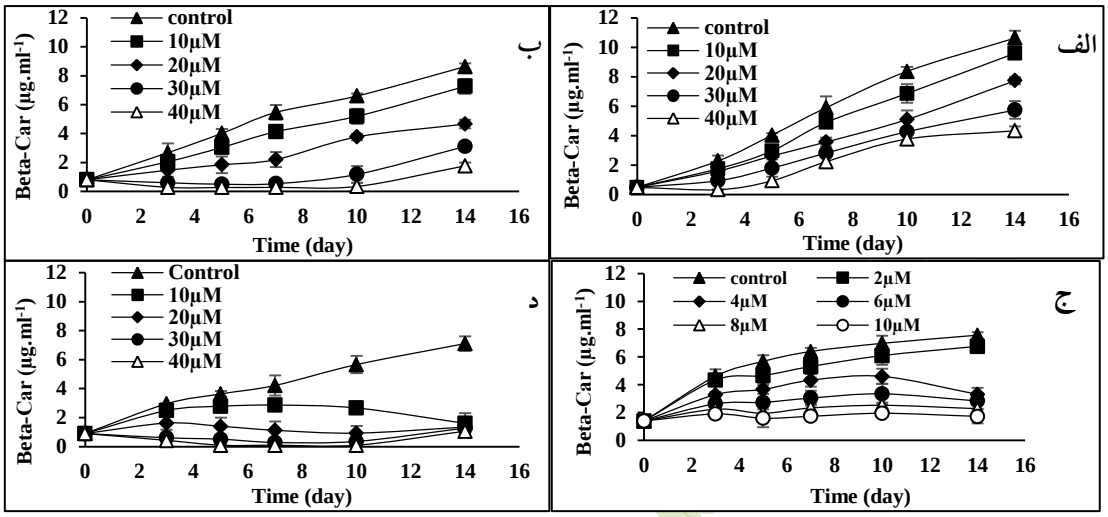
$$B.car: ((-0.430\ A_{412} + 0.251\ A_{431} - 4.376\ A_{460} + 13.216\ A_{480})*536) / 1000$$

برای اندازه گیری ROS کل، از بافر ۱۰ میلی مولار Tris-HCl با pH برابر۷/۲ و محلول ۱ میلی مولار-2.7 (DCFDA) dichlorofluorescin diacetate حل شده در دی متیل سولفوکسید (DMSO) استفاده شد نمونه های آماده شده ۱۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار داده شد، سپس فلوئورسنس نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفلورومتر(F93 fluoro spectrophotometer) در طول موج ٤۸۰ نانومتر خوانده شد. مقدار فلورسنس نمونه ها ، براساس میزان پروتئین کل گزارش شدند(Walker, 2010).

**نتایج وبحث:**

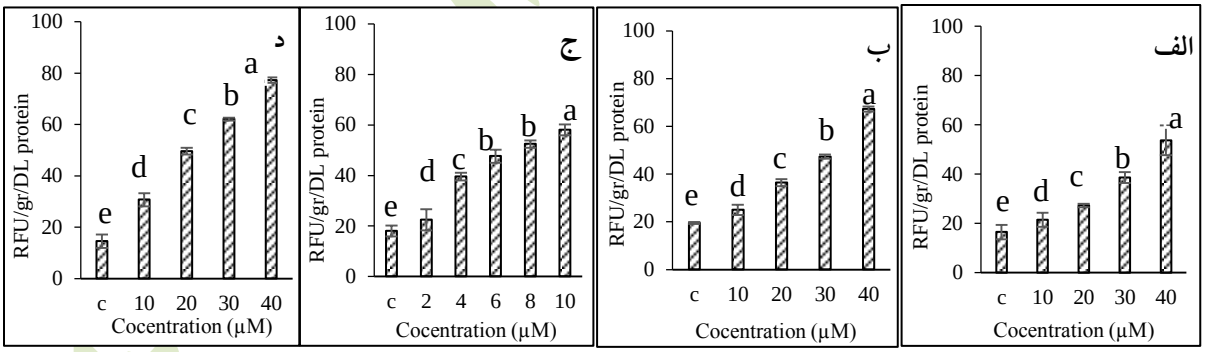
بررسی میزان بتاکاروتن در گونه *D.salina* در دو غلظت نمکی ۰/۵ و ۱/۵ مولار و در گونه *D.tertiolecta* را در دو غلظت ۰/۱۷ و ۰/۵ مولار NaCl نشان می دهد که افزایش غلظت پاراکوات باعث کاهش میزان بتاکاروتن نسبت به نمونه های شاهد در هر دو گونه گردیده است(شکل ۱). به نظر میرسد پاراکوات با مهار تولید فیتوئن و فیتوفلوئن و همچنین جلوگیری از سنتز لیکوپن منجر به کاهش میزان بتاکاروتن در هر دو گونه شده باشد(Duke, 1990). شدت این کاهش در گونه *D.tertiolecta*، بیشتر از *D.salina*، می باشد به نظر می رسد کاهش کمتر بتاکاروتن در *D.salina*، نسبت به *D.tertiolecta*، می تواند بواسطه توانایی بیشتر تولید بتاکاروتن در *D.salina*، نسبت به *D.tertiolecta*، باشد. افزایش غلظت نمک در هر دو گونه سبب افزایش میزان بتاکاروتن نسبت به غلظت های پایین نمک گردیده است. از آنجاییکه بتاکاروتن نقش آنتی اکسیدانی دارد(Pisal and Lele, 2005). به نظر می رسد یکی از علل مقاومت بهتر هر دوگونه در غلظت های نمکی بالاتر در مقابل تنش پاراکوات، به دلیل بالاتر بودن میزان بتاکاروتن تولید شده در غلظت های نمکی بالا باشد.

بررسی میزان اکسیژن های فعال تولید شده در جلبک *D.salina* و جلبک*D.tertiolecta* نشان می دهد که با افزایش غلظت پاراکوات در هر دو گونه میزان ROS کل تولید شده نسبت به نمونه شاهد، افزایش یافته است. این افزایش در گونه *D.tertiolecta* نسبت به




***شکل۱. روند تغییر میزان بتاکاروتن در جلبک D.salina در غلظت های الف) ۱/۵ و ب) ۰/۵ مولار نمک NaCl و در جلبک D.tertiolecta در غلظت های ج) ۰/۱۷ و د) ۰/۵ مولار نمک NaCl. مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می باشد.***

*D.salina* بیشتر می باشد. در گونه *D.salina* میزان ROS تولید شده در غلظت های ۰/۵ مولار اندکی بیشتر از ۱/۵ مولار نمک می باشد. در گونه *D.tertiolecta* با افزایش غلظت نمک محیط میزان تولید *ROS* به میزان قابل توجهی کاهش می یابد(شکل۲)




***شکل ۲. بررسی میزان ROS کل بر اساس واحد RFU/gr/DL protein ، درجلبک D.salina در غلظت های الف) ۱/۵ مولار NaCl و ب) ۰/۵ مولار NaCl و در جلبک D.tertiolecta در غلظت های ج) ۰/۱۷ مولار نمک NaCl، و د) ۰/۵ مولار نمک NaCl، در مقایسه با نمونه شاهد. مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می باشد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن می باشد. حروف مشترک بیانگر عدم وجود تفاوت معنی دار ($p<0.05$) می باشد.***

طبق نتایج این تحقیق با افزایش غلظت پاراکوات در محیط، میزان تولید ROS در هر دو گونه افزایش یافته است که میزان تولید آن در *D.salina* کمتر از *D.tertiolecta* می باشد. جلبک *D.salina* توانایی تولید بتاکاروتن بیشتری نسبت به *D.tertiolecta* دارد و در

حضور پاراکوات میزان سنتز بتاکاروتن در *D.tertiolecta* با شدت بیشتری کاهش می یابد. لذا به نظر می رسد جلبک *D.salina* بواسطه اندک توانایی بیشتر در تولید بتاکاروتن به عنوان یک آنتی اکسیدان می تواند بهتر از جلبک *D.tertiolecta* در مقابله با تولید ROS عمل کند، هرچند نمی تواند بطور کامل از تولید آن جلوگیری نمایند و اندک تفاوت در میزان تولید ROS می تواند بواسطه اندک تفاوت در تولید بتاکاروتن در گونه جلبک باشد.همچنین میتوان گفت این کاهش در میزان رادیکال های آزاد میتواند بدلیل افزایش مقدار آنتی اکسیدان ها ی دیگر نظیر گلوتاتیون و آسکوربات پراکسیداز در غلظت های بالاتر نمک باشد Tammam et al.,) (2011 که نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

**منابع:**

Avron, M. and Ben-Amotz, A. (1992) *Dunaliella*: physiology, biochemistry, and biotechnology. CRC press, Boca Raton.

Babbs, C. F., Pham, J. A. and Coolbaugh, R. C. (1989) Lethal Hydroxyl Radical Production in Paraquat-treated plants. Plant Physiology 90:1267-1270.

Ben-Amotz, A. (1993) Production of β-carotene and vitamins by the halotolerant alga *Dunaliella*. Marine Biotechnology 1: 411-417.

Duke, S. O. (1990) Overview of herbicide mechanisms of action. Environmental Health Perspectives 87: 263-271.

Esperanza, M., Cid, A., Herrero, C. and Rioboo, C. (2015) Acute effects of a prooxidant herbicide on the microalga *Chlamydomonas reinhardtii*: screening cytotoxicity and genotoxicity endpoints. Aquatic Toxicology 165: 210-221.

Prado, R., García, R., Rioboo, C., Herrero, C., Abalde, J. and Cid, A. (2009) Comparison of the sensitivity of different toxicity test endpoints in a microalga exposed to the herbicide paraquat. Environment International 35(2): 240-247.

Qian, H., Chen, W., Sun, L., Jin, Y., Liu, W. and Fu, Z. (2009) Inhibitory effects of paraquat on photosynthesis and the response to oxidative stress in *Chlorella vulgaris*. Ecotoxicology 18: 537-543.

Shaish, A., Avron, M. and Ben-Amotz, A. (1990) Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of β-carotene in *Dunaliella bardawil*. Plant and Cell Physiology 31(5): 689-696.

## Effect of Paraquat herbicide on beta-carotene and total ROS production in *Dunaliella* green algae.

***M. safari and M. shariati***
*Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Science and biotechnology, University of Isfahan*

**Abstract**
Paraquat is the herbicide that is very toxic which by interfering with photosynthetic electron transport and Production of free oxygen radicals, it causes rapid inactivation of chlorophyll and oxidation of chloroplast membrane fats. paraquat causes contamination of water resources and uptake of paraquat by algae as the main inhabitants of these ecosystems may transmit this contamination to higher levels of the food chain .in this study, using *Dunaliella* algae as a biological system, the effect of paraquat On the amount of beta-carotene and total ROS production was investigated in two species of *D.salina* and *D.tertiolecta* paraquat reduced beta-carotene and increased the production of free oxygen radicals in both algae species whit the control sample. Alga species tested in higher salinity concentrations, compared to paraquat, have been shown to be more resistant.

**Keywords:** *Dunaliella*, Paraquat, beta-carotene, total ROS.

# اثر ریزوباکتری‌های محرک رشد بر پرولین و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در گیاه شیرین بیان تحت تنش شوری

**مدرس آزادی[۱،*]، ستاره امانی‌فر[۲]، محسن ثانی‌خانی[۳]**

[۱]دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

[۲]استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

[۳]استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

* modarresazadi@gmail.com

**چکیده:**

ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می توانند تأثیرات منفی تنش شوری را کاهش داده و رشد گیاه را افزایش دهند. به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر پرولین و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت شیرین‌بیان تحت سطوح مختلف شوری خاک، آزمایشی به صورت فاکتوریل با عوامل شوری (شاهد بدون شوری (S0) ، ۶۰ میلی‌مولار(S1) ، ۱۲۰ میلی‌مولار (S2) و ۱۸۰ میلی-مولار(S3) و باکتری‌های محرک رشد ( شاهد بدون تلقیح، تلقیح شده با*Pseudomonas fluorescens* ، تلقیح شده با *Pseudomonas putida*و تلقیح شده با *Azotobacter chroococcum* ) در شرایط درون شیشه اجرا گردید. شوری منجر به افزایش معنی‌دار پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در مقایسه با سطح S0 شد. تلقیح با گونه‌های سودوموناس سبب افزایش پرولین تحت تنش شوری گردید. همچنین تلقیح باکتریایی به ویژه با گونه‌های سودوموناس منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد.

**کلمات کلیدی**: باکتری‌های محرک رشد، اسمولیت، کشت درون شیشه‌ای، آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

**مقدمه**

در طبیعت، ریزوباکتری‌ها نقش اساسی در سازگاری گیاهان با محیط را بازی می‌کنند و تعامل بین گیاهان و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)تأثیر عمیقی بر رشد، توسعه و سلامت گیاهان دارند. PGPR ها در ریزوسفر گیاهان استقرار می‌یابند و رشد آنها را افزایش می دهند و یک ابزار قدرتمند در کشاورزی ارگانیک و بازسازی زمین های تخریب شده هستند ( Cordero et al., 2018). این ریزجانداران می‌توانند سنتز متابولیت‌هایی را در گیاهان تحریک کنند که پس از قرار گرفتن آن‌ها در معرض تنش بطور کاراتری قادر به مواجهه با تنش باشند (Salomon et al., 2014). استفاده از PGPRهایی مانند آزوسپریلیوم، آگروباکتریوم، سودوموناس‌ها و برخی گونه‌های باسیلوس، رویکردی سازگار با محیط زیست، انرژی کارآمد و اقتصادی برای احیای زمین‌های تحت تاثیر شوری و افزایش تولید زیست توده است (Upadhyay and Singh, 2015). نقش PGPR در کاهش تنش‌ها با پاکروبی رادیکال‌های آزاد تولید شده طی متابولیسم گیاه و افزایش تولید آنتی اکسیدان‌ها و آنزیم های آنتی‌اکسیداتیو و به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از تنش در گیاهان گزارش شده است (Khan and Hemalatha, 2016). محققان افزایش تولید پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی القا شده توسط گونه‌های باسیلوس را در حفظ رشد و توسعه *Capsicum annuum* تحت تنش شوری بسیار مهم دانسته‌اند (Wang et al., 2018).همچنین تلقیح سویا با سویه‌های سودوموناس ضمن بهبود رشد گیاه منجر به افزایش

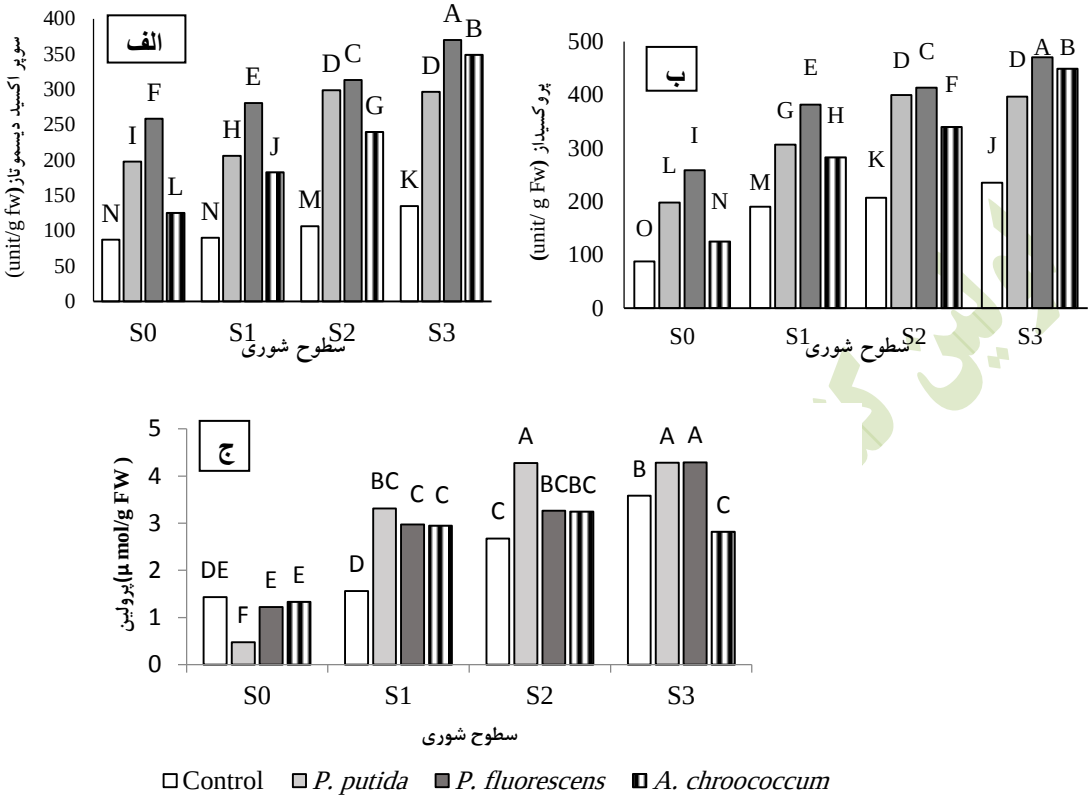
فعالیت آنزیم‌های تنشی و پرولین در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح باکتریایی گردید (Kasotia et al., 2015).هدف از مطالعه حاضر، بررسی نقش احتمالی جدایه‌های باکتریایی در القای مقاومت به تنش شوری در گیاهان شیرین‌بیان بود.

**مواد وروش‌ها**

جهت بررسی اثر PGPR در شرایط شور و غیرشور آزمایشی فاکتوریل با دو فاکتور شامل (۱) گیاهان تلقیح شده با PGPR و یا تلقیح نشده، (۲) بدون تیمار شوری و تیمار شده با سطوح ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار نمک NaCl اجرا شد. پس از ضدعفونی سطحی بذرها با استفاده از اتانول و هیپوکلریت سدیم، بذرها در جارهای شیشه‌ای محتوی محیط رشد گیاه MS ( Murashige and Skoog, 1962) به علاوه ۰/۷۵٪ (w/v) آگار و ۳٪ ساکاروز به مدت ۱۵ روز پرورش یافتند. گیاهچه‌های تلقیح شده یا بدون تلقیح پس از ۱۵ روز در جارهای اصلی حاوی تیمارهای نمک NaCl واکشت شدند. دوهفته بعد از کشت اولیه (هنگام واکشت) با افزودن سوسپانسیون حاوی PGPR مربوطه به ریشه‌چه‌ها، تلقیح صورت گرفت. گونه‌های PGPR شامل *Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas putida*، *Azotobacter chroococcum* از موسسه تحقیقات خاک و آب ایران تهیه و استفاده شد(Salomon et al., 2014; Tewari and Arora, 2016). گیاهان در یک محفظه رشد تحت دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس تحت نور فلورسنت سفید با تناوب ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۴۵ روز رشد یافتند.اندازه گیری مقدار پرولین با استفاده از معرف نین‌هیدرین و براساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) به روش تست گایاکول و تبدیل آن به تتراگایاکول انجام گردید. تتراگایاکول تشکیل شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد (Amalok et al., 1994). فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به صورت فتوشیمیایی اندازه‌گیری شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

**نتایج و بحث**

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شوری سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گیاهان بدون تلقیح و تلقیح شده با باکتری گردید (شکل ۱–الف). همانطور که در شکل مشاهده می‌شود باکتری‌های محرک رشد در تمام سطوح شوری اثر افزایشی و معنی‌داری بر این پارامتر نشان دادند. در شرایط تنش‌های محیطی برای کاهش ROSهای تولید شده در کلروپلاست و میتوکندری سنتز آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد. شارما و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند افزایش سطح فنل‌ها و سایر آنزیم‌های دفاعی، اجزای اصلی مقاومت به نمک و خشکی گیاهان است. نتایج مطالعه حاضر نیز حاکی از آن است که تلقیح گیاه با گونه‌های سودوموناس بطور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح و تلقیح شده با ازتوباکتر افزایش دادند. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شوری سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پروکسیداز در گیاهان بدون تلقیح و تلقیح شده با باکتری گردید. تحت تمام سطوح شوری تیمارهای باکتری بکار رفته سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز در گیاه شیرین‌بیان شدند (شکل ا–ب). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول پراکسیداز در واکنش بافت‌های گیاهی نسبت به پیری و تنش نقش دارند. فعالیت این آنزیم‌ها برای جلوگیری از صدمات وارده از طریق گونه‌های فعال اکسیژن ضروری می‌باشد (Kumar et al., 2014). محققان نشان دادند که تلقیح گیاه گوجه فرنگی با باکتری محرک رشد سبب افزایش ۲۸ درصدی فعالیت ترکیبات فنولی و به ترتیب، افزایش ۱/۲۶ و ۱/۰۹ برابری آنزیم های دفاعی مانند پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد (Verma and Sharma, 2018).




**شکل۱- برهمکنش سطوح شوری و باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (الف)، پروکسیداز (ب) و محتوای پرولین (ج) گیاه شیرین بیان. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن، ۰/۰۵ ≤p).**

همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شوری سبب افزایش معنی‌دار پرولین بخش هوایی گیاهان گردید (شکل ۱-ج). کاربرد باکتری‌های محرک رشد در سطح S1 بطور معنی‌داری سبب افزایش پرولین شد. گونه‌های سودوموناس در سطح S1، S2 و S3 منجر به افزایش محتوای پرولین در مقایسه با شاهد بدون باکتری شدند (شکل ۱-ج). گزارش شده است که تلقیح سویه‌های باکتریایی ریزوبیوم و سودوموناس در غلظت های مختلف به گیاه ذرت باعث افزایش درصد پرولین همراه با مقدار نسبی آب شد (Bano and Fatima 2009).

## فهرست منابع

Bates، L.S., Waldern، R.P. and Teave، I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil. 39: 205-107.

Bano/ A. and Fatima/ M. (2009) Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with Rhizobium and Pseudomonas. Biology and Fertility of Soils. 45(4): 405-413.

Beauchamp/ C. and Fridovich/ I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry. 44: 276-287.

Cordero/ I., Balaguer/ L., Rincón/ A. and Pueyo/ J. J. (2018) Inoculation of tomato plants with selected PGPR represents a feasible alternative to chemical fertilization under salt stress. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 181: 694-703.

Kasotia/ A., Varma/ A. and Choudhary/ D. K. (2015) Pseudomonas-mediated mitigation of salt stress and growth promotion in Glycine max. Agricultural Research. 4: 31-41.

Khan/ M. and Hemalatha/ S. (2016) Biochemical and molecular changes induced by salinity stress in *Oryza sativa* L. Acta Physiologiae Plantarum. 38: 167.

Kumar/ A., Singh/ R. P., Singh/ P. K., Awasthi/ S., Chakrabarty/ D., Trivedi/ P. K. and Tripathi/ R. D. (2014) Selenium ameliorates arsenic induced oxidative stress through modulation of antioxidant enzymes and thiols in rice (*Oryza sativa* L.). Ecotoxicology. 23(7): 1153-1163.

Salomon/ M. V., Bottini/ R., de Souza Filho/ G. A., Cohen/ A. C., Moreno/ D., Gil/ M. and Piccoli/ P. (2014) Bacteria isolated from roots and rhizosphere of Vitis vinifera retard water losses, induce abscisic acid accumulation and synthesis of defense-related terpenes in in vitro cultured grapevine. Physiologia plantarum. 151, 359-374.

Sharma/ S., Kulkarni/ J. and Jha/ B. (2016) Halotolerant rhizobacteria promote growth and enhance salinity tolerance in peanut. Frontiers in Microbiology. 7: 1600.

Singh/ R. P. and Jha/ P. N. (2016) The multifarious PGPR Serratia marcescens CDP-13 augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). PloS one. 11, e0155026.

Tejera/ N. A., Soussi/ M. and Lluch/ C. (2006) Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. Environmental and Experimental Botany. *58*(1-3): 17-24.

Tewari/ S. and Arora/ N. K. (2016) Fluorescent Pseudomonas sp. PF17 as an efficient plant growth regulator and biocontrol agent for sunflower crop under saline conditions. Symbiosis. 68: 99-108.

Upadhyay/ S. and Singh/ D. (2015) Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. Plant Biology. 17: 288-293.

Verma/ S., Sharma/ R. and Chauhan/ A. (2018) Plant growth promoting and antagonistic potential of indigenous PGPR from tomato seedlings grown in mid hill regions of Himachal Pradesh. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 7(1): 968-973.

Wang/ W., Wu/ Z., He/ Y., Huang/ Y., Li/ X. and Ye/ B.C. (2018) Plant growth promotion and alleviation of salinity stress in *Capsicum annuum* L. by *Bacillu*s isolated from saline soil in Xinjiang. Ecotoxicology and Environmental Safety. 164: 520-529.

## Effect of plant growth promoting rhizobacteria on proline and some antioxidant enzymes of liquorice under salt stress

***Modarres Azadi*** [1]***, Setareh Amanifar*** [2]***, Mohsen Sanikhani***[3]

[1]*M. Sc. Graduate, Soil Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran*
[2]*Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran*
[3]*Assistant Prof., Horticulture Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran*

**Abstract**

Plant growth promoting rhizobacteria can enhance plant growth and reduce the negative impacts of salt stress. In order to investigate the effect of growth-promoting bacteria on proline content and antioxidant enzyme activity of licorice under different levels of salinity, a factorial experiment with salinity levels (control without salinity (S0), 60 mM (S1)) , 120 mM (S2) and 180 mM (S3)) and growth-promoting bacteria (control without inoculation, inoculated with *Pseudomonas fluorescens*, inoculated with *Pseudomonas putida* and inoculated with *Azotobacter chroococcum*) performed in *in vitro* condition. Salinity resulted in a significant increase in proline and activity of antioxidant enzymes compared to S0 level. Inoculation with *Pseudomona*s species caused a significant increase in proline under salinity levels. Also, bacterial inoculation, especially with *Pseudomonas* species, increased the activity of peroxidase and superoxide dismutase enzymes.

**Keywords**: Growth promoting bacteria, osmolyte, antioxidant enzymes, in vitro culture

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹ – دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# پاسخ برخی از آنتی اکسیدان ها به تنش شوری در گیاه تنباکو(*Nicotiana rustica*) باززایی شده از ریشه

*فریبا سادات فاتحی و علی اکبر احسانپور*

*اصفهان ، دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی*Faribaafaatehi@gmail.com

**چکیده** :

در شرایط طبیعی گیاهان در معرض تنش های زیستی و غیر زیستی شامل : پاتوژن ها، دماهای غیرقابل تحمل ، تنش شوری و نورشدید قرار دارند. در شرایط تنش ، گونه های فعال اکسیژن در برگ ها تجمع پیدا می کنند و به اکسیداسیون ترکیبات مهم سلولی مثل پروتئین ها ، کلروفیل ها ، لیپید و اسیدهای نوکلئیک منجر می شود. در این پژوهش گیاهان باززایی شده از ریشه تنباکو و گیاهان غیرباززایی به مدت ٤هفته در محیط MS حاوی غلظت های صفر ، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولارNaCl رشد داده شدند و سپس میزان پرولین ، کاروتنوئید ، آنتی اکسیدان کل ، میزان ROS کل و پراکسیداسیون لیپید مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده شد میزان رنگیزه کاروتنوئید گیاهان باززایی شده لاین ۱و۲(Regeneration1,2) افزایش معنی داری را نسبت به گیاهان غیرباززیی (Non Regeneration) نشان داد. همچنین افزایش میزان پرولین و آنتی اکسیدان کل در گیاهان باززایی شده نسبت به گیاهان غیرباززایی و کاهشMDA وROS در گیاهان باززایی شده نسبت به غیرباززایی مشاهده شد.تحقیق حاضر نشان می دهد گیاهان باززایی شده می توانند باعث افزایش مقاومت به شوری و بهبود شاخص های رشد در شرایط شوری شوند.

**کلمات کلیدی**: باززایی ، آنریم های آنتی اکسیدان ، گیاه تنباکو ، مقاومت به شوری

**مقدمه**

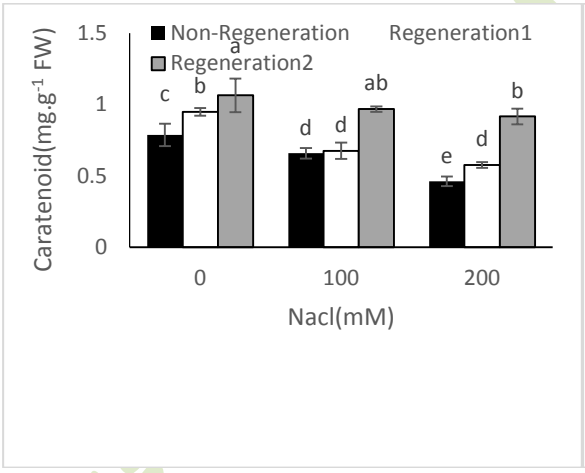
تنش شوری یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده رشد گیاه می‌باشد . زمانی که گیاهان تحت تنش های محیطی مانند شوری و خشکی قرار می گیرند در تعادل بین تولید انواع گونه های فعال اکسیژن و فعالیت سیستم های مداخله کننده در پاکسازی این رادیکال ها توسط آنتی اکسیدان ها اختلال ایجاد می شود و در نهایت آسیب اکسیداتیو ایجاد می شود . این آسیب های اکسیداتیو می توانند اثر خود را بر روی چربی ها ، پروتئین ها و اسید های نوکلئیک نشان دهند. مطالعات نشان داده است تحمل به نمک ، در صورتی که رادیکال های آزاد تولید شده از طریق تشدید سیستم آنتی اکسیدان جمع آوری گردند، افزایش می یابد. بین کاهش اکسیداتیو و افزایش تحمل به نمک و سایر تنش های محیطی و کارایی سیستم آنتی اکسیدان ارتباط وجود دارد. گیاهان سیستم آنتی اکسیدانی پیچیده ای را به کار می گیرند که باعث کاهش اکسیداتیو ناشی از ROS به بخش های سلولی می شود. این سیستم هم تحت شرایط طبیعی و هم تحت شرایط تنش زای محیطی مقدارROS را کنترل کرده ، که بدون این دفاع ها گیاهان نمی توانند انرژی خورشیدی را به انرژی شیمیایی تبدیل نمایند( Anderson et al. 1995 ).

**مواد و روش ها:** در این تحقیق گیاهان باززایی شده (حاصل از کالوس ) و غیرباززایی (حاصل از کشت بذر تنباکو) در محیط کشت MS حاوی نمک NaCl در غلظت های صفر، ۱۰۰ ،۲۰۰ میلی مولار قرارگرفتند و پس از٤ هفته آنالیز آماری بر روی آن ها صورت گرفت.۱۰۰میلی گرم از بافت برگ با استون ۸۰٪ حجمی ساییده شد. سپس عصاره های حاصل در دور۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژشد حجم محلول رویی به کمک استون ۸۰٪ به ۱۰میلی لیتر رسانده شد. جذب محلول در طول موج٤۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید قرائت گردید. اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی کل.، از عصاره های آنزیمی جهت اندازه گیری ظرفیت خنثی کنندگی رادیکال های آزاد استفاده شد. از محلول ۱ میلی گرم در لیتر آسکوربیک اسید در یک میلی لیتر اتانول به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.از محلول DPPH به عنوان بلانک

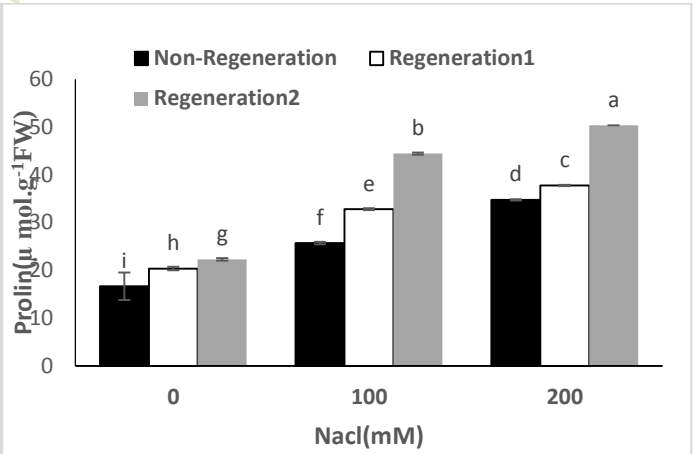
استفاده شد. جذب کنترل ونمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. برای اندازه گیری ROS کل از روش ماهالینگتون وهمکاران(Dmitriev et al. 1996 ) استفاده شد..فلورسانس نمونه ها در طول موج ٤٨٠ نانومتر و طول موج نشری ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش مقدار MDA ۰/۲ گرم بافت برگ را با ۵ میلی لیترTCA ۰/۰۱ سابیده شد.عصاره حاصل در دور rpm۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد .به یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ ٤ میلی لیتر TCA ۲۰درصد که حاوی ۰/۵ درصدTBA بود اضافه شد. مخلوط ۳۰دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم حرارت داده شد. و دوباره مخلوط به مدت ۱۰دقیقه در دور rpm۱۰۰۰۰ سانتریفیوژشد. شدت جذب محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. برای اندازه گیری پرولین از روش اصلاح شده Bates(۱۹۷۳ )انجام شد(Bates et al. 1973). جذب نمونه ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد.

**نتایج و بحث:** پژوهشگران بیان کردند که سیتوکینین ها نقش مهمی را در تنظیم رشد و نمو گیاه بازی می کنند. هورمون سیتوکینین باعث تجمع کلروفیل و تبدیل اتیوپلاست به کلروپلاست و تاخیر پیری برگ می شود که این عوامل باعث افزایش فتوسنتز خواهد شد( Alscher et al. 2002). در مطالعه حاضر نیز افزایش مقدار کاروتنوئید در گیاهان باززایی شده نسبت به گیاهان غیربازززایی در تنش شوری مشاهده شد که افزایش کاروتنوئید در گیاهان باززایی شده احتمالا به خاطر وجود سیتوکینین در محیط کشت کالوس باشد . دلیل دیگر می تواند وجود تنوعات سوماکلونال در گیاهان باززایی شده و غیربازززایی باشد شکل (۱).

افزایش میزان پرولین در حضور IAA دلیلی برای افزایش میزان محتوی نسبی آب گیاه می باشد. زیرا افزایش میزان پرولین در گیاه که باعث افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش می شود نیز به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی عمل می کند(Bybordi 2010). در مطالعه حاضر نیز افزایش میزان پرولین در هر دو گیاهان باززایی و غیربازززایی در تنش شوری صورت گرفته که این افزایش در گیاهان باززایی شده چشمگیر بوده است. در مطالعه حاضراحتمالا وجود اکسین در محیط کشت کالوس گیاهان باززایی شده احتمالا دلیلی برای افزایش میزان پرولین در گیاهان باررایی شده باشد. شکل(۲).




**شکل ۱**– اثر تنش شوری بر میزان کاروتنوئید

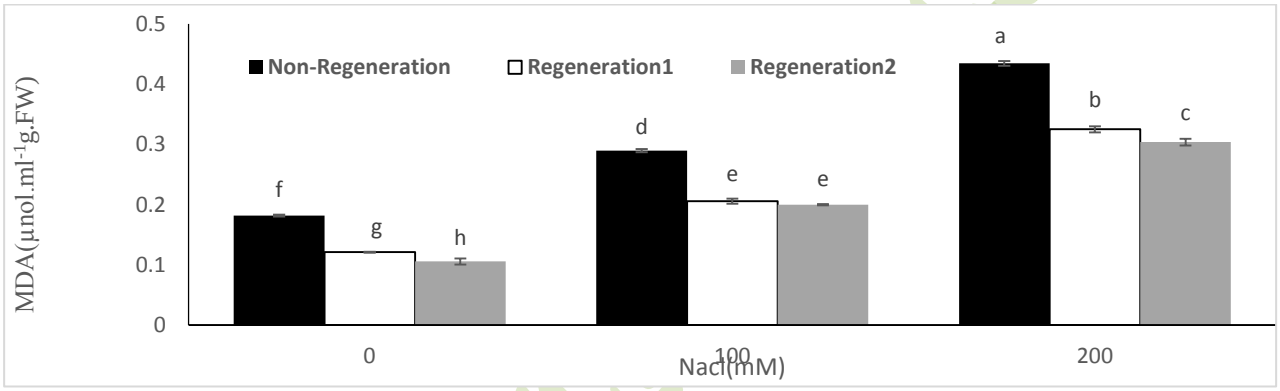



شکل ۲– اثرتنش شوری بر میزان پرولین

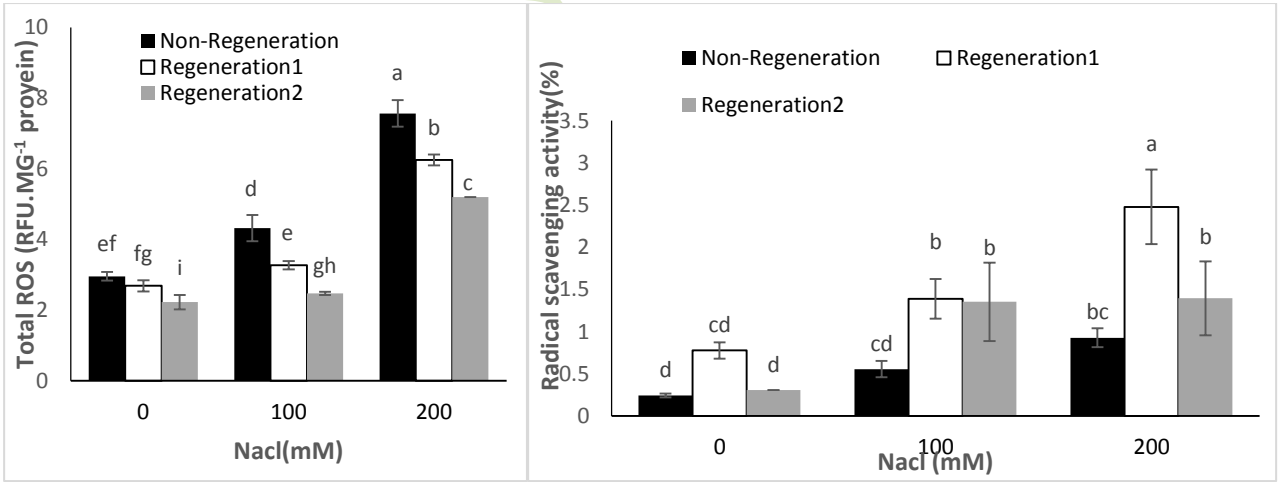
یکی از آسیب های جدی تنش های محیطی خسارت به غشاء و رهاسازی یون ها از سلول به فضای سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال های آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید، نفوذپذیری غشاء و خسارت به سلول می شود( Scandalios 1993).گزارشاتی نشان می دهد که اکسین می تواند مقدار MDA را تا ٤۵٪ کاهش دهد. کاهش MDA به عنوان اثرات بیوشیمیایی اکسین

است که تاکنون شناخته شده است (Bybordi 2010; Dubacg et al. 1982). در مطالعه حاضر نیز کاهش مقدارMDA در گیاهان باززایی شده نسبت به گیاهان غیرباززایی تحت تنش شوری مشاهده شده است. داده های حاصل از اندازه گیری اکسین و افزایش آن در گیاهان باززایی شده شاید دلیلی برای کاهش میزان MDA در گیاهان باززایی شده باشد شکل (۳).

سیستم دفاعی گیاه در برابر ROS در شرایط غیر تنش به خوبی فعال می باشد. به هرحال سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در برابر افزایش بیش از حد ROS در شرایط تنش ممکن است متلاشی و تخریب گردد و بنابراین کاهش شدید فعالیت آنتی اکسیدانی در شوری بالا را می توان به همین دلیل دانست (Hernandez et al. 2001). به نظر می رسد هورمون اکسین با تولید آنتی اکسیدان های مفید در مهار رادیکال های آزاد اکسیژن توانسته آسیب سلولی به غشاء تیلاکوئید و پیری برگ را به تاخیر اندازد(Sayd et al. 2010). در مطالعه حاضر احتمالا وجود اکسین در محیط کشت کالوس باعث کاهش ROS کل وافزایش آنتی اکسیدان کل در گیاهان باززایی شده نسبت به گیاه غیرباززایی شده باشد(شکل ٤،٥).




شکل ۳– اثرتنش شوری بر میران پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان باززایی شده و غیرباززایی




شکل ٤– اثر تنش شوری بر میزان ROS کل

شکل۵– اثر تنش شوری بر میزان آنتی اکسیدان کل

از نتایج به دست آمده چنین استنباط می شود که گیاهان باززایی شده هم در شرایط تنش شوری و غیرتنش سبب بهبود شاخص های رشد، فیزیکی و بیوشیمیایی نسبت به گیاهان غیرباززایی شدند.

1. Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant physiology*, 109(4), 1247-1257.
2. Alscher, R. G., Erturk, N., & Health, L. S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of experimental botany. 53(372), 1331-1341.
3. Bybordi, A. (2010). The influence of salt stress on seed germination, growth and yied of canola cultivars. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici cluj-Napoca, 38(1), 128-133.
4. Scandalios, J. G. (1993). Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant physiology. 101(1), 7-12.
5. Dubacg, I. P. Goldberg, R., Demorch, G., Prat, R., Tremolieres, A. and Lecharng A. (1982). In Biochmistry and Metabolism of Plant Lipid 467-470.
6. Hernandez, J. A., Ferrer, M. A., Jimener, A., Barcelo, A. R., & Sevilla, F. (2001). Antioxidant systems and $O_2/H_2O_2$ prouduction in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-indused necrotic lesions in minor veins. *Plant physiology*, 127(3), 817-831.
7. Sayd, S. S., Taic, H. A., & Taha, L. S. (2010). Micropropagation, antioxidant activity, total Phenolies and flovopoids Content of Gardenia jasminoides ellis as affected by growth regulatars. International Journal of Academic Research, 189-191.
8. Dmitriev, A., Djatsok, J., & Grodzinsky, D. (1996). The role $Ca^+$ in elicitation of phytoalexin synthesis in cell culture of onion (*Allium cepa* L.). Plant Cell Reports 15(12), 945-948.
9. Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies, Plant and Soil 39(1), 205-207.

## Response of some antioxidants to salinity stress in root regenerated tobacco(*Nicotiana rustica*) plant

***Fariba Sadat Fatehi and Ali Akbar Ehsanpour***
*Department of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran*
*Faribaafaatehi@gmail.com*

**Abstract**
Under natural conditions, plants are exposed to biological and non-biological stresses, including: pathogens, unbearable temperatures, salinity stress and intense light. Under stress, reactive oxygen species accumulate in the leaves, leading to the oxidation of important cellular compounds such as proteins, chlorophylls, lipids, and nucleic acids. In this study, regenerated plants from tobacco root and non-regenerated plants were grown for 4 weeks in MS medium containing concentrations of zero, 100, 200 mM NaCl. The levels of proline, carotenoids, total antioxidants, total ROS and lipid peroxidation were examined. It was observed that the amount of carotenoid pigment in regenerated plants showed a significant increase compared to non-regenerating plants. Also, an increase in proline and total antioxidants in regenerated plants compared to non-regenerative plants and a decrease in MDA and ROS in regenerated plants compared to non-regenerative plants were observed. The present study shows that regenerated plants can increase salinity resistance and improve growth indices under salinity conditions.

**Keywords:** Regeneration, Antioxidant enzymes, Tobacco plant, Salinity resistance

# بررسی ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) از نظر محتوای آنتوسیانین

*سمیه وقاری*، آرش فاضلی*

*به ترتیب، دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام*

*پست الکترونیک نویسنده مسئول missvaghari74@gmail.com

چکیده:

لوبیا سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها، دارای ترکیبات پلی‌فنولی، آنتوسیانین‌ها و فلانوئیدها است. که از لحاظ غذایی و دارویی نقش بسیار مهمی دارند. لذا به‌منظور بررسی میزان آنتوسیانین در ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا، ۱۲ رقم لوبیا هر رقم در ۳ تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در تیرماه ۱۳۹۷ در گلخانه دانشگاه ایلام کشت گردید. برای اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش اختلاف جذب در PHهای مختلف روش(Giusti and Wrolstad) استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا از نظر میزان آنتوسیانین (برگ سبز، غلاف نارس و بذر خشک ) اختلاف معناداری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. رقم لوبیا سیاه بیشترین میزان آنتوسیانین را داشت و کمترین مقدار آنتوسیانین مربوط به ژنوتیپ لوبیا سفید بود. همچنین در بین ارقام لوبیای چشم بلبلی، لوبیای چشم بلبلی موتانت آنتوسیانین بیشتری نسبت به سایر ارقام لوبیای چشم بلبلی معمولی داشت. از اطلاعات این تحقیق می‌توان برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر از نظر میزان آنتوسیانین و خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتر استفاده کرد. همچنین لوبیای چشم‌بلبلی موتانت می‌تواند گزینه مناسبی جهت مطالعات بیشتر و معرفی به کشاورزان در آینده باشد.

کلمات کلیدی: ترکیبات پلی‌فنولی، آنتوسیانین، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

لوبیا یک منبع غذایی باارزش است که نه‌تنها به‌دلیل ارزش غذایی بالا، بلکه به‌دلیل خواص عملکردی آن‌ها به‌عنوان یکی ازترکیبات مهم رژیم‌های غذایی محسوب می‌شوند. اجزای اصلی عملکرد لوبیا، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، فیتات‌ها، لکتین‌ها، فیبرهای محلول و فنولیک‌ها هستند.فنولیک‌ها شامل اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و پروآنتوسیانین‌ها است. که به‌ویژه به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی قابل توجه هستند. تحقیقات اپیدیولوژیک نشان داده است که مصرف لوبیا با محتوای فنولیک بالا و ارزش آنتی‌اکسیدانی بالا با کاهش خطر ابتلا به دیابت و چاقی، بیماری عروق کرونر قلب ، سرطان روده بزرگ و اختلالات دستگاه گوارش ارتباط مستقیم دارد. که وجود یک ماده سازنده فعال زیستی شبیه پلی‌فنول‌ها را نشان می‌دهد زیرا به فیبرهای غذایی ارتباطی ندارد. علاوه بر این گزارش شده است که عصاره لوبیا غنی ازپلی‌فنول دارای اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد جهش ، شیمی درمانی و ضد باکتری است(Gan et al., 2016) . خاصیت آنتی اکسیدانی لوبیا حاصل از آنتوسیانین‌های موجود در آن است. آنتوسیانین‌ها مهم‌ترین گروه از رنگدانه‌های گیاهی هستند که غیر سمی و محلول در آب بوده و در سطح وسیعی از سلول‌های گیاهی وجود دارد و مسئولیت ایجاد رنگ‌های مختلف را برعهده دارند وجزء شناخته‌ترین ترکیباتی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی دارند (Petroni and Toneli., 2011) . به این‌ترتیب تولیدکنندگان باید بدانند اساس ژنتیکی صفات مختلف رنگ پوشش دانه باید مطابق با ذائقه مصرف‌کنندگان در بازارها باشد. همچنین ارقام اصلاح شده اغلب باعث افزایش

درآمد کشاورزان می‌شوند. رنگ در بسیاری از گونه های محصول مورد مطالعه قرار گرفته است که اغلب با جایگاه‌های ژنی (loci) که مسیر بیوسنتزآنتوسیانین را کنترل می‌کنند در ارتباط می‌باشد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که بذور لوبیا که دارای پوشش سیاه رنگ می‌باشند، محتوی آنتوسیانین بالاتری دارند که خاصیت ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی دارد. با توجه به کیفیت و اهمیت لوبیا در برنامه‌های غذایی و اهمیت آنتی‌اکسیدان آن نیازمند بررسی میزان آنتوسیانین در ارقام مختلف آن می‌باشد و از اطلاعات حاصل می‌توان در برنامه های اصلاحی و معرفی ارقام با مقدار بالای آنتوسیانین استفاده نمود.

مواد و روش‌ها:

۱۲ رقم لوبیا به ترتیب، (لوبیا چیتی۱، لوبیا چیتی رقم skunk، لوبیا چیتی۲، لوبیا سفید، لوبیا قرمز، لوبیا سیاه، لوبیاچشم‌بلبلی موتانت، چشم‌بلبلی معمولی ۱، چشم بلبلی معمولی۲، لوبیا سوئدی، لوبیاچیتی۳ و لوبیای عروس یا کریسمس ) جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان ایلام و بانک ژن دانشگاه ایلام در ۳ تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی کشت گردید. جهت آنالیزآنتوسیانین نمونه‌برداری‌هایی در مراحل مختلف رشدی گیاه (برگ، غلاف سبز و بذر خشک) از ژنوتیپ‌های مختلف جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری آنتوسیانین، از روش اختلاف جذب در PHهای مختلف (روش Giusti and Wrolstad) استفاده شد. حلال مورد نظر برای استخراج بافت مورد نظر متانول اسیدی بود. برای این منظور از نسبت یک درصد اسیدکلریدریک و ۹۹ درصد متانول استفاده شد. در ادامه ۰/۲ گرم بافت منجمد شده (در فریزر ۸۰- نگهداری شده) توسط نیتروژن مایع آسیاب شد و سپس با استفاده از متانول اسیدی به‌عنوان حلال، حجم عصاره به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. تمامی نمونه ها به مدت ۲٤ ساعت درتاریکی و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس عصاره بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. برای سنجش غلظت آنتوسیانین از دو بافرکلرید پتاسیم ۰۲۵ /۰ مولار با PH=1 و بافر استات سدیم ۰/٤ مولار با PH=4/5 استفاده شد. جذب نمونه ها در دو طول موج ۵۳۰ نانومتر برای آنتوسیانین کل و ۷۰۰ نانومتر برای تصحیح خطا و با دستگاه اسپکتروفتومتر (Instrument Ltd T80+UV/VIS PG) خوانده شد. برای تعیین غلظت نهایی آنتوسیانین موجود، عدد حاصل از جذب در دورابطه زیر قرار گرفت:

رابطه (۱) $A=(A530-A700)pH1-(A530-A700)pH4$

رابطه (۲) آنتوسیانین کل $(mg.L^{-1})=(A*34300*6/6*1000)/449/2*1$

که در رابطه فوق ۳٤۳۰۰ نشان دهنده‌ی ضریب خاموشی سیانیدین ۳-گلوکوزاید، ٦/٦ فاکتور رفت، ۱۰۰۰ ضریب تبدیل و ٤٤۹/۲ وزن مولکولی سیانیدین ۳-گلوکوزاید می‌باشد. و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن (DUNCAN) درسطح احتمال پنج درصد و یک درصد به کمک نرم افزار SAS 1.9 انجام شد.

نتایج و بحث:

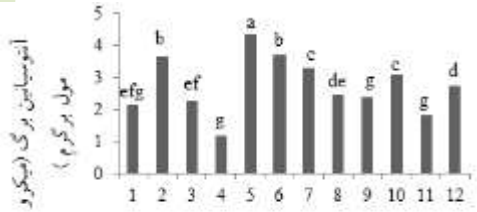
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات آنتوسیانین برگ، آنتوسیانین غلاف سبز و آنتوسیانین بذر خشک نشان داد که بین ژنوتیپ‌های لوبیا از نظر صفات مذکور در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات مذکور (شکل ۱، ۲ و۳) گویای تفاوت میزان آنتوسیانین در ارقام مختلف لوبیا است. محتوای آنتوسیانین در بین ارقام مختلف و در بین بخش‌های مختلف گیاه به‌دلیل تاثیر ژن‌ها، نور، دما و عوامل زراعی متفاوت است

(Horbowicz et al., 2008) . به‌طوری‌که بیشترین میزان آنتوسیانین برگ (٤/٣٢) در ژنوتیپ شماره ٥ و کمترین مقدار(١/١٨) در ژنوتیپ شماره ٤ اندازه‌گیری شد. علاوه‌براین بیشترین میزان آنتوسیانین غلاف سبز(٣/٩٤) در ژنوتیپ شماره ١ وکمترین(١/٠٨) در ژنوتیپ شماره ٤ اندازه‌گیری شد. درحالی‌که بیشترین مقدار آنتوسیانین (١٣/٢٣) در بذر خشک ژنوتیپ شماره ٦ و کمترین مقدار (٢/٨٩) در ژنوتیپ شماره ٤ ثبت گردید.

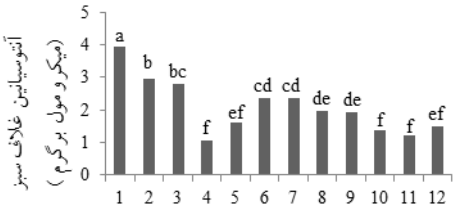
جدول ١- تجزیه واریانس آنتوسیانین

| منابع تغییرات | درجه آزادی | آنتوسیانین برگ | آنتوسیانین غلاف سبز | آنتوسیانین بذر خشک |
|---|---|---|---|---|
| بلوک | ٢ | ٠/٠١٦$^{ns}$ | ٠/٠٨٧$^{ns}$ | ٠/٦٣٠$^{ns}$ |
| رقم | ١١ | ١/٨٥** | ١/٦٩** | ٢٨/٥٢** |
| خطا | ٢٢ | ٠/٠٣٤ | ٠/٠٨ | ٠/٥٧ |
| ضریب تغییرات | | ٦/٥٧ | ١٣/٨١ | ١١/٠٨١ |

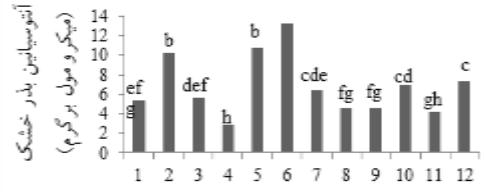
ns،* و** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ٥٪ و ١٪




شکل ١- آنتوسیانین برگ در بین ژنوتیپ‌های لوبیا




شکل٢- آنتوسیانین غلاف سبز در بین ژنوتیپ‌های لوبیا




شکل٣- آنتوسیانین بذر خشک در بین ژنوتیپ‌های لوبیا

مقدار آنتوسیانین در بذر خشک که آنتوسیانین کل محسوب می‌شود چرا که در نهایت، آنتوسیانین در بذر تجمع پیدا می‌کند و مهم‌تر از آنتوسیانین غلاف سبز و برگ می‌باشد، به‌عنوان آنتوسیانین اصلی در نظر گرفته می‌شود. با توجه‌به نتایج به‌دست آمده مقدار آنتوسیانین در ارقامی که پوست بذر تیره‌تری دارند بیشتر از سایر ارقام شد. به طوری که رقم ٦ (لوبیای سیاه ) بالاترین مقدار آنتوسیانین را داشته است و رقم ٥ (لوبیا قرمز) در رتبه دوم و رقم ٢ ( رقم Skunk) در رتبه سوم قرار گرفته‌اند. وکمترین

مقدار آنتوسیان را لوبیای سفید داشته است. در بین ارقام لوبیای چشم‌بلبلی، رقم ۷ (لوبیای چشم‌بلبلی موتانت) آنتوسیانین بیشتری نسبت به ارقام چشم بلبلی معمولی ۱و۲ (رقم ۸ و۹) که نواحی تیره بذر آن‌ها کمتر از چشم بلبلی موتانت می‌باشد داشت. آنتوسیانین کل در دانه‌هایی که رنگ پوسته تیره‌تری دارند نسبت به لوبیای سفید بیشتر است و در ژنوتیپ‌های سیاه رنگ لوبیا بیشتر از سایر الگوی رنگی لوبیا می‌باشد (Jamal omidi and Setodi, 2018). حضور با ارزش و مفید آنتوسیانین‌ها در برنامه غذایی ضروری است و با خاصیت آنتی اکسیدانی که دارند تاثیرات مفیدی بر سلامت انسان می‌گذارند و همچنین با ایجاد رنگ‌های مختلف باعث تغییر رنگ پوشش دانه می‌شوند که ظاهری جذاب‌تر به محصول می‌دهند با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت رقم لوبیا چشم‌بلبلی موتانت به‌دلیل آنتوسیانین بیشتر و ظاهری جذاب‌تر (Ira A Hernitre and Maria Munoz-Amatriain et al.,2018). در مقایسه با سایر ارقام لوبیای چشم بلبلی می‌تواند جایگزین ارقام معمولی این نوع لوبیا شود.

فهرست منابع:

1- Gan/ R.Y., Deng/ Z.Q., Yan/ A.X., shah/ N.P., Lui/ W.Y., chan/ C.L. and corke/ H. (2016) Pigmented edible bean coats as natural sources of polyphenols with antioxidant and antibacterial effects. LWT- Food science and Technology. 73:168-177.
2- Horbowicz/ M., kosson/ R., Grzesiuk/ A. and. Debski/H. (2008) Anthocyanins of fruits and vegetables- their occurrence. Analysis and role in human nutrition. Vegetable crops Res Bull. 68: 5-22.
3- Ira Herniter/ A., Munoz-Amatriain/ M., Sassoumlo/ Lo., ning Guo/ Yi. And Timothy/ j. (2018) Identification of Candidate Genes controlling Black Seed Coat and Pod Tip Color in Cowpea (*Vignaunguiculata[L.}Walp*) . 10: 3347-3355.
4- Jamal-omidi/ M. and Padash-Setodi/ M. (2018) Biochemical and Physiological affinities of some Bean (*Phaseolus vulgaris L*) cultivars.Third National Conference on Biology. Payame Noor University of Mazandaran Province.(In Farsi)
5- Petroni/ K. and Tonelli/ C. (2011) Recent Advances on the Regulation of Anthocyanin Synthesis in Reproductive Organs. Plant Science 181 (3). Elsevier Ireland Ltd:219–29.

## Investigation of different bean genotypes (Phaseolus vulgaris) in terms of anthocyanin content

***Somayeh Vaghari*. Dr, Arash Fazeli***
***Graduted M.Sc and Associate Professor Agriculture and Plant** Breeding Ilam University*

**Abestract**
Beans are rich in antioxidants, compounds polyphenolic, antocyanins and flavonoids. Which play a very important role in terms of nutrition and medicine. Therefore, in order to evaluate the amount of antocyanin in different bean genotypes. 12 bean cultivars in 3 replicate were planted in a completely randomized block design in July 1977 in Ilam University greenhouse. Absorption difference method at different PHs was used to measure anthocyanin. Results of analysis of variance of experimental data showed that among different bean genotypes in terms of anthocyanin(leaf, green pod, dry seed) traits were significantly different at 1% level Anthocyanin content was higher in black beans than in other cultivars and the lowest value was related to white bean genotype. and *Vigna ungiculata* Mutant had more anthocyanin than other commin *Vigna ungiculata* cultinars The information if this study can be used to select the best bean genotypes in terms of antocyanin content and more antioxidant properties. Also *Vigna ungiculata* Mutant can be a good option for further studies and introduction to farmers in future.

**Keywords**: compounds polyphenolic, Anthocyanin, flavonoids, antioxidants

# اثر گلایسین بتائین بر برخی از شاخص های فیزیولوژیکی گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica*) تحت تنش شوری در کشت در شیشه

***پروین یاوری، علی اکبر احسانپور***

*اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری های زیستی*

Parvinyavari72@gmail.com

**چکیده:**

تنش های زیستی و غیر زیستی محدودکننده رشد در گیاهان هستند. گلایسین بتائین(GB) اسمولیتی است که تحمل گیاه نسبت به تنش را افزایش داده و از آنجاییکه بعضی گیاهان فاقد توانایی تجمع گلایسین بتائین به میزان کافی هستند، کاربرد خارجی آن می تواند در رویارویی با تنش موثر باشد. در این تحقیق گیاهان تنباکو به مدت ٤ هفته در محیط MS حاوی غلظت های ۰، ۲۰و ۳۰ mg/l GB و ۰، ۱۰۰و ۱۵۰ mM NaCl رشد داده شدند و سپس برخی شاخصهای فیزیولوژیک در آنها بررسی گردید. نتایج آزمایشات حاکی از تغییراتی در میزان GB درونی، وزن تر و خشک، پرولین، سدیم و پتاسیم در گیاهان تیمار شده با GB بود و بنابراین نشان از تاثیر مثبت GB خارجی بر گیاه با خنثی کردن اثر تنش دارد.

**کلمات کلیدی**: تنش، گیاه تنباکو، گلایسین بتائین، مقاومت به شوری

**مقدمه:**

تنش شوری با تولید گونه های فعال اکسیژن، ناپایداری و تخریب غشاهای سلولی، ممانعت از فتوسنتز و ... از اصلی ترین عوامل محدودکننده رشد در گیاهان است(Gupta1 and Huang 2014). سیتوپلاسم برای برقراری توازن یونی، ترکیباتی آلی با وزن مولکولی کم مانند GB و پرولین را تجمع می دهد(Good and Zaplachinski 1994). برخی گیاهان فاقد توانایی تجمع GB به میزان کافی هستند و کاربرد خارجی GB می تواند اثرات مطلوبی در رویارویی با تنش داشته باشد. باتوجه به نقش GB در افزایش مقاومت گیاهان به تنشهای محیطی، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر GB خارجی بر برخی شاخصهای فیزیولوژیک در گیاه تنباکو تحت تنش شوری می باشد.

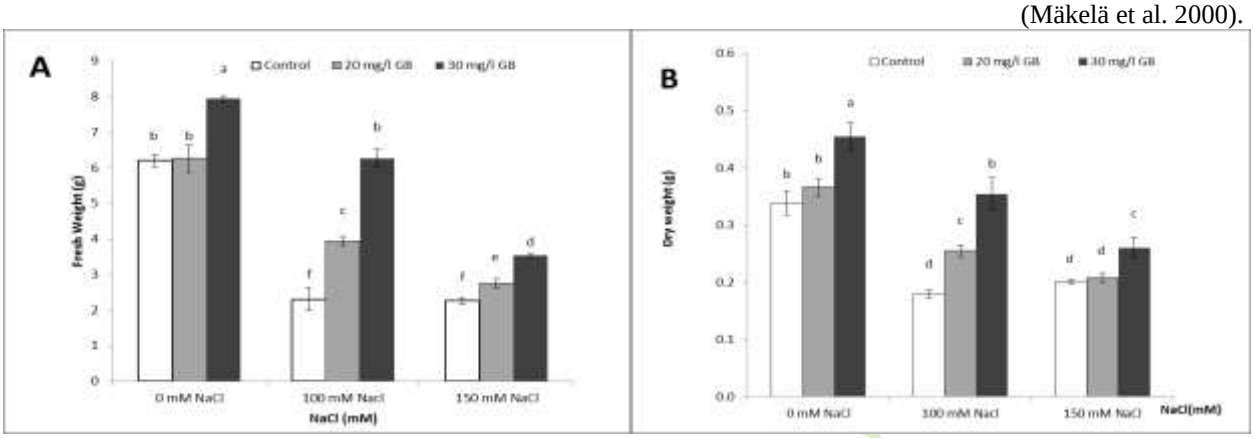
**مواد و روش ها:**

گیاهچه های تنباکو به محیطهای MS حاوی گلایسین بتائین در غلظتهای ۰، ۲۰ و ۳۰ mg/l و نمک NaCl در غلظتهای ۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mM منتقل گردید. پس از ٤ هفته گیاهان از محیط کشت خارج شدند. ابتدا وزن تر و خشک گیاهان اندازه گیری شد. سپس براساس روش تغییر یافته Wet ashing، غلظت سدیم و پتاسیم به وسیله دستگاه شعله سنج اندازه گیری شد. برای اندازه گیری میزان گلایسین بتائین از روش Grieve and Grattan استفاده شد و جذب نمونه ها در طول موج ۳٦۵nm با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گشت. اندازه گیری پرولین با روش Bates و در طول موج ۵۲۰nm انجام شد. آنالیز آماری این پژوهش توسط نرم افزار SPSS و با استفاده از ۳ تکرار انجام شد.

**نتایج و بحث:**

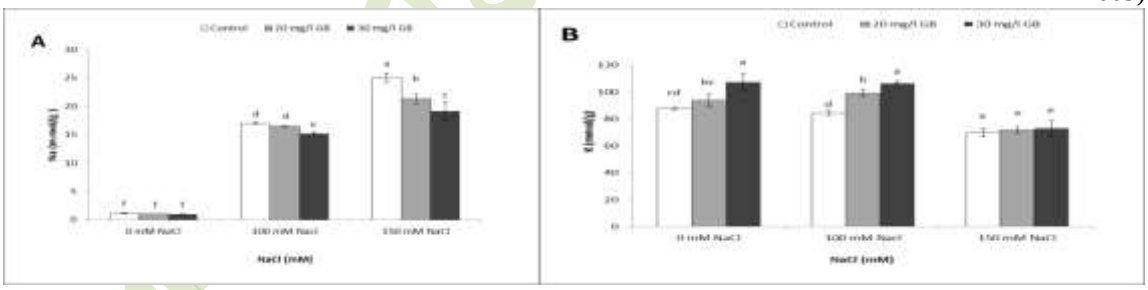
رشد شاخصیست که عوامل داخلی و خارجی زیادی بر آن اثر گذاشته و ابزار مهمی به منظور ارزیابی بهره وری در گیاهان است. تعیین وزن تر و خشک یکی از ویژگی های مطلوب به منظور ارزیابی تاثیر تنش شوری بر گیاهان عالیست (Farooq et al.

.(2009. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، وزن تر و خشک گیاه تنباکو، با افزایش غلظت نمک کاهش معنی داری نسبت به گیاهان شاهد داشت و با تیمار گلایسین بتائین(GB) افزایش معنی داری نشان داد(شکل۱) که احتمالا بدلیل نقش GB در کاهش میزان ROS در شرایط تنش، حفظ ساختار پروتئین های درگیر در مسیر متابولیسمی و نهایتا افزایش تولید بیوماس در گیاهان است (Mäkelä et al. 2000).




شکل۱- اثر تیمار گلایسین بتائین بر وزن تر و خشک در تنش شوری

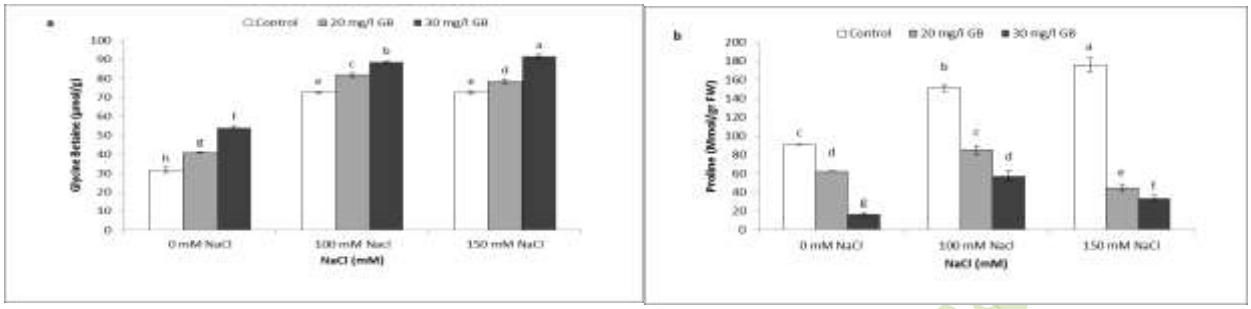
تنش شوری منجر به افزایش تجمع $Na^+$ و کاهش غلظت $K^+$ در گیاه میشود که میتواند بعلت تغییراتی در میزان جذب و انتقال این دو یون در گیاه باشد(Gorham 1990 ). طبق نتایج مطالعه حاضر، GB منجر به افزایش میزان $K^+$ و کاهش میزان $Na^+$ شده است(شکل۲) که تایید کننده نقش GB در حفظ هومئوستازی $K^+$ سیتوزول و کاهش جریان آپوپلاستی $Na^+$ است .Sobahan et al). 2009)




شکل۲- اثر تیمار گلایسین بتائین بر میزان $Na^+$ و $K^+$ گیاه در تنش شوری

GB اسمولیتی است که حین تنش اکسیداتیو با سمیت زدایی ROS، از آنزیمهای سیتوپلاسمی و ماکرومولکولهای دیگر محافظت میکند. نتایج این پژوهش حاکی از افزایش میزان GB درونی گیاه با افزایش غلظت نمک و همچنین در حضور تیمار خارجی GB است(شکل۳a). احتمالا گیاه با جذب GB از ریشه و انتقال آن به برگها توسط ترانسپورترهای ProTs موجب تجمع GB در برگها شده است(Yamada et al. 2009) . نتایج آزمایشات ما نشاندهنده افزایش میزان پرولین در گیاهان با افزایش غلظت نمک، نسبت به گیاهان شاهد و کاهش میزان پرولین در گیاهان تیمارشده با GB نسبت به گیاهان بدون تیمار است(شکل۳b). با توجه به توانایی GB در مقابله با تنش شوری،احتمالا تجمع GB جذب شده، تاثیر منفی تنش بر گیاه را کاهش داده، در فرایند سازگاری اسمزی به

وسیله تجمع پرولین تداخل ایجاد کرده و جایگزینی برای پرولین بوده است(Demiral and Türkan2006) و بنظر میرسد GB خارجی تاثیر مثبتی بر گیاه برای خنثی کردن اثرات تنش داشته است.




شکل۳-اثر تیمار GB بر میزان GBدرونی(a) و پرولین(b) در تنش شوری

**فهرست منابع:**

1. Gupta1, B., and Huang, B. (2014). Mechanism of Salinity Tolerance in Plants. Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. International Journal Of Genomics. 18.
2. Good, AG., and Zaplachinski, ST. (1994). The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in Brassica napus. Physiologia plantarum. 90(1): 9-14.
3. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, SMA. (2009). Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. Sustainable Agriculture. 29: 185-212.
4. Mäkelä, P., Kärkkäinen, J., and Somersalo, S. (2000). Effect of Glycinebetaine on Chloroplast Ultrastructure, Chlorophyll and Protein Content, and RuBPCO Activities in Tomato Grown under Drought or Salinity. Biologia Plantarum. 43: 471-475.
5. Gorham, J. (1990). Salt Tolerance in the Triticeae: K/Na Discrimination in Synthetic Hexaploid Wheats. Journal of Experimental Botany. 41(5): 623-627.
6. Sobahan, MA., Arias, CR., Okuma, E., Shimoishi, Y., Nakamura, Y., Hirai, Y., Mori, IC., and Murata, Y. (2009). Exogenous Proline and Glycinebetaine Suppress Apoplastic Flow to Reduce Na+ Uptake in Rice Seedlings. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 73(9): 2037-2042.
7. Yamada,N., Promden, W., Yamane, K., Tamagake, H., Hibino, T., Tanaka, Y., and Takabe, T. (2009). Preferential accumulation of betaine uncoupled to choline monooxygenase in young leaves of sugar beet – Importance of long-distance translocation of betaine under normal and salt-stressed conditions. Journal of Plant Physiology. 166(18): 2058-2070.
8. Demiral, T., and Türkan, I. (2006). Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Experimental Botany. 56(1): 72-79.

# Effect of Glycine Betaiene on some physiologic parameters in Tobacco plant (Nicotiana rustica) under in vitro salt stress

***Parvin Yavari, Ali Akbar Ehsanpour***

*Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan*

*Parvinyavari72@gmail.com*

**Abstract**:

Biotic and abiotic stresses limit growth in plants. Glycine betaine (GB) is an osmolite that increases the plant's tolerance to stress, and since some plants do not have the ability to accumulate enough GB, its external use can be effective in dealing with stress. In this study, tobacco plants were grown for 4 weeks in MS medium containing concentrations of 0, 20 and 30 mg / l GB and 0, 100 and 150 mM NaCl and then some physiological parameters were examined. The experimental results showed changes in the amount of internal GB, fresh and dry weight, proline, sodium and potassium in plants treated with GB and therefore show a positive effect of external GB on the plant by neutralizing the stress effect.

**Keywords**: Stress, Tobacco plant, Glycine betaine, Salinity resistance

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه‌های موئین غاصول صابونی تیمار شده با نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید

**احد هدایتی[۱و۲*]، حسین هنری[۲]، الناز نوروزی[۳]، سیاوش همتی[۱]**

[۱] گروه پژوهشی تولید متابولیت‌های ثانویه در سامانه‌های زیستی، جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه

[۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران

[۳] ارومیه گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

*نویسنده مسئول: ahedayati67@yahoo.com

**چکیده**

غاصول صابونی (*Saponaria officinalis*) یک گیاه چند ساله از خانوده میخک می‌باشد که در طب سنتی به عنوان تصفیه کننده خون، مدر، عرق آور، پاک کننده صفرا و در درمان بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود. سیستم کشت ریشه‌های موئین جایگزین مناسبی جهت بهبود تولید ترکیبات با ارزش دارویی در مقایسه با سایر روش‌های درون شیشه‌ای می‌باشد. در این مطالعه، تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در دو مدت زمان تیمار (۲٤ و ٤۸ ساعت) بر میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه‌های موئین غاصول صابونی مورد بررسی قرار گرفت. مطابق نتایج، بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز به ترتیب در غلظت‌های ۵۰، ۳۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر و مدت زمان تیمار ۲٤، ٤۸ و ٤۸ ساعت به‌دست آمد. بر اساس نتایج، استفاده از نانو ذرات به عنوان محرک می‌تواند در بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موثر باشد.

.....**کلمات کلیدی**: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ریشه موئین، محرک، نانو ذرات.

**مقدمه**

غاصول صابونی با نام علمی *Saponaria officinalis* یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده میخک (Caryophyllaceae) می‌باشد که بومی اروپا و آسیا بوده و در سراسر جهان به دلیل خواص دارویی آن کشت می‌گردد. این گیاه دارای ریشه‌های ضخیم و سمی بوده و در گذشته از ریشه آن برای تولید صابون استفاده می‌کردند و از این رو به آن صابونی گفته می‌شود. ریشه موئین نوعی بیماری گیاهی است که توسط باکتری گرم منفی خاکزی به نام آگروباکتریوم رایزوژنز (*Agrobacterium rhizogenesis*) ایجاد می‌گردد. ریشه‌های موئین دارای رشد سریع، تکثیر فراوان و عدم زمین گرایی در شرایط کشت فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی می‌باشند. ویژگی‌هایی از قبیل ثبات بالا از نظر ژنتیکی و بیوسنتزی و نگه‌داری آسان، ریشه‌های موئین را به عنوان منبعی دائمی برای تولید متابولیت‌های ثانویه تبدیل کرده است (Srivastava and Sirvastava, 2007; Hasanloo *et al*., 2008). کاربرد محرک‌های[٤] زیستی و غیر زیستی از جمله راهبردهای رایج به‌کار رفته به‌منظور افزایش تولید ترکیبات باارزش دارویی می‌باشد

[4] Elicitors

(Hu and Du, 2006; Guillon *et al*., 2006). اخیراً نانو ذرات به عنوان نسل جدیدی از محرک‌های مؤثر، به‌طور گسترده‌ای در زمینه زیست‌فناوری و به‌منظور تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش از طریق القاء پاسخ‌های دفاعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Fakruddin *et al*., 2012). نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید ($Tio_2$ NPs) از نانو ذرات مهمی است که می‌تواند باعث تحریک تقسیم سلولی، افزایش اندازه سلول و همچنین تحریک کالوس‌زایی در شرایط تاریکی شود و اثرات مشابهی با هورمون‌های گیاهی (سایتوکینین و جیبرلین) داشته باشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مثل سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش دهد (Mandeh *et al*., 2012). افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای دفاعی گیاهان در رویارویی با شرایط نامساعد است. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (ازجمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، بتاکاروتن، آسکوربیک اسید، آلفاتوکوفرول، گلوتاتیون) و آنزیمی (شامل سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پلی‌فنول اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) هستند (Daneshmand, 2014). همکاری این اجزا با یکدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی می‌شود که به‌عنوان سازوکارهای دفاعی بوده و سلول را قادر می‌کند از تولید گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری کرده و یا آن¬ها را جمع‌آوری و آثار مضر آن¬ها را کاهش دهد (Ashraf and Iram, 2005). در مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید به عنوان محرک غیر زیستی بر میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کشت ریشه‌های موئین غاصول صابونی مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد وروش‌ها

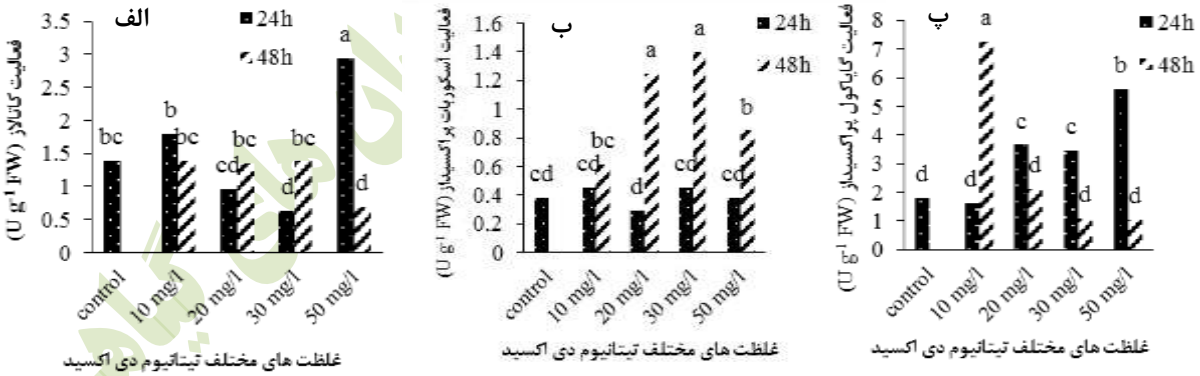
**کشت بذور و القا ریشه موئین:** بذر گیاه غاصول صابونی پس از خریداری از شرکت پاکان بذر اصفهان، ضدعفونی (با الکل و محلول هیپوکلریت سدیم) شده و در محیط کشت MS کشت گردید. سویه A13 باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز جهت القاء ریشه-های موئین از بانک میکروبی موسسه ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران–ایران تهیه شد. پس از تلقیح ریزنمونه‌های برگی توسط سویه باکتری، ریزنمونه‌ها به محیط کشت MS فاقد هورمون منتقل و تا زمان ظهور ریشه‌ها در اتاق رشد (دمای ۲ ±۲۵ و شرایط تاریکی) نگهداری شدند.

**بررسی اثر محرک بر میزان رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی:** این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی، با سه تکرار انجام شد. به منظور انجام این آزمایش، غلظت‌های مختلف نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) تهیه و تاثیر آن‌ها بر زیست توده و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه‌های موئین غاصول صابونی در مدت زمان‌های ٢٤ و ٤٨ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۰/۵ گرم از ریشه‌های موئین توزین و به ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS منتقل شدند و سپس جهت رشد بهتر در شیکر انکوباتور با ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. در روز ۲۱ ام کشت، ریشه‌های موئین با غلظت‌های مختلف محرک تیمار شدند. بعد از گذشت یک هفته،ریشه‌ها جهت سنجش میزان رشد و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برداشت شدند. به منظور اندازه-گیری فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز به ترتیب از روش‌های Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵)، Asada و Chen (۱۹۸۹) و (Aebi, 1984) استفاده گردید.

## نتایج و بحث

**تاثیر نانو ذرات بر وزن تر و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی:** نتایج نشان داد که اثر متقابل غلظت و مدت زمان تیمار در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان وزن تر ریشه‌های موئین تیمار شده داشت (جدول ۳-۲). بیشترین میزان وزن تر (۳/۰۹ گرم) در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان تیمار ٤٨ ساعت و کمترین میزان وزن تر (۰/۹٦ گرم) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم برلیتر در مدت زمان تیمار ٢٤ ساعت مشاهده گردید. نانو ذره تیتانیوم دی اکسید منبع مناسبی از عناصر غذایی ضروری برای گیاهان به‌شمار می‌رود که سبب افزایش زیست¬توده گیاهی از طریق افزایش فعالیت‌های متابولیکی می‌گردد (Palmqvist *et al.*, 2015). نانو ذره تیتانیوم دی اکسید از طریق تأثیر بر متابولیسم نیتروژن، بوسیله القاء فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و گلوتامات دهیدروژناز به¬واسطه‌ی جذب نیترات، سبب بهبود رشد شده و در نتیجه باعث افزایش وزن تر، وزن خشک و میزان فتوسنتز در گیاهان می‌گردد (Yang *et al.*, 2008; Nair *et al.*, 2010).

همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل غلظت و مدت زمان تیمار با نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید بر میزان فعالیت هر سه آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسات میانگین، تیمار ریشه‌های موئین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر محرک در مدت زمان ٢٤ ساعت بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز ($U g^{-1} FW$ ۲/۹٤) را نشان داد. (شکل ۱-الف). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با ۳/۷ و ۳/۳ برابر افزایش در مقایسه با تیمار شاهد، به‌ترتیب در غلظت‌های ۳۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات و در مدت زمان تیمار ٤٨ ساعت مشاهده گردید (شکل ٦-ب). بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ($U g^{-1} FW$ ۷/۲٦) در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات و مدت زمان تیمار ٤٨ ساعت ایجاد شده است. همچنین کمترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ($U g^{-1} FW$ ۱/۰۵) در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید و مدت زمان تیمار ٤٨ ساعت مشاهده گردید (شکل ٦-پ).




**نمودار۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت و مدت زمان تیمار با نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید بر فعالیت آنزیم¬های کاتالاز (الف)، آسکوربات پراکسیداز(ب) و گایاکول پراکسیداز (پ) در ریشه‌های موئین غاسول صابونی**

آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌هایی هستند که منجر به شکستن پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) و تبدیل آن به مولکول‌های آب و اکسیژن می‌گردند. گایاکول پراکسیداز به عنوان آنزیم تنش شناخته شده است. این آنزیم از یک پیش ماده نظیر ترکیبات فنولی یا آنتی‌اکسیدان‌های دیگر، به عنوان دهنده الکترون به $H_2O_2$ استفاده می‌کند و سبب تجزیه آن می‌شود. به‌نظر

می‌رسد که ورود نانو ذرات تیتانیوم دی اکسید به درون بافت‌های گیاهی منجر به ایجاد سمیت و افزایش میزان ROSها در داخل گیاه می‌گردد که به دنبال آن فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌منظور خنثی‌کردن اثرات نامطلوب ROSها، افزایش می‌یابد (Ebrahimi *et al*., 2016). تغییر در وضعیت ROS ها به شدت به غلظت نانو تیتانیوم دی اکسید و مدت زمان تیمار وابسته می‌باشد، به عبارت دیگر، افزایش غلظت نانو تیتانیوم دی اکسید منجر به سمیت سلولی در گیاهان می‌گردد (Mattiello *et al*., 2015; Schiavo *et al*., 2016). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در مدت زمان تیمار ۲٤ ساعت در مقایسه با زمان ٤٨ ساعت، ممکن است به دلیل افزایش تولید ROS ها در ساعات اولیه بعد از تیمار و یا بازگشت آنزیم‌ها به وضعیت اولیه در اثر گذشت زمان، باشد (Soares *et al*., 2010). مطالعات زیادی نشان دادند که، پتانسیل آنتی-اکسیدانی گیاهان ممکن است به‌دلیل حضور پلی فنول‌های آنتی‌اکسیدان در آن‌ها باشد (Ghorbanpour, 2015; Chung *et al*., 2016). مشابه نتایج حاصل از این تحقیق، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراسید دیسموتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز) و کاهش تجمع ROS در گیاهان تیمار شده به‌وسیله نانو تیتانیوم دی اکسید در مطالعات انجام شده توسط Servin و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه خیار (*Cucumis sativus*) و Ebrahimi و همکاران (۲۰۱٦) در گیاه لوبیا سبز (*Phaseolus vulgaris*) گزارش شده است.

**فهرست منابع**

Aebi, H. (1984) In: Colowick. S.P., Kaplan. N.O. (Eds.), Catalase *In Vitro*. Methods in Enzymology. Florida: Academy. pp. 114–121.

Ashraf, M. and Iram, A. (2005) Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. Flora. 200: 446-535.

Chen, G.X. and Asada, K. (1989) Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. Plant and Cell Physiology. 30(7): 987-998.

Chung, I. M., Thiruvengadam, M., Rekha, K. and Rajakumar, G. (2016) Elicitation enhanced the production of phenolic compounds and biological activities in hairy root cultures of bitter melon (*Momordica charantia* L.). Brazilian Archives of Biology and Technology. 59: 1-10.

Daneshmand, F. (2014) Response of antioxidant system of tomato to water deficit stress and its interaction with ascorbic acid. Iranian Journal of Plant Biology. 6(19): 57-72.

Ebrahimi, A., Galavi, M., Ramroudi, M. and Moaveni, P. (2016) Effect of $TiO_2$ nanoparticles on antioxidant enzymes activity and biochemical biomarkers in Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Molecular Biology Research. 6(1): 58-66.

Fakruddin, M., Hossain, Z. and Afroz, H. (2012) Prospects and applications of nanobiotechnology: a medical perspective. Journal of Nanobiotechnology. 10(1): 31-39.

Ghorbanpour, M., Hatami, M. and Hatami, M. (2015) Activating antioxidant enzymes, hyoscyamine and scopolamine biosynthesis of *Hyoscyamus niger* L. plants with nano-sized titanium dioxide and bulk application. Acta agriculturae Slovenica. 105 (1): 23-32.

Guillon, S., Trémouillaux-Guiller, J., Pati, P. K., Rideau, M. and Gantet, P. (2006) Hairy root research: recent scenario and exciting prospects. Current Opinion in Plant Biology. 9(3): 341-346.

Hasanlu, T., Rezazadeh, S. and Rahnama, H. (2008) Hairy roots sources for the production of valuable pharmaceutical compounds. Journal of Medicinal Plants. 29: 34-42.

Hu, Z. B. and Du, M. (2006) Hairy root and its application in plant genetic engineering. Journal of Integrative Plant Biology 48: 121-127.

Mandeh, M., Omidi, M. and Rahaie, M. (2012) *in vitro* influences of $TiO_2$ nanoparticles on barley (*Hordeum vulgare* L.) tissue culture. Biological Trace Element Research. 150(1-3): 376-380.

Mattiello, A., Filippi, A., Pošćić, F., Musetti, R., Salvatici, M. C., Giordano, C., Vischi, M., Bertolini, A. and Marchiol, L. (2015) Evidence of phytotoxicity and genotoxicity in *Hordeum vulgare* L. exposed to $CeO_2$ and $TiO_2$ nanoparticles. Frontiers in Plant Science. 6: 1-13.

Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y. and Kumar, D. S. (2010) Nanoparticulate material delivery to plants. Plant Science. 179(3): 154-163.

Palmqvist, N. G. M., Bejai, S., Meijer, J., Seisenbaeva, G. A. and Kessler, V. G. (2015) Nano titania aided clustering and adhesion of beneficial bacteria to plant roots to enhance crop growth and stress management. Scientific Reports. 5: 1-12.

Schiavo, S., Oliviero, M., Miglietta, M., Rametta, G. and Manzo, S. (2016) Genotoxic and cytotoxic effects of ZnO nanoparticles for *Dunaliella tertiolecta* and comparison with $SiO_2$ and $TiO_2$ effects at population growth inhibition levels. Science of the Total Environment. 550: 619-627.

Servin, A. D., Morales, M. I., Castillo-Michel, H., Hernandez-Viezcas, J. A., Munoz, B., Zhao, L. and Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Synchrotron verification of $TiO_2$ accumulation in cucumber fruit: a possible pathway of $TiO_2$ nanoparticle transfer from soil into the food chain. Environmental Science and Technology. 47(20): 11592-11598.

Soares, A. M. D. S., Souza, T. F. D., Jacinto, T. and Machado, O. L. T. (2010) Effect of methyl jasmonate on antioxidative enzyme activities and on the contents of ROS and $H_2O_2$ in *Ricinus communis* leaves. Brazilian Journal of Plant Physiology. 22(3): 151-158.

Srivastava, S. and Srivastava, A. K. (2007) Hairy root culture for mass-production of high-value secondary metabolites. Critical Reviews in Biotechnology. 27(1): 29-43.

Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smith, B.N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology. 121(5): 453-461.

Yang, H. G., Sun, C. H., Qiao, S. Z., Zou, J., Liu, G., Smith, S. C., Cheng, H. M. and Lu, G. Q. (2008) Anatase $TiO_2$ single crystals with a large percentage of reactive facets. Nature. 453(7195): 638-641.

## Evaluation of the activity of antioxidant enzymes activity in Saponaria officinalis hairy roots treated with titanium dioxide nanoparticles

***Ahad Hedayati*[1, 2*], *Hosein Honari*[2], *Elnaz norouzi*[3], *Seyavash Hemmaty*[1]**

[1] *Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia,, Iran*

[2] *Center for Science and Technology of Biology, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein Comprehensive University, Tehran, Iran*

[3] *Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran*

**Abstract**

*Saponaria officinalis* is a perennial plant belongs to caryophyllaceae family that is used in traditional medicine in various diseases like blood purifier, diuretic, diaphoretic, cholagogue, scrofula and skin diseases. The hairy root system is an appropriate substitute to enhancing the produce of valuable medicinal metabolites in comparison with other *in vitro* culture methods. In this study, the effects of various concentrations of titanium dioxide nanoparticles ($TiO_2$ NPs: 0, 10, 20, 30, 50 mg/ l) in two elicitation time exposure (24 and 48 h) on growth and antioxidant enzymes activity were investigated. According to the results, the highest activity of catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase were obtained at concentrations of 50, 30 and 10 mg / l and 24, 48 and 48 hours of treatment duration, respectively. According to the results, the use of nanoparticles as a stimulant can be effective in improving the activity of antioxidant enzymes.

**Keywords**: Antioxidant enzymes, Elicitor, Hairy root, Nanoparticles.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹- دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# بررسی تأثیر کاربرد همزمان فنیل‌آلانین و محرک قارچی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کشت ریشه‌های موئین زرین گیاه

*: سودابه محافظی، بهمن حسینی*، الناز نوروزی پاکزاد*
*ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی*
پست الکترونیک: b.hosseini@urmia.ac.ir

چکیده
زرین گیاه یا بادرنجبویه دنایی از تیره نعناع دارای ترکیبات باارزش دارویی و جزو گیاهان در معرض خطر انقراض ایران می‌باشد. در مطالعه حاضر، ریشه‌های موئین جهت بررسی تأثیر کاربرد همزمان غلظت‌های مختلف پیش‌ساز فنیل آلانین (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) و عصاره قارچ *Aspergillus niger* (۰، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) به عنوان محرک، بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کل در کشت ریشه‌های موئین استفاده گردید. آنالیز تجزیه واریانس تأثیر کاربرد همزمان غلظت‌های مختلف پیش‌ساز فنیل آلانین و عصاره قارچی *A.niger* بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز ریشه‌های موئین زرین گیاه نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. طبق نتایج بدست آمده پیش‌ساز فنیل آلانین باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز گردید همچنین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر عصاره قارچ *A. niger* افزایش یافت.

**کلمات کلیدی**: زرین گیاه، آسپیرژیلوس نیجر، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، فنیل آلانین.

**مقدمه**

زرین گیاه (*Dracocephalum Kotschyi* Boiss.) گیاهی چند ساله، نیمه چوبی به ارتفاع ۱۰ الی ۲۰ سانتی‌متر بوده که پراکنش عمده آن در غرب کشور و استان‌های گلستان، مازندران، سمنان و دامغان گزارش گردیده است (Fattahi *et al.*, 2013). از جمله خواص بیولوژیکی و دارویی این گیاه می‌توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچ، ضد التهاب (Mashak *et al.*, 2017) و ضد آلرژی اشاره کرد (Sandhar *et al.*, 2011). ترکیبات فعال زیستی موجود در این گیاه اسانس و مواد فنولی از قبیل فلاونوئیدها و رزمارینک اسید می‌باشد (Fattahi *et al.*, 2013). ریشه‌های موئین به دلیل نگهداری آسان و قابلیت رشد بالا در محیط بدون هورمون برای تولید متابولیت‌های ثانویه یک منبع دائمی می‌باشد (Ziv, 2010). انباشت متابولیت‌های ثانویه، پاسخ متداول گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی است، هر ترکیب حد واسطی که در یک مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه حضور داشته باشد می‌تواند جهت افزایش عملکرد متابولیتی به کار رود (Faten *et al.*, 2010). محرک‌های تنش‌زا سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و تنش اکسیداتیو می‌شود که گیاه برای مقاومت و کاهش اثرات تنش، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی خود را فعال می‌نماید و این امر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و همچنین تجمع فنیل پروپانوئیدها می‌گردد (Parida and Das, 2005). Bemani و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که افزودن فنیل آلانین به محیط کشت سلولی فندق (*Corylus avellana* L.)، باعث افزایش تاکسول و فعالیت آنتی

اکسیدانی سلول‌ها می‌شود. تحقیق حاضر **اثر** تغذیه با پیش‌ساز فنیل آلانین همزمان با عصاره قارچ آسپرژیلوس نیجر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ریشه‌های موئین زرین گیاه بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها**

بذر زرین گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری گردید. به منظور رفع خواب بذور ابتدا در اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۱۰ دقیقه غوطه ور گردیدند، سپس جهت ضدعفونی از الکل اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. و در نهایت بذور بعد از سه مرتبه شستشو توسط آب مقطر استریل جهت جوانه‌زنی و تهیه ریز نمونه در محیط کشت MS. کشت گردیدند. ریز نمونه برگ ٤ هفته‌ای پس از ایجاد زخم با اسکالپل با سویه ATCC15834 آگروباکتریوم رایزوژنز به مدت ۱ دقیقه به روش غوطه‌وری تلقیح داده شد و سپس به محیط کشت MS انتقال داده شدند و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و به مدت ٤٨ ساعت در شرایط تاریکی جهت القأ ریشه موئین نگهداری شدند. بعد از گذشت ٤٨ ساعت، به منظور حذف باکتری ریزنمونه‌ها ۳ بار توسط آب مقطر استریل شستشو شده و پس از حذف رطوبت اضافی توسط کاغذ صافی استریل به محیط کشت MS ۱/۲ حاوی آنتی بیوتیک سفوتاکسیم منتقل گردیدند و جهت ظهور ریشه‌های موئین در شرایط تاریکی و در زیر فویل آلومینیومی نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۰ تا ۱۵ روز از تلقیح، ریشه‌ها از محل زخم بر روی ریزنمونه‌ها ظاهر شدند. یک گرم از لاین پر رشد ریشه‌های موئین به ارلن‌های توری‌دار که حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط مایع MS ۱/۲ بودند در زیر هود لامینار منتقل شد. در انتهای فاز لگاریتمی (پس از ۲۱ روز) محیط کشت مایع با محیط کشت حاوی پیش‌ساز فنیل آلانین در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) تعویض شد و پس از گذشت ۲۱ روز عصاره قارچی در هر چهار غلظت (۰، ۰/۵، ۱/۰ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) جهت اعمال محرک به محیط کشت اضافه گردید.

تهیه عصاره قارچی: میسیلیوم‌های رشد کرده قارچ آسپرژیلوس نیجر، از گروه بیماری شناسی گیاهی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. جهت تهیه عصاره قارچی از روش Esmaeilzadeh و همکاران (2011) استفاده شد. بدین صورت که ابتدا قارچ در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت شد و پس از پنج روز از قسمت فعال کلونی یک قطعه به (PDB) منتقل و به مدت هفت روز داخل انکوباتور قرار گرفت. میسیلیوم‌های قارچی رشد کرده با آب مقطر شسته شدند و پس از عبور از کاغذ صافی در ازت مایع کوبیده شدند. پودر حاصل در آب مقطر استریل حل و سپس اتوکلاو شد. عصاره تهیه شده در نهایت برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه عصاره گیاهی جهت سنجش آنزیم‌ها: ۰/۱ گرم از ریشه‌های موئین فریز شده در ازت مایع وزن و توسط ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCL ۰/۵ درصد روی یخ) همگن گردید. عصاره حاصل در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ٤℃ سانتریفیوژ گردید. سپس فاز رویی جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها در فریزر منفی ۲۰ درجه نگهداری شد (Gong *et al.*, 2001).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش Chance and Machly (۱۹۵۵) با اندکی تغییر اندازگیری شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار( pH=7 و ۵۰ میکرولیتر گایاکول خالص ($C_7H_6O_2$)) و ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳ درصد مخلوط گردیده و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ٤٣٦ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در مدت زمان ٦٠ ثانیه قرائت گردید. میزان فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم ماده تر محاسبه گردید. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano and Asada (۱۹۸۷) با اعمال برخی تغییرات اندازه‌گیری شد.

مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=7) به میزان ۲ میلی‌لیتر، ۲۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۵ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شده و بلافاصله ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد و منحنی جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت گردید. محتوای فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم ماده تر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Dornenburg and Knorr (۱۹۹۷) با اندکی تغییر استفاده شد. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی را با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۲۰ میکرولیتر آب اکسیژنه در حمام یخ مخلوط کرده سپس میزان جذب آن را به مدت ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. محتوای فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم ماده تر محاسبه شد.

آنالیز داده‌های آماری: این آزمایش به صورت فاکتوریل (فاکتور اول شامل تغذیه با پیش‌ساز فنیل آلانین در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) و فاکتور دوم شامل غلظت‌های مختلف عصاره قارچ آسپرژیلوس نیجر در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱/۰ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر)) در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گردید.

**نتایج و بحث**

آنالیز تجزیه واریانس تأثیر کاربرد همزمان غلظت‌های مختلف پیش‌ساز فنیل آلانین و عصاره قارچی *A.niger* بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز ریشه‌های موئین زرین گیاه نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد.(جدول ۱)

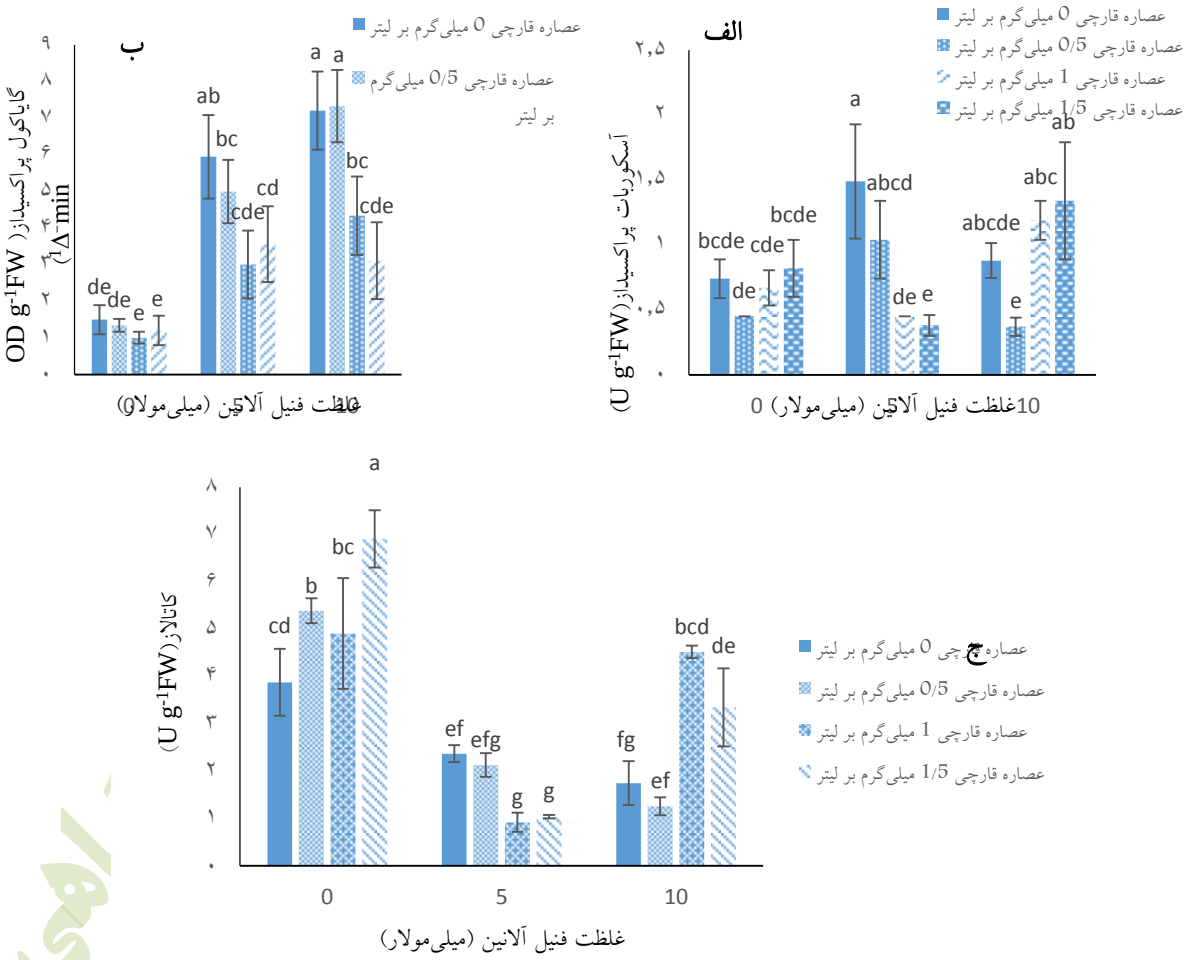
جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر غلظت پیش‌ساز فنیل آلانین و محرک عصاره قارچ *A.niger* بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه‌های موئین زرین گیاه

| | | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | آسکوربات پراکسیداز | گایاکول پراکسیداز | کاتالاز |
| پیش‌ساز فنیل آلانین (a) | ۲ | ۰/۲۳* | ۵۷/۶۵** | ۴۲/۱۷** |
| عصاره قارچ *A.niger* (b) | ۳ | ۰/۲۶* | ۱۲/۴۲** | ۲/۲۲** |
| اثر متقابل (a*b) | ۶ | ۰/۵۹** | ۳/۲۳** | ۵/۴۵** |
| اشتباه آزمایشی | ۲۴ | ۰/۰۶ | ۰/۸۲ | ۰/۲۸ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۳۰/۵۵ | ۲۴/۴۸ | ۱۶/۶۷ |

****، * و ns به ترتیب نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱و ۵ درصد، و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.**

نتایج مقایسات میانگین نشان داد که، بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با ۲ برابر افزایش در مقایسه با تیمار شاهد مربوط به غلظت ۵ میلی‌مولار پیش‌ساز فنیل آلانین بدون حضور عصاره قارچی بود، با افزایش غلظت عصاره در این تیمار، روند فعالیت آنزیم کاهشی بود. در مقابل تیمار ۱۰ میلی‌مولار پیش‌ساز فنیل آلانین با افزایش غلظت عصاره قارچی در محیط کشت، میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت بطوریکه در تیمار۱۰ میلی‌مولار پیش‌ساز و۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر عصاره قارچی بیشترین میزان فعالیت را با ۱/۸۱ برابر افزایش در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد (نمودار ۱-الف). فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر

کاربرد همزمان پیش‌ساز و محرک عصاره قارچی در مقایسه با تیمارهای بدون حضور پیش‌ساز، بشدت افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمار ۱۰ میلی‌مولار پیش‌ساز فنیل آلانین به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر عصاره قارچی (با ٤/۹ برابر افزایش در مقایسه با تیمار شاهد) و ۱۰ میلی‌مولار پیش‌ساز فنیل آلانین بدون حضور عصاره قارچی (با ٤/۸ برابر افزایش در مقایسه با تیمار شاهد) مشاهده شد. در محیط کشت‌های حاوی پیش‌ساز، با افزایش غلظت محرک قارچی میزان فعالیت این آنزیم تقریباً روند کاهشی داشت (نمودار ۱–ب). حداکثر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمارهای بدون حضور پیش‌ساز بود بطوریکه در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر عصاره قارچی بدون حضور پیش‌ساز فنیل آلانین بیشترین میزان فعالیت را نشان داد و حداقل میزان فعالیت در تیمار ۵ میلی‌مولار پیش‌ساز به همراه ۱/۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره قارچی بود که ٤ برابر نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. طبق نتایج عدم حضور پیش‌ساز و افزایش غلظت عصاره قارچی در محیط کشت، باعث افزایش فعالیت




نمودار۱– مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت پیش‌ساز فنیل آلانین و محرک عصاره قارچ *A.niger* بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب) و کاتالاز (ج) در ریشه‌های موئین زرین گیاه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشد.

آنزیم کاتالاز شد (نمودار ۱-ج). عملکرد همزمان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله خصوصیات عادی گیاهان برای مقابله با تنش است که با محدود کردن گونه‌های فعال اکسیژن به کاهش آسیب سلولی کمک می‌کند (Bhaduri and Fulekar, 2012). آنزیم آسکوربات پراکسیداز میل بیشتری به پراکسید هیدروژن دارد و از آسکوربات بعنوان دهنده الکترون برای کاهش پراکسید هیدروژن در اندامک هایی مانند سیتوسول و پراکسی‌زوم استفاده می‌کند (Anjum *et al*., 2016). آنزیم گایاکول پراکسیداز با اکسید کردن ترکیبات فنولی نظیر گایاکول باعث سم زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود. این آنزیم که در دیواره سلولی، واکوئل و سیتوزول فعالیت می‌کند از گلوتاتیون به عنوان کوفاکتور استفاده کرده و با اهدای الکترون به پراکسید هیدروژن، آن را تجزیه و به آب تبدیل می‌کند (Petrov and Breusegem, 2012). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز که طی متابولیسم سلول تولید می‌گردد یک پاسخ برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از $H_2O_2$ می‌باشد (Dinakar *et al*., 2016). میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بسته به مدت، شدت و نوع تنش، همچنین نوع گونه و اندام گیاهی متفاوت است، کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو ممکن است در نتیجه تولید بیش از حد ROSها باشد (Soares *et al*., 2010). در تحقیق انجام گرفته بر روی ریشه‌های موئین گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) کاربرد عصاره قارچ *Piriformospora indica* در غلظت ۱ درصد و مدت زمان تیمار ۹۶ ساعت باعث حداکثر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۰/۰۲۱ میکرومولار بر دقیقه) و در غلظت ۰/۵ درصد و به مدت ۹۶ ساعت باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۰۷۸ میکرومولار بر دقیقه) شد (Rahnama *et al*., 2013). مشخص شده است که تیمار با قارچ اندوفیت *P. indica* باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاه کلم چینی (*Brassica rapa*) شده است (Sun *et al*., 2010). همچنین پیش‌ساز فنیل آلانین در کشت سلولی سیاهدانه (*Nigella sativa*) باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نسبت به شاهد گردید. احتمالاً با گذشت ۱۰ روز زمان از رشد و تیمار با پیش‌ساز، سلول‌ها به مرحله زوال رسیده و در این مرحله کاهش میزان فعالیت آنزیم‌ها صورت گرفته است (علی‌جانی، ۱۳۹۶). نتایج تحقیقات ذکر شده با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

**منابع**

علی جانی، س. (۱۳۹۶). اثر اسید آمینه فنیل آلانین بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سلولی سیاهدانه (*Nigella sativa*). پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، ۶۵ ص.

Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K. and Sofo, A. (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative $H_2O_2$-detoxifying heme enzymes in plants. Environmental science and pollution research, 23(19): 19002-19029.

Bemani, E., Ghanati, F., Rezaei, A. and Jamshidi, M. (2013). Effect of phenylalanine on Taxol production and antioxidant activity of extracts of suspension-cultured hazel (*Corylus avellana* L.) cells. Journal of natural medicines, 67(3): 446-451.

Bhaduri, A. M. and Fulekar, M. H. (2012). Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 11(1): 55-69.

Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F. and Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. Genetics and molecular biology, 35(4): 1011-1019.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, (2): 764-775.

Dinakar, C., Vishwakarma, A., Raghavendra, A. S. and Padmasree, K. (2016). Alternative oxidase pathway optimizes photosynthesis during osmotic and temperature stress by regulating cellular ROS, malate valve and antioxidative systems. Frontiers in Plant Science, 7: 68-78.

Dornenburg, H. and Knorr, D. (1997). Evaluation of elicitor- and high-pressureinduced enzymatic browning utilizing potato (S*olanum tuberosum*) suspention culture as a model system for plant tissues. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45:4173-4177.

Esmaeilzadeh, S., Sharifi, M., Safaei, N., Murata, J., Yamagaki, T. and Satake, H. (2011). Increased lignan biosynthesis in the suspension cultures of *Linum album* by fungal extracts. Plant Biotechnology Report, 5: 367-73.

Fattahi, M., Nazeri, V., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R.M., Zamani, Z. and Palazon, J. (2013). Identification and Quantification of Leaf Surface Flavonoids in Wildgrowing populations of *Dracocephalum kotschyi* by LC-DAD-ESI-MS. Food Chemistry, 141(1): 139-146.

Gong, Y., Toivonen, P. M., Lau, O. L. and Wiersma, A. P. (2001). Antioxidant system level in "Braeburn" apple is related in its browning disorder. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 42: 259-264.

Mashak, B., Hoseinzadeh, M., Ehsanpour, A., Ghanbaran, A. R. and Vakili, M. (2017). Evaluation of treatment response and side effects of spinal-Z in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma: a double-blind randomized controlled trial. Jundishapur Journal of Chronic Disease Care, 6(3): 857-870.

Nakano, Y. and Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by mono de hydro ascorbate radical. Plant and Cell Physiology, 28(1): 131-140.

Petrov, V. D. and Breusegem, F. V. (2012). Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. Cell Biology, 14: 1093-1206.

Rahnama, H., Razi, Z., Dadgar, M. N. and Hasanloo, T. (2013). Enhanced production of flavonolignans in hairy root cultures of *Silybum marianum* by over-expression of chalcone synthase gene. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 22(1): 138-143.

Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M. and Sharma, P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. Internationale Pharmaceutica Sciencia, 1(1): 25-41.

Soares, A. M. D. S., Souza, T. F. D., Jacinto, T. and Machado, O. L. T. (2010). Effect of methyl jasmonate on antioxidative enzyme activities and on the contents of ROS and $H_2O_2$ in Ricinus communis leaves. Brazilian Journal of Plant Physiology, 22(3): 151-158.

Sun, C., Johnson, J. M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmuller, R. and Lou, B. (2010). Piriformospora indica confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. Journal of Plant Physiology, 167: 1009-1017.

Ziv, M. (2010). Bioreactor technology for plant micropropagation. Horticultural Reviews, 24: 1-30.

## The effect simultaneous treatment of L-phenylalanine and fungal elicitor on antioxidant enzymes activity in *Deracocephalum kotschyi* Boiss. Hairy Roots

***Soodabeh Mohafezy,Bahman Hosseini*, Elnaz Nourozi***

*Horticulture Department, Urmia University, Urmia, Iran*
E-mail:b.hosseini@urmia.ac.ir

**Abstract**

*Deracocephalum kotschyi* (Lamiaceae) is one of the endangered plants in Iran and it has valuable medicinal compounds. In this study, The effect of combined application of different concentrations of phenylalanine (0, 5 and 10 mM) as precursor and *Aspergillus niger* extract (0, 0.5, 1 And 1.5 mg / L) as an elicitor on the antioxidant enzymes activity in hairy root cultures were assessed. Analysis of variance of the effect of simultaneous application of different concentrations of phenylalanine precursor and *A. niger* fungal extract on the activity of Ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase and catalase of hairy roots of the *D. kotschyi* showed that there was a significant difference between treatments (p0.01). According to the results, phenylalanine precursor increased the guaiacol peroxidase enzyme and guaiacol peroxidase enzyme activity. Also, the *A. niger* extract increased the catalase enzyme activity.

**Key words:** Antioxidant Enzymes, *Aspergillus niger*, *Dracocephalum kotschyi* Boiss., Phenylalanine.

# اثرقارچ میکوریزآربوسکولاربر برخی پاسخ های آنتی اکسیداتیو گیاه سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis* L.) تحت تنش کم‌آبی

**سمیه نقدی[۱،*]،زهره طغرانگار[۲]، الهه وطن خواه[۲]، مهناز وفادار[۲]، ستاره امانی فر[۳]**

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

[۲]استادیار گروه زیست شناسی دانشکده علوم ، دانشگاه زنجان

[۳]استادیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

*so.naghdi@gmail.com

**چکیده:**

برقراری رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM)، مقاومت گیاه میزبان در مواجهه با تنش خشکی را افزایش می‌دهند. به منظور بررسی اثر کلونیزاسیون قارچ *mosseaeFunneliformis*و تنش کم‌آبی بر محتوی برخی آنتی‌اکسیدان‌های گیاه سنبل‌الطیب،آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهارتکرار به مدت دوماهانجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو سطح قارچ (بدون تلقیح و تلقیح با قارچ .*mosseaeF*) و سه سطح از آب قابل‌استفاده (AW): ۱۰۰AW٪، ۷۰AW٪و۴۰AW٪بود. نتایج نشان داد تنش خشکی به‌طور معنی‌داری سبب کاهش میزان‌های کاروتنوئید، فنل، فلاوونوئید و پرولین اندام هوایی و پرولین ریشه و افزایش فنل و فلاوونوئید ریشه گردید. در این تحقیق، کلونیزاسیون قارچی منجر به افزایش محتوی کاروتنوئید، فنل، فلاوونوئید و پرولین اندام هوایی و کاهش معنی‌دار فنل، فلاوونوئید و پرولین ریشه گردید. نتایج ما نشان می‌دهد قارچ .*mosseaeF*می‌تواند به‌عنوان یک تغییردهنده ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی در گیاه سنبل‌الطیب مورداستفاده قرار گیرد.

**کلمات کلیدی**:فونلی‌فرمیس موسه‌آ، تنش خشکی، سنبل الطیب، پرولین، فنل، فلاوونوئید، کاروتنوئید

**مقدمه**

کم آبیکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی و عامل محدود کننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان از جمله کشور ایران است. در حال حاضر بارش‌های جوی در بسیاری از مناطق کشور نیاز آبی گیاهان را تأمین نمی‌کنند و آن‌ها در معرض تنش کم آبی قرار می‌گیرند(Calvo-Polanco et al., 2016). تنش کم آبی بر اساس شدت و طول مدت اثر آن و نیز با توجه به گونه و مراحل مختلف رشد گیاه، اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو، عملکرد و سایر فعالیت‌های متابولیکی گیاه دارد. گیاهان تحت تنش برای مقابله با شریط نامساعد دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی خاصی هستند.در برخی از مطالعات انجام شده گزارش شده است که پرولین در تنظیم اسمزی، خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل،افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، حفظ نیتروژن و انرژی برای مرحله پس از تنش، تنظیم پروتئین‌های محافظت‌کننده در برابر تنش نقش مهمی دارد و منجر به رشد بهتر گیاه در این شرایط می‌شود (Javan Gholiloo et al., 2019).کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه‌های کمکی غیرآنزیمی، گیاهان را در برابر اکسیداسیون نوری محافظت می‌کنندو باروبشگری رادیکال‌های آزاد اکسیژن و رادیکال‌های پراکسید لیپید، مانع پراکسیداسیون لیپیدها و تولید سوپر اکسید تحت تنش خشکی می‌شوند(Farooq et al., 2009).همچنین گیاهان تحت تنش با سنتز متابولیت‌های

ثانویه از جمله فنل‌ها و فلاوونوئیدها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو مقابله می‌کنند (Sarker and Oba., 2018). علاوه بر این،یکی از راهکارهای زیستی برای مقابله با تنش کم آبی برقراری رابطه همزیستی با میکروارگانیسم‌های خاکزی نظیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولارمی‌باشد. قارچ‌هایAM از نوع اندومیکوریز و متعلق به شاخه گلومرومایکوتا هستند و می‌توانند با ریشه اغلب گونه‌های گیاهی موجود در دنیا رابطه همزیستی برقرار کنند.تحقیقات انجام شده نشان داده است که قارچ‌هایAM می‌توانند از طریق سازوکارهای بیوشیمیایی از جمله تنظیم اسمزی و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به گیاه میزبان در افزایش تحمل به خشکی کمک نمایند(Boutasknit et al., 2020).سنبل‌الطیب (علف گربه) با نام علمی *Valeriana officinalis* L. یکی از گیاهان دارویی قدیمی متعلق به خانواده Caprifoliaceae است. این گیاه به‌دلیل داشتن ترکیبات آرام‌بخش دارای مصارف دارویی از جمله درمان بی‌خوابی و اضطراب است و علاوه بر آن، برای مصارف غذایی و بهداشتی نیز کاربرد دارد (Hattesohl et al., 2008). با توجه به اهمیت گیاه دارویی سنبل‌الطیب در طب سنتی، در تحقیق حاضر سعی شده است اثر خشکی بر سیستم‌های آنتی اکسیدانی این گیاه بررسی شود و هم چنین فرضیه کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه سنبل‌الطیب در حضور قارچ *Funneliformis mosseae* بررسی گردد.

**مواد وروش‌ها:**

این تحقیق جهت بررسی سطوح مختلف خشکی روی گیاه سنبل الطیب به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست شناسی دانشگاه زنجان انجام شد. بذرهای گیاه سنبل‌الطیب( *Valeriana officinalis* L.)تهیه شده ازشرکت پاکان بذراصفهان،بعد از ضدعفونی سطحی در شرایط کنترل شده کشت شدند.جهت کاشت نیمی از بذرها در خاک حاوی مایه تلقیح خاکی قارچ *Funneliformis mosseae* (تهیه شده از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه شیراز) و نیمی دیگر از بذرها در خاک حاوی همان میزان مایه تلقیح خاکی اتوکلاو شده در گلدان‌ها کاشته شدند. همچنین، برای ایجادیک جامعه میکروبی یکنواخت، همه گلدان‌ها ۱۰ میلی‌لیتر عصاره فیلتر شده بدون قارچ AM از مایه تلقیح دریافت کردند. سپس در اتاق رشد تحت شرایط نوری ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی و دمای ٢ ± ٢٥ درجهسانتی‌گراد قرار گرفتند وبه‌مدت شش ماه با آب مقطر آبیاری شدند.سپس گیاهان تحت تیمارخشکیشامل سه سطح (١٠٠٪ آب قابل استفاده (١٠٠AW٪)، ٧٠٪آب قابل استفاده (٧٠AW٪) و ٤٠٪ آب قابل استفاده(٤٠AW٪)) قرار گرفتند.دو ماه پس از اعمال تنش، بوته‌هابرداشت شدند وبرخیاز ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی از جمله میزان غلظت پرولین، فنل، فلاوونوئید و رنگیزه کاروتنوئید اندازه گیری شدند.**سنجش مقدار پرولین:** برای استخراج پرولین از محلول اسید سولفوسالیسیلیک ٣ درصد استفاده شد. اندازه گیری مقدار پرولین با استفاده از معرف نین‌هیدرین و بر اساس روش Bates و همکاران (١٩٧٣) انجام گرفت. مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین محاسبه شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک محاسبه و گزارش شد. **سنجش مقدار فنل و فلاوونوئید:**برای استخراج محتوای فنلی کل و فلاونوئیدهااز متانول خالص استفاده شد. ترکیبات فنلی با استفاده از معرففولین- سیو کالتو اندازه گیری شد و برای محاسبه مقدارفنل از منحنی استاندارد اسید گالیک (Pourmorad et al., 2006)استفاده شد. برایتعیینفلاونوئیدازروشکلریدآلومینیوماستفادهشد (Chang et al., 2002) و برای محاسبه مقدار فلاوونوئید از منحنی استاندارد کوئرستین استفاده شدومحتوایفلاونوئیدبه‌صورت معادل میلی‌گرم کوئرستینبر میلی‌گرم در گرم وزن خشک نمونه گزارششد.**سنجش رنگیزه کاروتنوئید:**محتوی کاروتنوئیدهادر برگ‌ها با استفاده از روشLichtenthalerو(2001)Buschmannتعیین

جدول ۱. مقایسه میانگین‌های اثر سطوح مختلف خشکی و تلقیح با قارچ *F. mosseae* بر ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاه سنبل الطیب

| قارچ | سطوح خشکی | پرولین ریشه µmol/g ) (DW | پرولین اندام هوایی µmol/g ) (DW | فنل ریشه (mg/g DW) | فنل اندام هوایی (mg/g DW | فلاوونوئید ریشه (mg/g DW) | فلاوونوئید اندام هوایی (mg/g DW) | کاروتنوئید (mg/g FW) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NM | S۰ | ٦/٧٣٤$^{a}$ | ٢/٢٩٣$^{b}$ | ٣/١٢٨$^{bc}$ | ٦/٥٧٢$^{a}$ | ١/٦٣٧$^{d}$ | ٤/٤٤٨$^{c}$ | ٠/٤٣٦$^{b}$ |
| | S٧٠ | ٣/١١٦$^{c}$ | ١/٩٣٧$^{c}$ | ٣/٤٠٨$^{a}$ | ٦/٢٦٦$^{ab}$ | ١/٩٥٧$^{a}$ | ٣/٧٢٣$^{e}$ | ٠/٤٤٠$^{b}$ |
| | S٤٠ | ٣/٥١٠$^{bc}$ | ٢/٢٢٩$^{b}$ | ٣/٢٧٢$^{ab}$ | ٤/٨٢١$^{d}$ | ١/٧٤٣$^{c}$ | ٤/٢٧٨$^{d}$ | ٠/٣٧١$^{c}$ |
| AM | S۰ | ٤/٠٥٦$^{b}$ | ١/٩٨٦$^{c}$ | ٣/٠٩٢$^{bc}$ | ٥/٩٦٤$^{b}$ | ١/٨٩٥$^{ab}$ | ٤/٦٥٣$^{b}$ | ٠/٤٩١$^{ab}$ |
| | S٧٠ | ٠/٨٤٧$^{d}$ | ٢/٧٦٧$^{a}$ | ٣/١٣٩$^{bc}$ | ٦/٥١٥$^{a}$ | ١/٥٩٣$^{d}$ | ٤/٧٧٥$^{a}$ | ٠/٤٨١$^{ab}$ |
| | S٤٠ | ٦/٦٧٦$^{a}$ | ٢/٦٥٨$^{a}$ | ٢/٩٤٤$^{c}$ | ٥/٣٧٥$^{c}$ | ١/٨٠٦$^{bc}$ | ٤/٦١١$^{b}$ | ٠/٥٢٨$^{a}$ |

AM و NM به‌ترتیب عبارتند از تلقیح شده با قارچ و بدون تلقیح با قارچ.میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن، ۰/۰۵ ≥p).

شد. آنالیز آماری: جهت آنالیز آماری داده‌های جمع‌آوری شده،رسم نمودارها با نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ و تجزیه آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ومقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال آماری۵ درصد انجام گردید.

## نتایج و بحث

مطالعات میکروسکپی حاکی از کلونیزاسیون موثر ریشه‌ها با قارچ بود. مقایسه میانگین‌هانشان داد تنش خشکی میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی مورد بررسی در اندام هوایی گیاه سنبل‌الطیب را کاهش داد به‌طوریکه این کاهش میزان در کاروتنوئیدو فنل تنها در سطح خشکی ٤٠AW٪ و فلاوونوئید و پرولین در دو سطح خشکی ٤٠AW٪ و ٧٠AW٪ معنی‌دار بود و تلقیح با قارچ AM موجب افزایش معنی‌دار میزان‌های فلاوونوئید و پرولین در دو سطح خشکی متوسط و شدید و فنل و کاروتنوئید تنها در سطح خشکی شدید گردید (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان مورد بررسی در ریشه گیاه سنبل-الطیب نشان داد تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار میزان فنل و فلاوونوئید و کاهش معنی‌دار محتوای پرولین گردید. برعکس اندام هوایی، تلقیح با قارچ میزان ترکیبات آنتی اکسیدان ریشه گیاه سنبل‌الطیب را در دو سطح خشکی ٤٠AW٪ و ٧٠AW٪ کاهش داد به‌طوری که کاهش معنی‌دار فنل در دو سطح خشکی متوسط و شدید و فلاوونوئید و پرولین تنها در سطح خشکی متوسط مشاهده گردید. البته افزایش معنی‌دار پرولین ریشه درنتیجه تلقیح با میکوریز در سطح خشکی شدید نیز مشاهده گردید (جدول ۱).

نتایج این تحقیق افزایش میزان کاروتنوئید در نتیجه تلقیح با قارچ را نشان داد که افزایش کاروتنوئید از مهار نوری و اکسیداسیون نوری رنگیزه های گیاهی جلوگیری می‌کند (Hameed et al., 2014). همچنین این پژوهش افزایش میزان فنل، فلاوونوئید و پرولین اندام هوایی را نشان داد درحالی که تلقیح قارچی بر میزان این ترکیبات در ریشه اثر معکوسی داشت.اثرات متفاوت قارچ-های میکوریزی بر میزان پرولین گیاهان تحت تنش خشکی گزارش شده است (Wu and Zou, 2017). مطرح شده انباشتگی پرولین در گیاهان تلقیح یافته باعث افزایش تنظیم اسمزی جهت مواجه با تنش خشکی می‌شود و سطوح کمتر پرولین در گیاهان میکوریزی موجب آسیب کمتر ناشی از تنش خشکی می‌شود (Wu and Zou, 2017). افزایش معنی‌دار میزان فنل و فلاوونوئید طی

تنش خشکی در گیاه *Amaranthus tricolor* گزارش شده است (Sarker andOba, 2018) که با نتایج مرتبط با فنل و فلاوونوئید اندام هوایی طی تنش خشکی مطابقت دارد. گزارش شده کاهش انباشتگی فلاوونوئید ریشه در اثر تلقیح قارچی با فروتنظیمی ژن سنتز کننده چالکون ردوکتاز در مقایسه با ریشه بدون تلقیح مرتبط می‌باشد (Janeeshma and Puthur, 2019). البته گاهی اوقات افزایش میزان فلاوونوئید میانجی‌گری شده با قارچ AM در گیاهان در معرض تنش خشکی مشاهده می شوند ( Rappatini and Peñuelas, 2014). همچنین پاسخ ترکیبات یا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ویژه ممکن است وابسته به گونه‌های گیاهی میزبان و قارچی باشد (Rappatini and Peñuelas, 2014). در مجموع، تلقیح با قارچ میکوریزی موجب افزایش میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی در اندام‌هوایی و کاهش این ترکیبات در ریشه گیاه سنبل‌الطیب گردید. به‌نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزی با افزایش مقاومت ریشه به تنش خشکی موجب کاهش ترکیبات آنتی‌اکسیدان گردد.

**فهرست منابع**

Bates، L.S., Waldern، R.P. and Teave، I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil. 39: 205-107.

Boutasknit، A., Baslam، M., Ait-El-Mokhtar، M., Anli، M., Ben-Laouane، R., Douira، A., El Modafar، C., Mitsui، T., Wahbi، S. and Meddich، A. (2020) arbuscular mycorrhizal fungi Mediate drought tolerance and recovery in two contrasting carob (*Ceratonia siliqua* L.) ecotypes by regulating stomatal, water relations, and (In) organic adjustments. Plants. 9(80):1-19.

Calvo-Polanco، M., Sánchez-Castro، I., Cantos، M., Luis García، J., Azcón، R., Ruiz-Lozano، J. M., Beuzón، C. R. and Aroca، R. (2016). Effects of different arbuscular mycorrhizal fungal backgrounds and soils on olive plants growth and water relation properties under well-watered and drought conditions. Plant, Cell and Environment. 39: 2498–2514.

Chang، C., Yang، M., Wen، H.and Chern، J. (2002). Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food Drug Analaysis. 10: 178-182.

Farooq، M., Wahid، A., Kobayashi، N., Fujita، D. and Basra، S.M.A. (2009). Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. Agronomy for Sustainable Development. 29:185-212.

Hameed، A., Wu، Q.S., Abd-Allah، E.F., Hashem، A., Kumar، A., Lone، H.A., Ahmad، P. (2014) Role of AM fungi in alleviating drought stress in plants. In: Miransari M. (ed.) Use of microbes for the alleviation of soil stresses. Volume 2: Alleviation of soil stress by PGPR and mycorrhizal fungi. Springer، New York.

HattesohlV M., Feistel، B., Sievers، H., Lehnfeld، R., Hegger، M. and Winterhoff، H. (2008). Extracts of Valeriana officinalis L. sl show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. Phytomedicine. 15: 2-15.

Janeeshma، E. and Puthur، J.T. (2019) Direct and indirect influence of arbuscular mycorrhizae on enhancing metal tolerance of plants. Archives of Microbiology, 202: 1-16.

Javan Gholiloo، M., Yarni، M., Hassanzadeh Ghorttapeh، A., Farahvash، F. and Daneshian، A M. (2019). Evaluating effects of drought stress and bio-fertilizer on quantitative and qualitative traits of valerian (valeriana officinalis L.). Journal of Plant Nutrition. 42(13): 1417–1429.

Lichtenthaler، K. and Buschmann، C. (2001). Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, F4.3.1-F4.3.8

Pourmorad، F., Hosseinimehr، S. J. and Shahabimaid، N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 5: 1142-1145.

Sarker، U.and Oba، S(2018).Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of Amaranthus leafy vegetable. BMC Plant Biol. 18:1-15.

Rapparini, F. and Peñuelas, J. (2014) Mycorrhizal fungi ti alleviate drought stress on plat growth. In: Miransari, M. (ed.) Use of microbes for the alleviation of soil stresses. Springer، Newyork.

Wu، Q.S. and Zou، Y.N. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and tolerance of drought stress in plants. In: Wu, Q.S. (ed.) Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants. Springer Nature Singapore. 2

## Effect of arbuscular mycorrhizal fungus on some antioxidative responses of Valerian (*Valeriana officinalis* L.) under drought stress

**Somayeh Naghdi [1,*], ZohrehToghranegar[2], Elaheh Vatankhah [2], Mahnaz Vafadar [2], Setareh Amanifar[3]**

[۱]M. Sc. Student, Biology Department, Faculty of Sciences, University of Zanjan, Iran

[۲]Assistant Prof., Biology Department, Faculty of Sciences, University of Zanjan, Iran

[۳]Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

*so.naghdi@gmail.com

**Abstract**

Symbiotic association with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) enhancehost plant tolerance to copewith drought stress.Toevaluate the effect ofinoculation with *Funneliformis mosseae*and drought stress on some antioxidantscontent of Valerian, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications for two months. Experiment carried out with two fungi levels: non-inoculated (NM) and *F. mosseae* inoculated(AM) and three levels of available water(AW):100% AW, 70% AW and 40% AW. The results showedthat drought stress induced a significant reduction in contents of shoot carotenoid, phenolics, flavonoid and proline alsoroot proline while an increase in root phenolis and flavonoid. In this research, fungal inoculation caused a significant increase in contents of shoot carotenoid, phenolics, flavonoid and proline and a decrease in contents of root phenolics, flavonoid and proline. Our results show that *F.mosseae*could be used as a modifier of non-enzymatic antioxidants in valerian.

**Keywords:***Funneliformis mosseae*, drought stress, Valerian, proline,phenolics, flavonoid, Carotenoid

# بررسی میزان پراکسید هیدروژن و محتوای کاروتنوئید کل در دانه رستهای گیاه *Medicago sativa* (رقم قره یونجه) تحت تیمار رنگ نساجی Direct Orange 26

**کبری نقی بیرانوند[۱]، مریم مددکار حق جو*[۱]، حمیدرضا عیسوند[۲]**

۱ گروه زیست شناسی (فیزیولوژی گیاهی)، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان

۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

**نویسنده مسئول: *مریم مددکار حق جو** madadkar.m@lu.ac.ir ;m_madadkar@yahoo.com

**چکیده**

صنعت نساجی یکی از مهمترین آلاینده های محیط زیست به حساب میآید.در این تحقیق، تاثیر غلظتهای مختلف رنگ DO26 بر میزان $H_2O_2$، کاروتنوئید، کلروفیل، وزن خشک و طول ساقه و ریشه و مقدار کربوهیدرات محلول کل در گیاهچه های یونجه (*Medicago sativa*) بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمار با غلظتهای پایین تا متوسط رنگ (۱۰۰-۲۰ میلیگرم برلیتر)، سبب افزایش مقدار کاروتنوئیدها در پاسخ به تغییرات مقدار $H_2O_2$ شده که به دلیل محافظت و دفاع آنتی اکسیدانی، سبب افزایش کلروفیل، طول و وزن خشک ساقه میگردد. وزن خشک و طول ریشه و کربوهیدرات محلول در تیمار با غلظتهای متوسط، کاهش یافتند. مقدار $H_2O_2$ در بیشترین غلظت رنگ (۲۲۰ میلیگرم در لیتر) افزایش یافت که با کاهش مقدار بتاکاروتن، کلروفیل و وزن خشک ساقه همراه بود. به نظر میرسد برخلاف غلظتهای کم تا متوسط، در این شرایط سلول از طریق القای سایر آنتی اکسیدانها (بغیر از کاروتنوئیدها) به تنش اکسیداتیو پاسخ میدهد.

**کلمات کلیدی: پراکسید هیدروژن، رنگ نساجی، کاروتنوئید، یونجه**

**مقدمه**

صنایع رنگ آمیزی و چاپ از مجموعه صنایعی هستند که سبب آلودگی آب و خاک شده و پسابهای رنگی می توانند از طریق آبیاری یا از طریق خاک اثرات سمی بر روی گیاهان بگذارند (Garg and Kaushik 2007). استفاده از چنین پسابهایی در سیستم آبیاری قطعا مقداری مواد مغذی برای افزایش باوری خاک فراهم می نماید اما در مدت زمان طولانی سبب تغییر خاصیت خاک می شوند (Chang *et al*., 1992). رنگهای مورد استفاده در صنعت نساجی (مانند رنگ DO26 که یک رنگ آنیونی می باشد)، عمدتا ماکرومولکولهایی هستند که به آسانی شکسته نمی شوند. در شرایط تنش زا و عدم تعادل متابولیکی سلول، رادیکال های آزاد و مولکولهای فعال اکسیژن (از جمله $H_2O_2$) تشکیل می شوند که قادرند به مواد آلی و فرایندهای حیاتی سلول صدمه وارد آورند. در چنین شرایطی سیستم آنتی اکسیدانی سلول نقش محافظت از سلول را برعهده دارد. سیستم دفاعی غیر آنزیمی در گیاهان، سنتز برخی ترکیبات آنتی اکسیدان مانند کارتنوئید را القا می کند و این ترکیبات آنتی اکسیدان با رادیکالهای آزاد واکنش داده و آنها به شکل پایدار خود تبدیل می کنند (Roleda *et al*., 2010). در واقع افزایش کارتنوئیدها در پاسخ به شرایط تنش زای حاصل از سمیت مواد رنگزا، یک سازوکار دفاعی به شمار می آید که نقش حفاظتی در حذف گونه های فعال اکسیژن ایفا می کند(Saranya *et al*., 2014). با توجه به آنکه تغییرات مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید از شاخصه های مهم تاثیر تنشهای محیطی بر گیاه است، بنابراین میتوان تحمل گونه ها به تنش اکسیداتیو را با ارزیابی میزان رنگیزه ها نیز برآورد نمود (Smirnoff 1993).

مولکول $H_2O_2$ عضوی از رادیکالهای آزاد اکسیژن است که می تواند با اهداف سلولی متفاوت واکنش داده و اثرات تخریبی زیادی بر جای بگذارد. از سوی دیگر برخی اثرات سیگنالی این مولکول در جریان تنش ها نیز شناسایی شده است و بنابراین مقادیر $H_2O_2$ در سلول گیاهی به شدت کنترل می شود (Bienert *et al.*, 2006). در این تحقیق تاثیر غلظت های مختلف رنگ DO26 بر روی مقادیر پراکسیدهیدروژن، کاروتنوئید، کلروفیل، هیدرات کربن محلول کل و بیوماس و طول اندامها در گیاهچه های یونجه بررسی گردید.

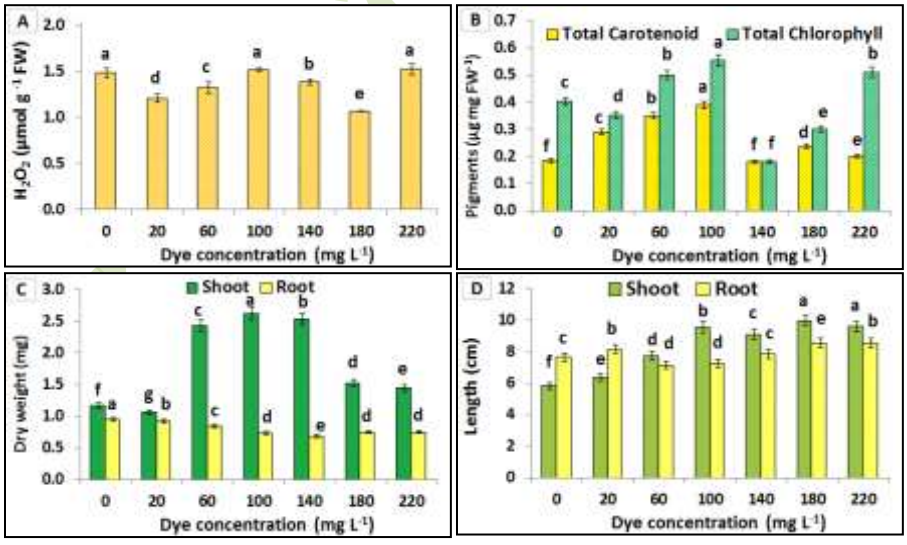
**مواد و روشها**

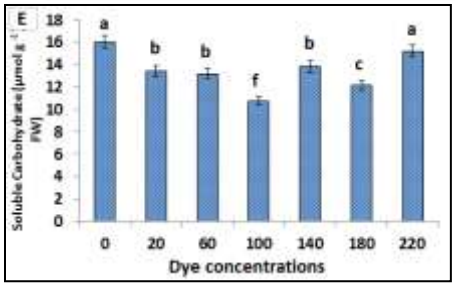
بذور یونجه، رقم قره یونجه از شرکت پاکان بذر اصفهان و رنگ نساجی DO26 از شرکت سیگما تهیه شدند. برای طراحی تیمارها ابتدا غلظت های مختلف رنگ DO26 تهیه شدند. پس از ضد عفونی بذور و اعمال تیمارهای رنگ به بذور داخل هر پتری دیش (حاوی ۳۰ عدد بذر بعنوان یک تکرار)، آنها در شرایط کنترل شده ۱۶ ساعت روشنایی/۸ ساعت تاریکی و دمای ۲± ۲۵ درجه سانتیگراد قرارگرفتند. سنجش شاخص های فیزیولوژیک و مورفولوژیک در روز ۱۴ رشد صورت گرفت. سنجش کلروفیل کل و کارتنوئید کل با استفاده از بیوماس تر و اتانول ۹۵٪ و به روش Lichtenthaler (1987) انجام شد. عصاره گیری از بیوماس تر گیاهچه و سپس سنجش $H_2O_2$ با استفاده از روش Junglee و همکاران (2014) و با استفاده از TCA یک دهم درصد صورت گرفت. سنجش کربوهیدارت محلول کل، با استفاده از بیوماس خشک و روش آنترون انجام گرفت (Irigoyen *et al.*, 1992).

**نتایج و بحث**

بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار $H_2O_2$ در گیاهچه های ۱۴ روزه گیاه یونجه (شکل ۱) نشان می دهد که بسته به غلظت رنگ DG26، میزان $H_2O_2$ تولید شده در بیوماس تر گیاهچه می تواند متفاوت باشد. بر اساس نتایج بدست آمده، بر اثر تیمار با رنگ نساجی در غلظت های پایین (۲۰ و ۶۰ میلی گرم در لیتر) محتوای $H_2O_2$ گیاهچه نسبت به شاهد بترتیب ابتدا کاهش و سپس افزایش نشان می دهد. در این شرایط میزان کاروتنوئیدهای سلول با روند افزایشی از غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر، زیاد می شوند تا به بالاترین مقدار خود در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر برسند و پس از این غلظت کاهش می یابند. بررسی محتوای کلروفیلی سلولها نیز تغییرات تقریبا مشابهی را نشان می دهد. بدین معنی که میزان کلروفیل کل، متعاقب تاثیر رنگ از غلظت های پایین ۲۰ تا غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کمابیش افزایش می یابد. بر اساس گزارشها، کاروتنوئیدها بعنوان آنتی اکسیدان های مهم در شرایط تنش اکسیداتیو در خنثی سازی رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS)، خاموش سازی غیرفتوشیمیایی انرژی، آزاد سازی انرژی بصورت گرما و نیز تولید مولکولهای بیواکتیو که در انتقال پیامها و سیگنالهای تنش به منظور سازش با آن نقش دارند. نقش محافظت کننده این ترکیبات درجلوگیری از اکسیداسیون کلروفیل و محافظت آن در برابر تنش اکسیداتیو نیز بخوبی شناسایی شده است (Havaux., 2013). بررسی مقدار رشد طولی ساقه چه در غلظت های کم تا متوسط (زیر ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر)، افزایش رشد طولی ساقه چه و بدون تغییر ماندن یا مقداری کاهش در رشد طولی ریشه چه را نشان می دهد، درحالیکه بررسی میزان وزن خشک ساقه چه افزایش آنرا نسبت به شاهد نشان داده و بالعکس وزن خشک ریشه چه، کاهش نشان می دهد. افزایش میزان رشد طولی و وزن خشک ساقه می تواند حداقل بخشی به دلیل افزایش مقدار کاروتنوئیدها و افزایش آثار آنتی اکسیدانی آنها در مقابله با تنش القا شده تحت تاثیر رنگ اتفاق افتاده باشد. در عین حال کاهش رشد طولی و وزن خشک ریشه در این شرایط و با افزایش

غلظت رنگ می تواند به دلیل نامساعد شدن شرایط رشد ریشه که در تماس نزدیک با ترکیب شیمیایی تیمار رنگ و تاثیرات منفی احتمالی آنست، اتفاق افتاده باشد. اندازه گیری میزان pH محیط رشد ریشه، کاهش میزان pH را با افزایش غلظت ها تا غلظت متوسط (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) و سپس افزایش آنرا نشان می دهد. این مسئله می تواند ناشی از برهم کنش ترکیب شیمیایی رنگ در غلظت های مختلف و ترشحات ریشه ایی گیاهچه ها باشد که احتمالا می تواند در پاسخ منفی ریشه به محیط اطراف و بنابراین کاهش رشد آن موثر باشد (داده ها نشان داده نشده اند). بر اساس منابع، ترشح مواد و ترکیبات مختلف نظیر مواد آلی، آنیون ها، قندها، یونهای غیرآلی و گازها نظیر دی اکسید کربن حاصل از تنفس می توانند در تغییر pH محیط اطراف ریشه و نتیجتا میزان رشد آن موثر باشند (Dakora and Phillips., 2002). کاهش میزان کربوهیدرات محلول کل گیاهچه نیز در غلظت های متوسط، یعنی غلظت هایی که میزان کاروتنوئید کل (بعنوان یک منبع کربنی) افزایش داشته و نیز رشد طولی و وزن خشک ساقه چه به حداکثر خود رسیده است، مشاهده می شود. کاروتنوئیدها می توانند بعنوان مخزن کربن برای سلول عمل نمایند، بنابراین کاهش مقدار قندهای محلول و مسیردهی آنها در جهت افزایش مقدار کاروتنوئید و نیز رشد طولی ساقه و بیوماس دور از انتظار نیست. با کاهش مقدار کاروتنوئیدها در غلظت های بیش از متوسط و نیز کاهش بیوماس خشک ساقه، مقدار کربوهیدراتهای محلول سلول ها نیز افزایش نشان میدهد. بیشترین غلظت رنگ (۲۲۰ میلیگرم در لیتر)، افزایش مقدار $H_2O_2$ را به همراه افزایش مقدار کلروفیل کل نشان میدهد، درحالیکه در این شرایط مقدار کاروتنوئیدها نسبت به غلظت های کمتر رنگ، پایینتر است. به نظر میرسد، در غلظتهای بالای رنگ، فعالیت برخی عوامل آنتی اکسیدانی دیگر در سلول، می توانند بصورت عمده تری پاسخگوی شرایط تنش زای محیط باشند. نتایج مطالعات Ganesan and Chellappan (2018) افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان در شرایط آلودگی به پساب نساجی را نشان می دهد. در غلظت های زیر ۲۲۰ میلیگرم در لیتر، کاهش مقدار کلروفیل می تواند به دلیل افزایش کلروفیلاز یا کاهش سیتوکینین که مسئول ساخت کلروفیل هستند، صورت گیرد. این موارد در پاسخ گیاهان به پسابهای صنعتی مشاهده شده است(Zhao and Hardin., 2007). به نظر میرسد که فاضلابهای نساجی با تداخل در جذب مواد مغذی می توانند بر روند رشد و عملکرد فیزیولوژیک گیاه اثر منفی بگذارند ولی در غلظتهای پایین تاثیرات سمی آنها تاحدودی کاهش می یابد(Najam *et al.*, 2017).






شکل ۱- تغییرات میزان $H_2O_2$ (A)، رنگدانه های کاروتنوئید کل و کلروفیل کل (B)، وزن خشک ساقه چه و وزن خشک ریشه چه (C)، طول ساقه چه و طول ریشه چه (D) و کربوهیدرات محلول کل (E) در گیاهچه های ۱۴ روزه یونجه (رقم قره یونجه). مقادیر میانگین سه تکرار ± SD هستند. حروف متفاوت، بیان کننده‌ی تفاوت معنی دار در سطح $P \leq ۰/۰۵$ بر اساس آزمون دانکن در هر شاخص هستند.

## References

Bienert, G.P. Schjoerring, J.K. and Jahn, T.P. (2006) Membrane transport of hydrogen peroxide. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes 1758(8): 994-1003.

Chang, A.C. Granato, T.C. and Page, A.L. (1992) A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel, and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludge. Journal of Environmental Quality 21(4): 521-536.

Dakora, F.D. and Phillips, D.A. (2002) Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. Plant and Soil 245(1): 35-47.

Ganesan, S. and Chellappan, R.K. (2018) Morphological, biochemical and antioxidant enzyme adaptation of *Suaeda maritima* growing in textile dye effluent irrigated soil**.** Indian Journal of Plant Physiology 23: 128-13.

Garg, V.K. and Kaushik, P. (2007) Influence of textile mill waste water irrigation on the growth of *sorghum* cultivars. Applied Ecology and Environmental Research 6(2): 1-12.

Havaux, M. (2013) Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. The Plant Journal 79: 597-606.

Irigoyen, J.J. Einerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated Alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84(1): 55-60.

Junglee, S. Urban, L. Sallanon, H. and Lopez-Lauri, F. (2014) Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. American Journal of Analytical Chemistry 5: 730-736.

Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembrane. Methods of Enzymology 148: 350-382.

Najam, U.S. Hussain, A. Mustafa, A. Waqas, R. Ashraf, I. and Fakhar, M. and Akhtar, U.Z. (2017) Effect of textile wastewater on growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L). Soil Environmental 36(1): 28-34.

Roleda, M.Y. Lutz-Meindl, U. Wiencke, C. and Lutz, C.(2010) Physiological, biological and ultrastruc-tural responses of the green macroalga *Urospora pencilliformis* from artic to UV rada-tion. Protoplasma 243:105-116.

Saranya, C. Hemalatha, A. Parthiban, C. and Anantharaman, P. (2014) Evaluation of antioxidant properties, total phenolic and carotenoid content of *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella salina* and *Isochrysis galbana*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 3(8): 365-377.

Smirnoff, N. (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist 52: 27-58.

Zhao, X. and Hardin, I.R. (2007) HPLC and spectrophotometeric analysis of biodegradation of azo dyes by *Pleurotus ostreatus*. Dyes Pigments. 73:322-325.

# Study of $H_2O_2$ and total carotenoids levels in *Medicago sativa* seedlings (Ghara yonja cultivar) under Direct Orange 26 textile dye treatment

***Kobra Naghi Beranvand*** [1], ***Maryam Madadkar Haghjou*** [1*], ***Hamid Reza Eisvand*** [2]
[1] *Departement of Biology (Plant physiology), Faculty of Science, Lorestan University*
[2] *Departement of Agronomy and Plant breeding, College of Agriculture, Lorestan University*
***Corresponding author: Maryam Madadkar Haghjou*** m_madadkar@yahoo.com madadkar.m@lu.ac.ir

## Abstract
The textile industry is one of the most important environmental pollutants. In this study, the effect of different concentrations of DO26 dye was studied on the amount of $H_2O_2$, carotenoids, chlorophylls, dry weight (DW) and lengths of stem and root, as well as total soluble carbohydrates in *Medicago sativa* seedlings. The results showed that, treatment with low to moderate concentrations of dye (20-100 mg $L^{-1}$) increased the carotenoids in response to changes in $H_2O_2$ levels that by antioxidant protection caused increasing of chlorophyll stem length and its DW. Dry weight, root length and carbohydrates were reduced by treatment with moderate concentrations. The $H_2O_2$ levels were increased at the highest concentration (220 mg $L^{-1}$) which was together with a decrease in carotenoid, chlorophyll and stem DW. In contrast to low to moderate concentrations, the cell seems to respond to oxidative stress by inducing other antioxidants (rather than carotenoids) at this condition.

**Key words:** Alfalfa, Carotenoid, Hydrogen peroxide, Textile dye

# مقایسه اثر نانو ذرات اکسید روی و نمک های سولفات روی و نیترات روی بر آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه سویا

*یلدا قربانی[۱]*. فرزانه نجفی[۱]. رمضانعلی خاوری نژاد[۱]. عبدالحمید انگجی[۲]*

*۱.گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران*

*۲.گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی.دانشکده علوم زیستی. دانشگاه خوارزمی تهران*

Yalda.ghorbani.6368@gmail.com

**چکیده**

هدف این مطالعه بررسی اثر عنصر روی به صورت یونی و نانو ذره اکسید روی بر روی فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گیاه سویا می باشد. گیاهچه ها تحت تیمار ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو اکسید روی، سولفات روی و نیترات روی قرار گرفته و فعالیت آنزیم های ذکر شده، در گیاهان تحت تیمار قرار گرفته، بررسی شد. نتایج حاصله نشان می داد که با افزایش غلظت تیمارها تا غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت افزایش یافته و در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر، به علت آسیب های سلولی وارد شده، فعالیت آنزیم ها کاهش نشان داد.

**کلمات کلیدی**

گیاه سویا- آنزیم های آنتی اکسیدان- نانو اکسید روی- سولفات روی- نیترات روی

## ۱-مقدمه

امروزه افزایش فعالیت های صنعتی، منجر به افزایش میزان فلزات سنگین در محیط زیست شده است که روی یکی از این عناصر می باشد( Kumar et al., 2015). چرا که ترکیبات روی به طور وسیع در صنایع دارویی، بهداشتی و آرایشیس مورد استفاده قرار می گیرند (Lee, 2018). هر چند که روی به عنوان یک میکروالمان ضروری، در فعالیت های متابولیسمی مختلفی مانند سنتز کلروفیل ها و اکسین، حفظ تعادل کربوهیدرات های سلولی(Emamverdi et al., 2015) ، تنظیم فعالیت آنزیم های متابولیک و پایداری ساختار غشا ( Lee, 2018) شرکت داشته و نقش مهمی در ساختار اکسیدوردوکتازها، هیدرولازها و ریبوزوم ها دارد، اما مطالعات مختلف نشان داده اند که افزایش میزان آن در محیط می تواند منجر به اختلالات رشد و پاسخ های فیزیولوپیک متعددی در گیاهان شود.

## ۲-مواد و روش ها

۱-۲-کشت و تیماردهی :

بذرهای سویا رقم کوثر از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج تهیه شده و توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده گشت. سپس بذر های استریل برای جوانه زنی به پتری دیش های استریل و حاوی کاغذ صافی

استریل و مرطوب شده با آب مقطر انتقال یافت. پتری دیش ها در ابتدا در تاریکی قرار گرفته و با شروع جوانه زنی به روشنایی انتقال یافتند. در مرحله بعد، دانه رست های ۱۰ روزه به گلدان های محتوی ماسه شسته شده منتقل شده و در شرایط گلخانه ای با تناوب روشنایی ۱۶ ساعت روز و ۸ ساعت در شب و دمای تقریبی ۲۵ درجه سانتی گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی گراد در شب، نگهداری شده و به ترتیب با محلول های هوگلند۱/۵ (۲ دوره)، ۱/۲ (۲ دوره) و هوگلند کامل تیماردهی شدند. گیاهان ۲۵ روزه، تحت تیمارهای نانو اکسید روی، سولفات روی و نیترات روی با غلظت های ۱۰۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر قرار گرفتند. برای همگن سازی محلول نانو اکسید روی از همگن ساز فرا صوتی (Ultra sonic Homogenizer) به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. پس از ۶ دوره تیماردهی، گیاهان ۴۷ روزه برای انجام آنالیزهای مختلف برداشت شدند.

۲-۲-بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت :

۲-۲-۱ -آنزیم کاتالاز

سنجش میزان فعالیت انزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میکرومولار با pH برابر ۶,۸ ، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی (حجم نهایی ۳ میلی لیتر)، روی محیط آب و یخ تهیه شده و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر در مدت ۳ دقیقه بررسی و به ازای هر گرم وزن تر در دقیقه محاسبه شد (Patterson et al., 1984).

۲-۲-۲-آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

مخلوط واکنش با حجم کلی ۳ میلی لیتر شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ریبوفلاوین، نیتروبلوتترازولیوم (NBT)، متیونین ، EDTA و بافر فسفات ۵۰ میکرومولار با pH برابر ۷/۵ تهیه شد. لوله های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور فلورسانت ۴۰ واتی با فاصله ۵۰ سانتی متر قرار گرفتند ومحلول های مشابه به عنوان بلانک در تاریکی نگهداری شدند. جذب نمونه های اصلی و بلانک در ۵۶۰ نانومتر بررسی شد.

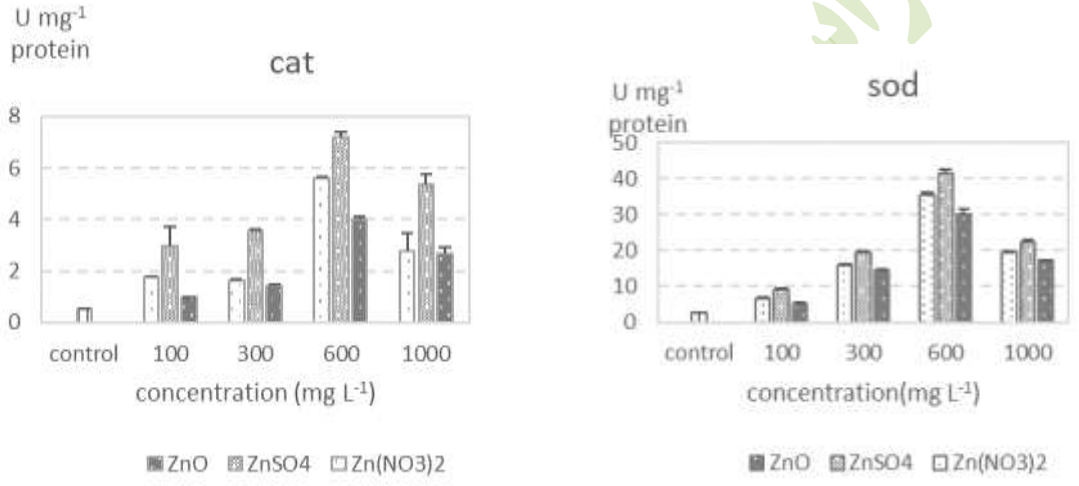
یک واحد سوپراکسید دیسموتاز(U)، مقدار آنزیمی است که باعث کاهش ۵۰ درصدی احیای NBT می شود و فعالیت اختصاصی آنزیم، به صورت واحد در میلی گرم پروتئین( U $mg^{-1}$ protein) بیان می گردد (Giannopolitis and Ries, 1977).

## ۳. نتایج و بحث

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، فعالیت آنزیم SOD در ریشه و شاخه های گیاهان تیمار شده بیشتر از شاهد بود. روند افزایشی در فعالیت های SOD در ریشه و شاخه تا غلظت تیمار روی ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده می شود و طی تیمار با غلظت بالای ۱۰۰۰ گرم بر لیتر کاهش می یابد. به جز گیاهان تیمار شده با کمترین غلظت (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) تفاوت معنی داری بین SOD های گیاهان که توسط سه گونه روی تحت تیمار قرار گرفتند وجود داشت. کمترین و بیشترین میزان SOD در شاخساره گیاهان تیمار شده با نانوذره ZnO و $ZnSO_4$ به ترتیب مشاهده شد. کمترین و بالاترین فعالیت SOD در ریشه برای آنهایی که به ترتیب توسط $Zn(NO_3)_2$ و $ZnSO_4$ تحت تیمار قرار گرفتند مشاهده شد. حداکثر فعالیت SOD شاخساره (۴۱/۷ میلی گرم بر واحد پروتئین) در گیاهان تیمار شده با ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر $ZnSO_4$ ، حدود ۲۵ برابر بیشتر از شاهد (۱/۳ میلی گرم بر

واحد پروتئین) و بیشترین فعالیت SOD ریشه (۳۲/۹ میلی گرم بر واحد پروتئین) در گیاهان تحت تیمار با ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر $ZnSO_4$، در حدود ۱۷ برابر بیشتر از شاهد (۲/۵ میلی گرم بر واحد پروتئین) مشاهده شد.

فعالیت آنزیم CAT در تمام گیاهان تحت تیمار بالاتر از شاهد بود (شکل۱). مشاهده مشابهی برای تغییر در فعالیت‌های CAT در ریشه و ساقه مشاهده شد. بیشترین افزایش فعالیت CAT در ریشه و شاخساره گیاهان تحت تیمار با ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر $Zn(NO_3)_2$، نانوذره ZnO یا $ZnSO_4$ مشاهده شد. غلظت بالای تیمار (۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) منجر به کاهش سطح فعالیت CAT می شود. گیاهانی که در تماس با $ZnSO_4$ بودند در پاسخ آنتی اکسیدانی نسبت به گیاهانی که با سایر گونه های روی تیمارشدند، افزایش بیشتری نشان دادند. استفاده از دو گونه دیگر روی تفاوت معنی داری در فعالیت های آنزیمی ایجاد نکرد. بیشترین فعالیت CAT در شاخه و ریشه گیاهان در معرض تیمار ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر $ZnSO_4$ به ترتیب در حدود ۷/۱۸ و ۷/۶۸ اندازه گیری شد.




B A

شکل ۱. اثر غلظت های مختلف Zn0، Zn(NO3)2 و ZnSO4 بر فعالیت آنزیم های کاتالاز (A) و سوپراکسید دیسموتاز (B) در گیاه سویا

در واقع، SOD یک سیستم دفاعی اولیه گیاهان است و رادیکال های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می کند. پس از آن، پراکسید هیدروژن توسط CAT، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به مولکول های آب و اکسیژن غیر سمی تبدیل می شود (Sharma et al., 2012). افزایش فعالیت های آنزیمی با افزایش غلظت روی از ۱۰۰ به ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر به دلیل سمیت بالاتر است که با کاهش قابل توجه پارامترهای رشد به گیاهان تحمیل می شود. یکی دیگر از دلایل افزایش فعالیت SOD نقش چشمگیر روی به عنوان کوفاکتور یکی از زیر واحد های SOD در فعالیت های آنزیمی است. همانطور که برای برگ های لوبیا گزارش شده است (Cakmak and Marschner, 1993)، کافی بودن روی می تواند فعالیت آنزیمی را به طور قابل توجهی بهبود بخشد.

افزایش قابل توجه در این سیستم های جاروب سازی رادیکال های آزاد دلیل احتمالی کاهش میزان پراکسید در دوزهای بالای تیمار است. برای به خوبی نشان دادن این مکانیسم، الگوی تغییر در محتوای پراکسید و فعالیت های آنزیمی در شکل ٤-٥ برای یک مورد تیمار با سولفات روی توضیح داده شده است. کاهش فعالیت SOD و CAT در دوزهای بالای تیمار ( ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) را می توان به اثر مخرب پراکسید بر جایگاه اتصال آنزیم ها نسبت داد (Sampson and Beckman. 2001).

Refrences

Cakmak/ I., Marschner/ H. (1993) Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves, in Plant nutrition-from genetic engineering to field practice N.J. Barrow, Editor. 1993, Springer Australia p. 133-136.

Sampson, J.B., Beckman, J. S., *Hydrogen peroxide damages the zinc-binding site of zinc-deficient Cu, Zn superoxide dismutase.* Archieves of Biochemistry and Biophysics 2001. 392(1): p. 8-13

Emamverdi/ A., Ding/ Y., Mokhberdoran/ F., Xie/ Y. (2015) Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. The Scientific World, 1-18.

Giannopolitis/ C.N., Ries/ S. K. (1977) Superoxide dismutases: I. Occurance in higher plants Plant Physiology 59, 309-314.

Kumar/ K.S., Dahms/ H.-U., Won/ E.-J., Lee/ J.-S., Shin/ K.-H. (2015) Microalgae–A promising tool for heavy metal remediation. Ecotoxicology and Environmental Safety 113, 329-352.

Lee/ S.R. (2018) Critical role of zinc as either an antioxidant or a peroxidant in cellular systems Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2018.

Patterson/ B.D., Pyane/ L. N., Chen/ Y., Grahum/ D. (1984) *An inhibitor of catalase induced by cold chilling-sensitive plant.* Plant Physiology 76: p. 1014-1018.

Sharma/ P., Jha/ A. B., Dubey/ R. S., Pessarakli/ M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany. 2012: p. 217037.

# Comparative effect of Zno, ZnSO4 and Zn(NO3)2 on antioxidant enzymes of soybean plant

**Yalda Ghorbani*[a], Farzaneh Najafi[a], Ramazan Ali Khavari-Nejad[a], Seyed Abdolhamid Angaji[b]**
**[a] Department of Plant Science, Faculty of Biological Science, Kharazmi University,Tehran, Iran**
**[b] Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran**

The present study aimed to comprehensively examine the effect of different zinc species and levels on the soybean (*Glycine max* L.) catalase and superoxid dismutase enzymes activity. plants were first exposed to either $Zn(NO_3)_2$, $ZnSO_4$, or ZnO nanoparticles at distinct concentrations ranged from 100 to 1000 mg $L^{-1}$ . Catalase and superoxide dismutase activities were measured by spectroscopy. However, the moderate zinc concentrations boosted the enzymatic activities but in high stress conditions, the enzymatic defensive system was inactivated.

**Key words**: *Glycine max* L. ; Antioxidant enzymes; ZnO; ZnSO4; Zn(NO3)2.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹– دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# اثر تنش شوری بر فعالیت آنتی اکسیدانی دو گیاه دارویی زیره سیاه و سبز

*معروف خلیلی*[۱*]، *ابوالفضل توسلی*[۲]، *محمدرضا نقوی*[۲]
[۱]*دانشیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور*
[۲]*استادیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور*
* **پست الکترونیکی نویسنده مسئول:** makhalily@yahoo.com

**چکیده**

به منظور بررسی اثر تنش شوری بر فعالیت آنتی اکسیدانی دو گیاه دارویی زیره سیاه و سبز، یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور زاهدان در سال ۹۷ –۱۳۹۶ انجام گرفت. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی از دو گونه گیاهی شامل $P_1$: گیاه دارویی زیره سیاه و $P_2$: گیاه دارویی زیره سبز به عنوان فاکتور اصلی؛ و چهار سطح شوری $S_1$: ۰، $S_2$: ۳، $S_3$: ٦ و $S_4$: ۹ دسی زیمنس بر متر به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. در این تحقیق صفات طول ریشه، طول ساقه، وزن تر و خشک گیاه و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربات پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین صفات طول ریشه، طول ساقه، وزن تر و خشک گیاه از گیاه دارویی زیره سیاه و تیمار بدون تنش شوری بدست آمد. تیمارهای تنش شوری نیز منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربات پراکسیداز در هر دو گونه گیاهی شدند.

**کلمات کلیدی:** آنتی اکسیدان، تنش شوری، گلخانه، گیاه دارویی

**مقدمه**

از گذشته‌های بسیار دور، اغلب مردم به نحوی از انحاء به خواص گیاهان دارویی آشنایی داشته و به طور مداوم از آنها در طب سنتی استفاده می‌کردند لکن هنوز اهمیت اقتصادی و نیز خواص بیشتر گونه‌ها ناشناخته مانده است. از طرفی نظر به اهمیت گیاهان در امر داروسازی، گیاهان دارویی نه تنها ویژگی خود را از دست نداده‌اند، بلکه توجه محافل علمی و پزشکی–درمانی را به خود معطوف داشته به طوری که استفاده روز افزون این گونه ها در بیشتر ممالک جهان رایج گردیده است (امیدبیگی، ۱۳۸٦). تنش‌ها از مهم‌ترین عوامل محدود کننده محیطی به‌شمار می‌روند. تنش شوری یکی از این موارد مهم محسوب می‌شود که عملکرد بسیاری از محصولات زراعی و باغی را کاهش داده و رشد آنها را با محدودیت مواجه می‌کند. تنش شوری اثرات قابل توجهی - روی گیاهان دارد که از آن‌ها می‌توان به سمیت یونی، تنش اسمزی، عدم تعادل عناصر غذایی و تغییرات وسیع در سنتز ترکیبات بیوشیمیایی اشاره کرد (مون و پنوئلاس، ۲۰۰٤). جمع شدن نمک‌های محلول در خاک باعث کم شدن پتانسیل آب در خاک می- شود و در نتیجه باعث جذب کمتر آب توسط گیاه شده و عملکرد محصول را کاهش می‌دهد. بروز تنش سبب ایجاد اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌گردد که میتوان به افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن بعنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۸). یکی از صدمات اکسیداتیو مهمی که در این شرایط ایجاد

می شود تخریب مولکول کلروفیل است (شالکر–اسکات، ۲۰۰۲). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده مکانیسم های دفاعی مختلفی شامل آنزیمی و غیرآنزیمی را بکار می برند (اوزکور و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به اینکه تنش شوری یکی از مهمترین تنش هایی است که گیاهان در طول دوره رشد خود با آن مواجه هستند این تحقیق نیز با هدف بررسی نقش تنش شوری بر برخی خصوصیات رشدی و تغییرات ترکیبات آنتی اکسیدانی دو گیاه دارویی زیره سیاه و سبز انجام گرفته شده است.

**مواد و روش‌ها**

این تحقیق در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور مرکز زاهدان اجرا گردید. شهر زاهدان با طول جغرافیای ٦٠ درجه و ٥١ دقیقه و ٢٥ ثانیه طول شرقی و ٢٩ درجه و ٣٠ دقیقه و ٤٥ ثانیه عرض شمالی و ارتفاع ١٣٧٠ متر از سطح دریا واقع شده است. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی از دو گونه گیاهی شامل $P_1$: گیاه دارویی زیره سیاه و $P_2$: گیاه دارویی زیره سبز به عنوان فاکتور اصلی؛ و چهار سطح شوری $S_1$: ٠، $S_2$: ٣، $S_3$: ٦ و $S_4$: ٩ دسی زیمنس بر متر به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند.کاشت بذر در اوایل اسفند ماه در گلدان‌هایی به ابعاد ٢٠×٢٥ انجام شد. برای ایجاد زهکش در ته گلدان‌ها سوراخ هایی تعبیه و سپس در کف گلدان‌ها تا ارتفاع ٢ سانتی‌متری شن دانه درشت شسته شده ریخته شد، سپس خاک لومی شنی به نسبت ١ به ٢ کاملاً مخلوط شد و برای پر کردن بقیه حجم گلدان‌ها مورد استفاده قرار گرفت. کشت بذور زیره سیاه و سبز در عمق ١ سانتی متری از سطح خاک در اوایل اسفند ماه صورت گرفت. در ابتدا ١٥ بذر در سطح گلدان کاشته، بعد از جوانه زنی و در مرحله ٢ برگی عملیات تنک انجام شد و تعداد بوته‌ها در هر گلدان به ٥بوته تقلیل یافت.

در این آزمایش تیمار شوری با استفاده از محلول‌های نمک NaCl که مقادیر هدایت الکتریکی (EC) آن‌ها ٠، ٣، ٦ و ٩ دسی زیمنس بر متر بود از مرحله دو برگی بر گیاهان براساس نقشه طرح اعمال شدند. برای تیمار شاهد (صفر) از آب مقطر و مقدار نمک لازم جهت تهیه محلول‌های با (EC) ٠، ٣، ٦ و ٩ دسی زیمنس بر متر از فرمول زیر به‌دست آمد (هاشمی دزفولی، ١٣٧٧). EC نهایی مجددا با EC متر اندازه‌گیری گردید.

$$EC \times 640 = mg\ NaCl/L$$

در مراقبت‌های پس از کاشت آبیاری به‌طور منظم انجام شد. آبیاری به‌طور یکنواخت و هر روز صورت گرفت و از مرحله دو برگی اعمال تنش شوری آغاز گردید. به منظور جلوگیری از وارد آمدن یکباره شوک به گیاهچه‌ها، ابتدا اعمال تیمار شوری با ٢٥ درصد هر سطح آغاز و بعد ٨ روز به سطح نهایی هر تیمار رسانده شدند. اعمال تیمار شوری تا انتهای مرحله آزمایش ادامه یافت. در طول دوره آزمایش جهت تعیین تغییرات در سطوح شوری هدایت الکتریکی هر کدام از تیمارها با استفاده از آب خارج شده از زهکش گلدان‌ها با استفاده از دستگاه هدایت سنج پرتابل چک می شد. در صورت خارج شدن سطح هر شوری از حد مورد نظر گاهاً با آب مقطر آبیاری صورت می گرفت تا مانع از خارج شدن سطح شوری از حد مورد نظر گردد.

برداشت اندام رویشی در اواخر ردیبهشت زمانی که ٥ درصد گل‌ها به‌طور کامل باز شده‌بودند انجام شد. اندام رویشی بلافاصله پس از برداشت در اتاق و سایه روی روزنامه پهن و در دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد به‌طور طبیعی خشک گردیدند. در این تحقیق

صفات طول ریشه، طول ساقه، وزن تر و خشک گیاه، وزن تر ریشه، و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربات پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفت.

در پایان پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفته و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

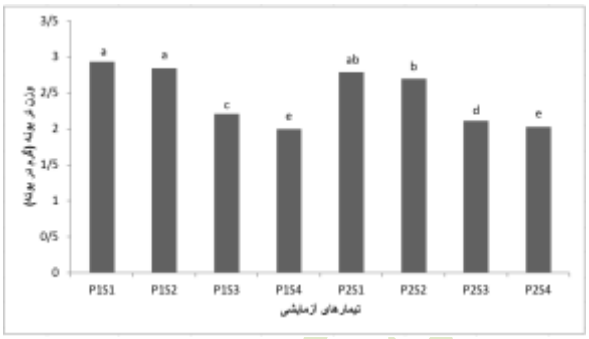
– **طول ریشه و ساقه:** تیمارهای گونه گیاهی و شوری اثر معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر صفات فوق داشتند اما اثر متقابل آن‌ها روی طول ریشه و ساقه معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین ارقام نشان داد که برای صفات فوق زیره سیاه بر زیره سبز برتری داشت (جدول ۱). بین سطوح مختلف شوری مشاهده شد که با افزایش شوری طول ریشه و ساقه هر دو گونه کاهش می یابد به طوریکه کمترین طول ریشه و ساقه مربوط به تیمار شوری ۹ دسی زیمنس بر متر (۱۲/۷۲ و ۲۹/۸۹ سانتی‌متر) و بیشترین طول ریشه و ساقه مربوط به شاهد (۱۸/٤٤ و ۵۵/۸۰ سانتی‌متر) بود. کاهش ارتفاع در اثر تنش شوری ممکن است به دلیل کاهش سطح برگ در اثر سمیت سدیمی و کاهش جذب آب و مواد غذایی باشد، که کاهش در سطح برگ باعث کم شدن میزان فتوسنتز می‌شود که در نهایت رشد گیاه را کاهش می‌دهد (شمس الدین سعید و همکاران، ۱۳۸۵).

جدول ۱– مقایسه میانگین اثر گونه گیاهی و شوری بر طول ریشه و ساقه گیاه

| تیمار | طول ریشه (سانتی‌متر) | طول ساقه (سانتی‌متر) |
|---|---|---|
| **رقم** | | |
| زیره سیاه | ۱۳/۲۷ a | ٤۹/۹۳ a |
| زیره سبز | ۱۰/۸۱ b | ٤۱/۵۸ b |
| **تنش شوری** | | |
| ۰دسی‌زیمنس برمتر | ۱٤/۲۳ a | ٤٦/۲۳ a |
| ۳ دسی‌زیمنس برمتر | ۱۱/۱۵ b | ٤۱/۱۲ b |
| ٦ دسی‌زیمنس برمتر | ۹/٤۲ b | ۳۵/٦۷ c |
| ۹ دسی‌زیمنس برمتر | ۷/۰۵ c | ۲٤/۱۹ d |

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشترک از نظر آماری معنی‌دار نمی باشند.

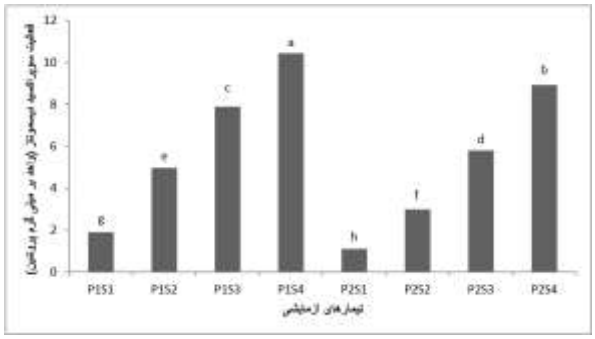
– **وزن تر و خشک گیاه:** اثر تیمارهای گونه گیاهی، شوری و اثر متقابل این دو فاکتور بر وزن تر و خشک گیاه معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل گونه گیاهی و شوری نشان داد که بالاترین وزن تر و خشک گیاه از گیاه دارویی زیره سیاه و بدون اعمال سطح شوری بدست آمد و تفاوت معنی داری بین این تیمار با تیمار شوری ۳ دسی زیمنس بر متر مشاهده نشد. کمترین مقدار این صفات نیز از تیمار گیاه دارویی زیره سبز و شوری ۹ دسی زیمنس بر متر بار حاصل شد (شکل ۱ و ۲). کاهش در میزان وزن تر و خشک ساقه در اثر بالا رفتن میزان شوری به علت کاهش در جذب آب و مواد غذایی و سمیت حاصل از غلظت بالای سدیم، و کاهش میزان فتوسنتز می‌باشد که در نهایت باعث کاهش وزن خشک ساقه می شود (کشته گر، ۱۳۹۳).



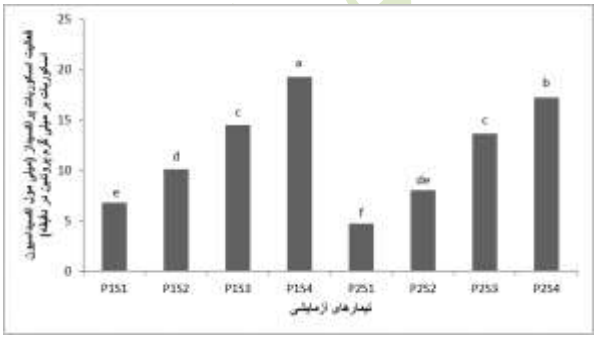

شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه گیاهی و شوری بر وزن تر

شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه گیاهی و شوری بر وزن خشک

- **فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربات پراکسیداز زیره سیاه و سبز:** اثر تیمار گونه گیاهی، شوری و اثر متقابل دو فاکتور بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل گونه گیاهی و شوری نشان داد که بالاترین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از گیاه دارویی زیره سیاه و اعمال سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر بدست آمد. کمترین مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیز از تیمار گیاه دارویی زیره سبز و بدون سطح شوری حاصل شد (شکل ۳ و ٤). سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات منفی تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای برخوردارند که از همکاری آنزیم‌های آنتی اکسیدان (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیدازها و غیره) (بلوخینا و همکاران، ۲۰۰۳) و آنتی اکسیدان‌ها (کاروتنوئید، توکوفرول، اسکوربات، گلوتاتیون و غیره) (میتلر، ۲۰۰۲) تشکیل شده‌اند. همکاری این اجزا با همدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی نظیر اسکوربات-گلوتاتیون، مهلر و گزانتوفیل می‌گردد. اجرای این چرخه‌ها بعنوان مکانیسم‌های دفاعی، سلول را قادر می‌سازد تا از تولید فرم‌های فعال اکسیژن پیشگیری نمایند و یا اینکه آنها را جمع آوری نموده و اثرات مضر آنها را کاهش دهند. بعلاوه اجرای این چرخه‌ها سبب افزایش پتانسیل ردوکس سلول شده و با کاهش آسیب به بیومولکول‌های حیاتی، سلول در شرایط تنش محیطی در وضعیت مطلوبتری به سر می‌برد (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۸).




شکل ۳- اثر گونه گیاهی و سطوح شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز




شکل ٤- اثر گونه گیاهی و سطوح شوری بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز

**فهرست منابع**

امید بیگی، ر. (۱۳۸٦). رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد اول، چاپ دوم، انتشارات طراحان نشر.

اسفندیاری، ع.، شکیبا، م. ر.، محبوب، س. ع.، آلیاری، ه.، برادران فیروزآبادی، م. (۱۳۸۸). اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی گیاهچه‌های گندم. مجله دانش کشاورزی، ۱۹(۲): ۱۳۸-۱۲۹.

شمس الدین سعید، م.، فرح بخش، ح. و مقصودی، ع. (۱۳۸۵). بررسی اثرات تنش شوری بر جوانه زنی، رشد رویشی و انباشت یون‌های معدنی ارقام کلزای پائیزه. نهمین کنگره علوم زراعت واصلاح نباتات ایران،دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان. صفحات ۵۳۱-۵۲۸.

کشته گر، م. (۱۳۹۳). بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام زنیان (*Trachys perumum ammi* L.) در شرایط تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشگاه پیام نور مرکز زاهدان.

هاشمی دزفولی، ا.، کوچکی، ع. و بنایان اول، م. (۱۳۷۷). افزایش عملکرد گیاهان زراعی (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. چاپ سوم. صفحات ٤٥-۳۱.

Blokhina, O., Virolainen, E and Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Ann Botany 91: 179-194.

Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues?. Advances in Botanical Research, 37: 103-106.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Tren Plant Science, 7: 405-410.

Munne, S. and Penuelas, J. (2004). Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbulusunedo*) growing in Mediterranean field condition. Journal Plant Science. 166: 1105-1110.

Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I. (2009). Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. To drought. Environmental and Experimental Botany, 66(3): 487-492.

## Effect of salinity stress on antioxidant activity two medicinal plants of caraway seed and cumin

***Marouf Khalily*[1], Abolfazl Tavassoli[2], Mohammadreza Naghavi[3]***

[1]*Associate Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran*

[2]*Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran*

***Corresponding Author: Email:** makhalily@yahoo.com

**Abstract**

In order to studying effect of salinity stress on antioxidant activity two medicinal plants of caraway seed and cumin, an split plot experiment in completely randomized design with three replications was conducted at the research greenhouse of the Payame Noor University of Zahedan in 2017-18. Treatments were two plant species: P1: Medicinal plant of caraway seed and $P_2$: Medicinal plant of cumin, which were considered as the main factor, and four salinity levels $S_1$: 0, $S_2$: 3, $S_3$: 6 and $S_4$: 9 ds/m as the sub factor. In this research measured factors of root length, stem height, plant fresh and dry weight, and enzymes antioxidant activity of dismutase superoxide and ascorbate peroxidase. The results of this experiment showed that highest root length, stem height, plant fresh and dry weight belonged to Medicinal plant of caraway seed under condition of without stress. In addition, salinity stress led to increasing enzymes antioxidant activity of dismutase superoxide and ascorbate peroxidase in both plant species.

**Keywords:** Antioxidant, salinity stress, Greenhouse, Medicinal plant

# اثر جیبرلیک‌اسید بر برخی شاخص‌های فتوسنتزی موثر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشاء "*Cyclamen persicum* Mill."

***بدری غلامیان دهکردی، سعید ریزی**، مسعود قاسمی قهساره، پریا دهخدائی***

*گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد*

*Email:sreezi57@yahoo.com

**چکیده:**

به منظور بررسی تاثیر جیبرلیک‌اسید ($GA_3$)و کیفیت نور LED بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشاء سیکلمن (*Cyclamen persicum*) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نشاءاین گیاه برای ٤ ماه تحت تاثیر دو سطح از طیف‌های نوری LED شامل نسبت‌های ۷۰: ۲۰: ۱۰ و ٤۰: ٤۰: ۲۰ درصد (سفید: قرمز: آبی) با شدت یکسان (۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) در اتاقک رشد و در گلخانه به‌عنوان شاهد قرار گرفت و $GA_3$ در ٤ غلظت (۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم بر لیتر) در ۳ نوبت روی برگ‌ها افشانش شد. در مرحله ٦–۸ برگی برخی شاخص‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری شد. بیشترین میزان $V_J$ (فلورسانس نسبی متغیر) با افزایش غلظت $GA_3$ و بیشترین مقادیر PSI-0 و PHI-E0 به‌ترتیب (جریان الکترون، به میزان انرژی به-دام افتاده و به میزان انرژی جذب شده) با کاهش غلظت $GA_3$ بدست آمد.

**کلمات کلیدی:**اتاقک رشد، فلورسانس نسبی متغیر، فلورسانس کلروفیل.

**مقدمه:**

سیکلمن (گل نگونسار) با نام علمی *Cyclamen persicum* Mill. از تیره Primulaceae و از گیاهان گلدانی محبوب است، دال و ویلکینز (۲۰۰٤)، که اگر به خوبی رشد کند در عرض ۷ ماه تولید و روانه بازار می‌شود. قاسمی قهساره و کافی (۱۳۹۰). مزایای استفاده از انواع LED به‌عنوان نور تکمیلی، راندمان بالای تبدیل انرژی، حجم کم، تولید نورهای مرئی (۳۸۰ – ۷۸۰ نانومتر) با گستره وسیع از طول‌موج‌ها، تویوکی و همکاران (۲۰۱٦) و همچنین شدت نور قابل تنظیم و خروجی گرمایی کمتر می‌باشد. احمدی و همکاران (۱۳۹٦). $GA_3$ خارجی با مکانیسم‌های مختلفی توانایی گیاه را در پاسخ به تنش‌های محیطی مثل شدت یا کیفیت نامناسب نور، بالا برده و سبب افزایش میزان فتوسنتز در آنها می‌شود. $GA_3$ همچنین نقش مهمی در بیوسنتز، عملکرد و اثرات فیزیولوژیکی سالیسیلیک‌اسید دارد. سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان هورمون مهم در پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی به تنش‌های اکسیداتیو نامیده می‌شود. جیبرلین‌ها با تاثیر روی ژن‌های کد کننده مسیر بیوسنتز ژرانیل‌پیروفسفات، باعث کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده در برگ و در نتیجه کاهش آسیب به مراکز واکنشی و غشاها می‌شوند که این نوعی دفاع آنتی‌اکسیدانی است. عباسپور و رضایی (۱۳۹۳).

**مواد و روش‌ها:**

در این آزمایش بذرهای نسل دوم ($F_2$) سیکلمن گل درشت قرمز، سری Halios، در سینی‌های کشت کاشته شده و بعد از یک ماه نگهداری در شرایط خنک و تاریک، بذرهای جوانه‌زده به اتاقک رشد منتقل و تعداد مساوی هم به‌عنوان نمونه در گلخانه

نگهداری شدند. بستر کشت شامل مخلوطی از ۷۵٪ پیت‌ماس و ۲۵٪ پرلیت‌شکری بود. در اتاقک، نشاهای ۱ برگی به مدت ٤ ماه تحت تاثیر دو سطح از طیف‌های نوری LED شامل نسبت‌های ۷۰: ۲۰: ۱۰ و ٤۰: ٤۰: ۲۰ درصد (سفید: قرمز: آبی) با شدت یکسان (۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) با فتوپریود ۱٦ ساعته قرار گرفتند. $GA_3$ در ٤ غلظت (۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم بر لیتر) در ۳ نوبت در اواخر ماه سوم رشد، روی برگ‌ها افشانش شد. در مرحله ٦–۸ برگی به کمک دستگاه Fluorpen FP 100 برخی شاخص‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری شد.

## نتایج و بحث:

### شاخص‌های $V_J$، PSI-0 و PHI-E0

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر $GA_3$ روی شاخص‌های $V_J$، PSI-0 و PHI-E0 معنی‌دار شد (جدول ۱). طبق جدول مقایسه میانگین، بیشترین اعداد برای PSI-0 و PHI-E0 با کاهش غلظت $GA_3$ و برای $V_J$ با افزایش غلظت $GA_3$ بدست آمد.

**جدول ۱. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر تیمارها و برهمکنش آنها بر شاخص‌های $V_J$، PSI-0 و PHI-E0**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | $V_J$ | PSI-0 | PHI-E0 |
|---|---|---|---|---|
| نور | ۱ | $^{ns}$۰ | $^{ns}$۰/۰۰۰۳ | $^{ns}$۰/۰۰۰۱ |
| $GA_3$ | ۳ | $^{*}$۰/۰۰۳ | $^{*}$۰/۰۰۳ | $^{*}$۰/۰۰۳ |
| نور×$GA_3$ | ۳ | $^{ns}$۰ | $^{ns}$۰/۰۰۰۵ | $^{ns}$۰/۰۰۱ |
| خطا | ۱٦ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ٦/٤٦ | ٦/۱۹ | ۷/٦۷ |

* و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

**جدول ۲.اثر $GA_3$ بر $V_J$، PSI-0 و PHI-E0.**

| تیمار $GA_3$ (میلی‌گرم بر لیتر) | $V_J$ | PSI-0 | PHI-E0 |
|---|---|---|---|
| ۰ | $^{b}$۰/٤٥۹ | $^{a}$۰/٥٤۱ | $^{a}$۰/٤٤۰ |
| ۲۰ | $^{ab}$۰/٤۸۸ | $^{ab}$۰/٥۱۲ | $^{ab}$۰/٤۱٥ |
| ٤۰ | $^{a}$۰/٥۱۲ | $^{b}$۰/٤۸۸ | $^{b}$۰/۳۹۰ |
| ٦۰ | $^{a}$۰/٤۹۸ | $^{b}$۰/٥۰۲ | $^{b}$۰/٤۰٥ |

میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

فلورسانس در لغت به‌معنی بازتاب نور است. وبسایت پیمان حسیبی (۱۳۹۰). فلورسانس کلروفیل ناشی از بازتابش نور با طول-موج بلندتر (۷٤۰ – ٦۸۰ نانومتر) توسط مولکول‌های کلروفیل مستقر در مراکز واکنش است که فقط در فتوسیستم II اتفاق می-افتد. سلطانی (۱۳۸۳). GA و سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی برای مقابله با تنش‌های محیطی مثل کیفیت یا شدت نامطلوب نور، از طریق افزایش پارامترهای فتوسنتزی، مانع از کاهش رشد و نمو گیاه می‌شوند. $V_J$ از اولین پالس نوری اندازه-گیری می‌شود. افزایش $V_J$ باعث افزایش شاخص عملکرد دستگاه فتوسنتزی می‌شود. استراسر و استیربت (۲۰۰۱)، که در این پژوهش با افزایش غلظت $GA_3$ بدست آمد. محلول‌پاشی گیاهچه‌های برنج با ایندول‌استیک‌اسید و کاینتین باعث افزایش فلورسانس متغیر و ایجاد شرایط حیات بهتری برای آنها می‌شود. صالحی‌فر و همکاران (۱۳۹۳). PHI-E0 نشان‌دهنده میزان جریان الکترون، به میزان انرژی جذبی، یا بیانگر احتمال انتقال الکترون به ناقل‌های بعد از کوئینون A (QA–) توسط انرژی فوتون جذبی است و کاهش آن به‌معنی کاهش در میزان جریان الکترون به سمت ناقل‌های بعدی و افزایش آن به‌معنی افزایش عملکرد دستگاه فتوسنتزی است، اسفندیاری و عنایتی (۱۳۹۲)، که در این پژوهش افزایش آن با کاهش غلظت $GA_3$ بدست آمد. ET0/TR0 = PSI-0 جریان الکترون، به میزان به‌دام انداختن انرژی است و کاهش آن در شرایطی مثل نور شدید یا باکیفیت نامناسب، به‌معنی کاهش توانایی در اکسیداسیون مجدد QA– به فرم اول خودش است. اسفندیاری و عنایتی (۱۳۹۲). در واقع PSI-0 میزان اتلاف انرژی حرارتی را در سیستم فتوسنتزی برگ نشان می‌دهد.افزایش این شاخص باافزایش شاخص عملکرد فتوسنتز همراه است، یوسفی‌نیا و قاسمیان (۱۳۹٤)، که در این آزمایش با کاهش غلظت $GA_3$ بدست آمد. به‌طور کلی افزایش شاخص عملکرد فتوسنتز نشان‌دهنده توانایی گیاه (نشاء سیکلمن در این پژوهش) در استفاده بهتر از شرایط محیطی اعمال شده در جهت تولید مواد کربوهیدراتی بیشتر و بهبود کیفیت رشد است. خالقی و همکاران (۲۰۱۲).

**فهرست منابع:**

۱.احمدی/ ت. شبانی/ ل. و سبزعلیان، م. ر. (۱۳۹٦). بررسی طیف‌های مختلف نور LED بر شاخص‌های رشد و محتوای رزمارینیک‌اسید در (*Melissa officinalis* L.) فرآیند و کارکرد گیاهی. جلد ٦: ۲۱۳–۲۲۲.

۲. اسفندیاری/ ع. و عنایتی، و. (۱۳۹۲). بررسی تغییرات پارامترهای فلورسانس کلروفیل a در دو رقم گندم دوروم در پاسخ به شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی. جلد ۲٦: ۳۷۵–۳۸٦.

۳. سلطانی، ا. (۱۳۸۳). فلورسانس کلروفیل و کاربرد آن. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹ صفحه.

٤. صالحی‌فر/ م. ربیعی/ ب. افشارمحمدیان/ م و اصغری، ج. (۱۳۹۳). اثر محلول‌پاشی ایندول‌استیک‌اسید و کاینتین بر صفات گیاهی و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل گیاهچه‌های برنج در شرایط تنش خشکی. مجله علوم زراعی ایران. ۲۹۳ صفحه.

۵.عباسپور/ ح. و رضایی/ ح. (۱۳۹۳). اثر جیبرلیک‌اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalummoldavica* L.) درشرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های گیاهی.(۵). جلد۲۷: ۸۹۳–۹۰۳.

٦. قاسمی قهساره/ م. و کافی/ م. (۱۳۹۰). گلکاری علمی و عملی. جلد۲. انتشارات مولف. ۳۹٤ صفحه.

۷. یوسفی‌نیا/ م. و قاسمیان، ع. (۱۳۹٤). ارزیابی اثرات تنش شوری بر فتوسنتز و فلورسانس کلروفیل a در گیاه جو. زیست‌شناسی تکوینی. (۱). ۳۵– ٤٤.

8. Dole/ J. and Wilkins/ H. (2004). Floriculture Principles and Species. Pearson. 992.
9. https://paymanhassibi.blogfa.com/post/8.1390.
10. Khaleghi/ E. Arzani/ K.Moallemi/ N.and Barzegar/ M. (2012). Evaluation of Chlorophyll content and Chlorophyll fluorescence parameters and relationships between Chlorophyll a, b and Chlorophyll content index under water stress in *Oleaeuropaea*cv. dezful. World Academy of Science. Engineering and Technology. 68
11. Strasser/ R. J. and Stirbet/ A. D. (2001). Estimiation of the energetic connectivity of PSII centres in plants using the fluorescence rise O-J-I-P. Fitting of experimental data to three different PSII models. Mathematics and Computers in Simulation. 56: 451- 461.
12. Toyoki/ K. Genhua/ N. and Michiko/ T. (2016). Plant factory (An Indoor Vertical Farming System for Efficient Quality Food Production). 401.

## Effect of gibberellic acid on some photosynthetic indices affecting the antioxidant activity of *Cyclamen persicum* Mill. seedling

***BadriGholamianDehkordi, Saeed Reezi *, MasoudGhasemiGhehsareh, ParyaDehkhodaei***
*Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord.*

**Abstract**:

In order to investigate the effect of gibberellic acid ($GA_3$) and the quality of LED light on the antioxidant activity of *Cyclamen persicum* seedlings, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Seedlings of this plants for 4 months under the influence of two levels of LED light spectra including ratios of 70: 20: 10 and 40: 40: 20 (white: red: blue) with the same intensity (100 µmol /$m^2$/s) was grown in the growth chamber in the greenhouse as a control and $GA_3$ was sprayed 3 timeson the leaves in 4 concentrations (0, 20, 40 and 60 mg/l). Some photosynthetic indices were measured in 6-8 leaf stage. The highest amount of $V_J$ (variable relative fluorescence) was obtained by increasing the concentration of $GA_3$ and the highest values of PSI-0 and PHI-E0 (electron current, the amount of energy dissipated and the amount of energy absorbed) were obtained by decreasing the concentration of $GA_3$ respectively.

**Keywords**: Growth chamber, Variable relative fluorescence, Chlorophyll fluorescence.

# بررسی پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ده ژنوتیپ *Lolium perenne* تحت تنش خشکی با و بدون قارچ اندوفایت

*فاطمه رئیسی وانانی[۱]، لیلا شبانی[۱]، محمدرضا سبزعلیان[۲]*

**[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد**

**[۲]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶**

**چکیده**

به منظور مقایسه نقش حضور اندوفایت‌ها در تحمل تنش خشکی در گیاه *Lolium perenne* آزمایشی در سال‌های ۹۶-۱۳۹۴ اجرا گردید. در این پژوهش ده ژنوتیپ لولیوم از نظر واکنش به تیمارهای آلودگی و عدم آلودگی به قارچ اندوفایت و دو سطح تیمار آبی شامل آبیاری مطلوب و تنش خشکی (20% FC)، در سه مرحله زمانی در قالب طرح کاملا تصادفی ارزیابی شدند. نتایج آزمایش نشان داد که در حضور اندوفایت میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تیمارهای تنش خشکی بالاتر از شرایط بدون تنش بود، ولی مقدار آن در ژنوتیپ‌ها و زمان‌های مختلف متفاوت بود. اغلب آنزیم‌ها بالاترین فعالیت خود را در ژنوتیپ S9 نشان دادند و بالاترین مقادیر در زمان دوم نمونه‌برداری ثبت شد. نتایج نشان داد که نقش اندوفایت‌ها در کاهش اثرات مخرب تنش خشکی بسیار پررنگ است و با کارآمدتر کردن سیستم آنتی‌اکسیدان در گیاه باعث تولید ROS کمتر و افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌شود.

**کلمات کلیدی:** تنش خشکی- اندوفایت- لولیوم پرنه- آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

**مقدمه**

رای‌گراس چند ساله *Lolium perenne* یکی از مهم‌ترین گیاهان چراگاهی، علوفه‌ای و چمن در جهان است. این گیاه از جنبه تولید علوفه در شرایط محیط‌های معتدله در سراسر جهان ارزش اقتصادی دارد و به عنوان باکیفیت‌ترین علف علوفه‌ای در جهان مطرح می‌باشد. این گیاه را به‌عنوان یک گیاه مرتعی باارزش برای احداث و توسعه چراگاه‌ها و چمن‌زارها معرفی کرده‌اند (Mirjalili, 2008).

رشد و نمو گیاهان زراعی معمولاً توسط تنش محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که متعاقباً باعث کاهش تولید گیاه می‌شود. از میان تمام انواع تنش‌های محیطی، تنش خشکی به عنوان مخرب‌ترین تنش آسیب زننده به تولید گیاهی در نظر گرفته می‌شود. تنش خشکی به عنوان یک مشکل اساسی، رشد، نمو و مهم‌تر محصول گیاه را به صورت منفی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Ullah et al., 2018).

آشکار است که گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شبکه پیچیده‌ای از عکس‌العمل‌ها را بکار می‌برند که در آن مسیرهای فیزیولوژیکی مختلف از متابولیسم اولیه و ثانویه دخالت دارد. در سطح سلولی، غشاها و پروتئین‌ها بوسیله کاهش در هیدراتاسیون آسیب دیده و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) افزایش می‌یابد. در شرایط انواع تنش (زیستی یا غیرزیستی) میزان ROS به عنوان نمایه‌ای از آسیب اکسیداتیو تولیدشده بوسیله عوامل تنش افزایش می‌یابد. زمانی که غلظت ROSها سمی شوند

می‌توانند باعث آسیب‌های جدی به متابولیسم گیاه نظیر آسیب به اجزای فتوسنتز، غیرفعال کردن آنزیم‌ها و پروتئین‌ها و تخریب ساختار و نفوذپذیری غشای سلولی با پراکسیداسیون لیپیدی شود. در این شرایط گیاهان در پاسخ به غلظت بالای ROS در سلول‌ها به دو گونه پاسخ می‌دهند: تولید آنتی‌اکسیدان‌های پاکروب‌کننده آنزیمی و غیرآنزیمی. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز (CAT)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR)، گلوتاتیونS–ترانسفراز (GST)، گایاکول‌پراکسیداز (GOP)، می‌باشد (Vanani et al., 2020). مطالعات مختلفی افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش آب را همراه با استفاده از محرک‌های زیستی مختلف نشان داده است. در حال حاضر نیاز به استراتژی‌های دوستانه با محیط زیست و بی‌خطر برای کشاورزی ضروری می‌نماید. با توجه به این موضوعات استفاده از قارچ‌های اندوفایت می‌تواند عامل محافظت‌کننده در برابر تنش برای گیاهان باشد و منجر به راه‌حل‌هایی امیدبخش برای حفظ و دوستی با محیط در کشاورزی شود.

اندوفایت‌های قارچی نشان داده‌اند که تحمل گیاه را در برابر شرایط محدود کننده آب افزایش می‌دهند. یافته‌ها نشان داد که کلونیزاسیون اندوفایتی می‌تواند در بهبود تحمل تنش غیرزیستی در میزبان کمک‌کننده باشد. البته بایستی در نظر داشت پاسخ‌های گیاهی به تنش آب پیچیده هستند زیرا برآیند عملکرد زمان و مکان است و در آن مکانیسم‌های چندوجهی از سطوح ژنتیکی، مولکولی و بیوشیمیایی دخالت دارد. این گونه به نظر می‌رسد که آلودگی اندوفایتی یک سیستم پاکروبی ROS قوی‌تر را در گیاهان میزبان تحت تنش ایجاد می‌کند و آسیب بیومولکول‌ها در سطح سلول را کاهش می‌دهد؛ مثلا در مطالعه‌ای مشاهده شد بعد از تنش خشکی گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به اندوفایت نسبت به گیاهان کنترل دارای سطوح پایین‌تر ROS بودند. در مطالعه‌ای در گیاهان آلوده به اندوفایت در معرض تنش، فراتنظیمی پراکسیداز،کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در برگ‌ها مشاهده شد ( Vanani et al., 2020). همه این مطالعات نشان می‌دهد که آلودگی اندوفایتی باعث القای یک پاسخ دفاعی قوی در گیاه تحت تنش می‌شود که در آن کاهش تنش اکسیداتیو بخشی حیاتی است.

تاکنون تحقیقات متعددی در زمینه تاثیر تنش خشکی روی گیاهان صورت پذیرفته است، ولی با توجه به اهمیت تنش خشکی در ایران و کاربردهای متنوع گیاهان علفی لزوم بررسی اثر تنش خشکی روی این گیاهان آشکار می‌شود. به همین منظور در این پژوهش تغییرات ایجاد شده در فعالیت آنزیم‌ها در ده ژنوتیپ *L. perenne* در پاسخ به تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها**

این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۶–۱۳۹٤ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در ٤۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در منطقه لورک شهرستان نجف‌آباد و گلخانه دانشگاه دولتی شهرکرد اجرا گردید.

ده ژنوتیپ شامل چهار ژنوتیپ فاقد قارچ اندوفایت (-E) و شش ژنوتیپ دارای قارچ (+E) در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی به شکل کشت در خاک بودند که به صورت کشت گلدانی به گلخانه تحقیقاتی شهرکرد با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٦۰–٤۰ درصد و با تناوب نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. پس از تثبیت و رشد گیاه، تکثیر انجام شد. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی و تحت دو تیمار ژنوتیپ‌های آلوده و عدم آلوده به قارچ اندوفایت، دو سطح از تیمار آبی شامل آبیاری مطلوب و تنش خشکی (20% FC) در سه تکرار انجام شد. تنش خشکی روی این گیاهان به مدت یک ماه اعمال گردید.

**سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در سه مرحله زمانی (یک هفته پس از اعمال تنش، دو هفته پس از اعمال تنش و در پایان دوره تنش) اندازه‌گیری شد. مراحل عصاره‌گیری و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، SOD، GOP، APX، GR و GST مطابق با Vanani و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد.**

**آنالیزهای آماری: آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار به ازای هر تیمار اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و MSTATC با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) به صورت فاکتوریل (دو سطح خشکی و ده ژنوتیپ) تجزیه و تحلیل شد.**

**نتایج**

نتایج حاصل از تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، SOD، GPX، APX، GR و GST در گیاهان لولیوم نشان دهنده تاثیر معنی‌دار تنش خشکی، ژنوتیپ و حضور قارچ اندوفایت و اثرات متقابل آنها (به جز اثر متقابل ژنوتیپ×زمان آنزیم GR) بود. طبق جدول ۱ افزایش فعالیت این آنزیم‌ها را در شرایط حضور قارچ اندوفایت می‌توان ملاحظه کرد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD، APX و GR در ژنوتیپ S9 مشاهده گردید.

جدول ۱: مقایسه میانگین تأثیر تنش خشکی، ژنوتیپ و قارچ اندوفایت بر فعالیت آنزیم‌هایCAT، SOD، GPX، APX، GR و GST در گیاه لولیوم.

| گروه | ژنوتیپ | GST (U/gFW) | GR (U/gFW) | GPX (U/gFW) | SOD (U/gFW) | APX (U/gFW) | CAT (Unit/gFW) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| EI | C8 | ۰/۴۱$^{a}$ | ۰/۴۲$^{a}$ | ۷/۲۵$^{a}$ | ۰/۹۶ $^{c}$ | ۰/۷۷$^{e}$ | ۲۰۵/۶۴$^{c}$ |
| | S10 | ۰/۴۱$^{a}$ | ۰/۴۴$^{a}$ | ۲/۰۴$^{e}$ | ۰/۹۳ $^{d}$ | ۰/۵۷$^{f}$ | ۲۰۵/۲۰$^{c}$ |
| | S9 | ۰/۴۰$^{a}$ | ۰/۴۴$^{a}$ | ۴/۱۲$^{c}$ | ۱/۱۰ $^{a}$ | ۳/۰۱$^{a}$ | ۲۱۱/۵۷$^{a}$ |
| | C10 | ۰/۳۹$^{a}$ | ۰/۴۳$^{a}$ | ۳/۸۸$^{d}$ | ۰/۹۰ $^{e}$ | ۱/۸۳$^{c}$ | ۲۰۶/۸۰ $^{bc}$ |
| | C9 | ۰/۴۱$^{a}$ | ۰/۴۲$^{a}$ | ۴/۹۸$^{b}$ | ۰/۹۱ $^{de}$ | ۲/۰۳$^{b}$ | ۲۰۹/۸۳ $^{ab}$ |
| | C6 | ۰/۴۲$^{a}$ | ۰/۴۳$^{a}$ | ۳/۶۸$^{d}$ | ۱/۰۶ $^{b}$ | ۱/۹۵$^{b}$ | ۲۰۸/۳۳ $^{bc}$ |
| **میانگین** | | ۰/۴۰$^{A}$ | ۰/۴۳$^{A}$ | ۴/۳۲$^{A}$ | ۰/۹۷ $^{A}$ | ۱/۶۹ $^{A}$ | ۲۰۷/۸۹$^{A}$ |
| EF | C7 | ۰/۲۹$^{bc}$ | ۰/۲۸$^{c}$ | ۲/۰۴$^{f}$ | ۰/۵۳$^{h}$ | ۰/۵۱$^{f}$ | ۱۴۱/۷۰$^{d}$ |
| | S3 | ۰/۲۶$^{c}$ | ۰/۳۳$^{b}$ | ۱/۱۸$^{g}$ | ۰/۷۳$^{g}$ | ۰/۶۱$^{f}$ | ۱۳۳/۴۰$^{e}$ |
| | Vigor | ۰/۲۹$^{b}$ | ۰/۳۳$^{b}$ | ۳/۱۷$^{e}$ | ۰/۷۴$^{g}$ | ۱/۴۸$^{d}$ | ۱۳۴/۷۷$^{e}$ |
| | Speedy | ۰/۳۱$^{b}$ | ۰/۳۵$^{b}$ | ۵/۱۹$^{b}$ | ۰/۷۷$^{f}$ | ۱/۵۱$^{d}$ | ۱۳۹/۰۷$^{d}$ |
| **میانگین** | | ۰/۲۸$^{B}$ | ۰/۳۲$^{B}$ | ۲/۸۹ $^{B}$ | ۰/۶۹ $^{B}$ | ۱/۰۲ $^{B}$ | ۱۳۷/۲۳$^{B}$ |

**حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. حروف کوچک برای مقایسه درون گروهی و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین بین دو گروه است.**

**بحث**

با توجه به نتایج به دست آمده ملاحظه گردید تنش خشکی حتی در غیاب قارچ، منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش شد. تأثیر قارچ اندوفایت بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پاسخ به تنش در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ آزمایش با یکدیگر متفاوت بود. این بدین معنی است که مدت زمان تنش خشکی در پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه به تنش موثر بوده است. در زمان ۱، در گیاهان لولیوم دارا و بدون قارچ اندوفایت در پاسخ به تنش خشکی میزان آنزیم‌ها به مقادیر مختلف افزایش یافته بود. در زمان ۲ بالاترین القای مقادیر آنزیمی مشاهده شد. در زمان ۳، میزان آنزیم‌ها کاهش یافت که میزان کاهش بسته به گروه و ژنوتیپ متفاوت بود. نتایج این تحقیق با مطالعات دیگری که افزایش فعالیت آنزیم‌های مختلف را در پاسخ به تنش خشکی گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. Siddiqui و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که درجه و مقدار افزایش در آنتی‌اکسیدان‌ها در طی تنش اکسیداتیو در بین گونه‌های مختلف فرق می‌کند و حتی بین دو کالتیوار یک گونه نیز متفاوت است. همچنین اشاره شده است که همه آنزیم‌ها فعالیت‌شان در یک زمان و با یک الگوی مشابه تغییر نمی‌کند. در مطالعات متعددی نیز به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میزبان‌های آلوده به قارچ در مقایسه با گیاهان غیرهمزیست و مقاومت بالاتر در برابر تنش اشاره شده است (Hamilton and Bauerle, 2012 and Vanani et al., 2020). به نظر می‌رسد اندوفایت‌ها می‌توانند مسیرهای خاصی را در گیاهان فعال کرده که قابلیت آنها را برای تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش دهد. گیاهان هم با فراتنظیمی فعالیت این آنزیم‌ها می‌توانند مقدار ذخایر متابولیت‌هایی نظیر گلوتاتیون و آسکوربات را حفظ کرده تا با حفظ وضعیت ردوکس سلول به شکل مستقیم و یا غیرمستقیم مقدار ROS را در گیاه کاهش دهند.

در این پژوهش بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) در ژنوتیپ‌های دارای قارچ اندوفایت ثبت شد. این قارچ‌ها با مکانیسم‌هایی نظیر افزایش متابولیت‌های ثانویه با خواص آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث ثبت بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدان در لولیوم‌های تحت تنش شدند و مقاومت به تنش خشکی در آن‌ها افزایش یافت.

**منابع**

Hamilton, C.E. and Bauerle, T.L. (2012). A new currency for mutualism? Fungal endophytes alter antioxidant activity in hosts responding to drought. Fungal Diversity, 54(1): 39-49.

Mirjalili, S.A., Bennett, S.J. and Poorazizi, E. (2008). A phenetic analysis on the genus Lolium (Poaceae) in Iran. Plant systematics and Evolution, 274(3-4): 203-208.

Siddiqui, M.H., Al-Khaishany, M.Y., Al-Qutami, M.A., Al-Whaibi, M.H., Grover, A., Ali, H.M. and Bukhari, N.A. (2015). Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. International Journal of Molecular Sciences, 16(5): 10214-10227.

Ullah, A., Sun, H., Yang, X. and Zhang, X. (2018). A novel cotton WRKY gene, GhWRKY6-like, improves salt tolerance by activating the ABA signaling pathway and scavenging of reactive oxygen species. Physiologia Plantarum, 162(4): 439-454.

Vanani, Fatemeh Raeisi, Shabani, Leila, Sabzalian, Mohammad R, Dehghanian, Fariba, & Winner, Lisa. (2020). Comparative physiological and proteomic analysis indicates lower shock response to drought stress conditions in a self-pollinating perennial ryegrass. PloS one, 15(6): e0234317.

# Study of antioxidant enzyme responses in ten *Lolium perenne* genotypes under drought stress with and without fungi

***F. Raeisi-Vanani*[1] ,** L.Shabani[2] , M.R. Sabzalian[3]

**[1]Department of Plant Science, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahr e kord, Iran**

**[2] Department of Plant Science, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahr e kord, Iran**

***(Corresponding Author: lshabani@gmail.com)**

**[3]Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111**

In order to compare the role of endophytes in drought tolerance in *Lolium perenne*, an experiment was conducted in 2015-2017. In this study, ten lollium genotypes were evaluated in terms of response to infection treatments and non-infection with endophytic fungi and two levels of water treatment including optimal irrigation and drought stress (20% FC) in three time stages in a completely randomized design. The results showed that in the presence of endophytes, the activity of antioxidant enzymes in drought stress treatments was higher than non-stress conditions, but its amount was different in different genotypes and times. Most enzymes showed the highest activity in S9 genotype and the highest values were recorded at the second sampling time. The results showed that the role of endophytes in reducing the destructive effects of drought stress is very significant and by making the antioxidant system more efficient in the plant, it produces less ROS and increases the plant's resistance to drought stress.

**Keywords**: Drought stress - Endophyte – *Lolium perenne* - Antioxidant enzymes

# بررسی میزان ترکیبات فنلی تام، پتانسیل آنتی اکسیدانی وکشندگی سلولی صمغ گیاه*Ferula gummosa* برسلولهای PC-3

*فاطمه ایزدی فرد، مجید تفریحی*،مریم مهاجرانی*
*گروه زیست شناسی سلولی ومولکولی،دانشکده علوم،دانشگاه مازندران*
*m.tafrihi@umz.ac.ir

**چکیده:**
گیاه باریجه یا *Ferula gummosa* یکی از گیاهان بومی ایران و متعلق به خانواده Apiaceae است که دارای خواص ضد باکتریایی و ضد انگلی است و ازصمغ آن دردرمان بیماری‌های گوارشی و همچنین عفونت‌های باکتریایی وانگلی دستگاه گوارش استفاده می‌شود.در این مطالعه، میزان فنول کل و همچنین خواص آنتی اکسیدانی صمغ گیاه دارویی باریجه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعات ما نشان داد میزان ترکیبات فنلی کل گیاه درغلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر افزایشی بودوخاصیت آنتی اکسیدانی گیاه وابسته به غلظت بود.همچنین با تیمارسلول‌های PC-3 با غلظت‌های مختلف صمغ حل شده در حلال DMSO به مدت ٤٨ ساعت مشخص شد میزان$IC_{50}$ صمغ گیاه*Ferula gummosa* حدود ۹/۱٤ میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد.نتایج حاصل از آزمایشDNALaddering حاکی از آن است که صمغ در غلظت های µg/ml ۱۰ و بالاتر احتمالا موجب القاء آپوپتوز در سلول های PC3 می‌شود.

**کلیدواژه:** ترکیبات آنتی اکسیدانی، سرطان پروستات، سنجش فنول کل، *Ferula gummosa*

**مقدمه**

آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که به دو صورت طبیعی و سنتزی وجود دارند و باجذب رادیکال‌های آزاد و ممانعت از ادامه اکسیداسیون، از فساد، تغییر رنگ یامادە اکسید شونده جلوگیری می‌کنندو به طورکلی عمر ماده اکسید شونده راطولانی تر میکنند (Chirag et al., 2013). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی که در گیاهان مختلف وجود دارند از جمله آنتی اکسیدان‌های طبیعی هستند که پتانسیل ضدمیکروبی،ضدسرطانی و همچنین حفاظت کننده قلبی وعروقی نیز برای آن‌ها گزارش شده است.

جنس *Ferula* دارای۱۸۰گونه است که ازاین بین، ۱۵ گونه اندمیک ایران،نُه گونه اندمیک ترکیه،هفت گونه درچین،یک گونه درایتالیا و بقیه گونه ها درکشورهای مختلف پراکنده‌اند (Sattar and Iranshahi, 2017).گونه‌های *Ferula* منبع غنی از ترکیبات مختلفی مانند Sesquiterpene، Sesquiterpenes، Sesquiterpenecoumarin glycosides،coumarins و sulfur می‌باشد( Gharaei*et al.*, 2013).

گیاه باریجه یا *Ferula gummosa* یکی از گیاهان متعلق به جنس Ferula و خانواده Apiaceae است که دارای خواص ضدباکتریایی و ضد انگلی است که در طب سنتی و محلی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله عفونت‌های دستگاه گوارش، ناراحتی‌های گوارشی و همچنین دیابت مورد استفاده قرارمی‌گیرد. این گیاه دارای صمغ سفید و شیری رنگ میباشد که از ساقه و ریشه گیاه استخراج میشود (Mahboubi., 2016; Nabavi*et al.*, 2012). هدف این تحقیق بررسی میزان فنل کل، فعالیت آنتی

اکسیدانی صمغ گیاه*Ferula gummosa* و همچنین اثرات کشندگی صمغ این گیاه روی سلول‌های سرطانی پروستات (PC-3) می-باشد.

**موادوروش‌ها**

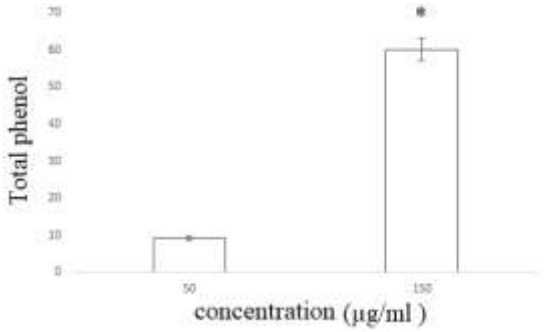
صمغ گیاه *Ferula gummosa* توسط افراد بومی و محلی خبره جمع آوری شد و میزان 20 µg از آن در یک میلی لیتر از DMSO حل شد تا استوک ۲ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آید.

جهت استخراج عصاره فنولی،صمغ در حلال DMSO به خوبی حل شد و برای سنجش فنول کل از معرف Folin-Ciocalteu استفاده شد، بدین صورت که در هر ویال ۲ میلی لیتری ۱۶۰۰µl آب مقطر، ۲۲ µl عصاره گیاه، ۱۰۰µl از معرف Folin-Ciocalteu اضافه شد و پس از ۳ دقیقه ۳۰۰µl کربنات سدیم ۷٪ اضافه شد و این مخلوط به خوبیVortex شد و پس از نگهداری به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانش شد. نمودار استاندارد بااستفاده ازغلظت‌های مختلف از گالیک‌اسید رسم شد و میزان فنول کل نمونه‌ها به دست آمد ( Mohadjerani.,2012).

از روش MTT به منظور محاسبه میزان IC50 استفاده شد، سلول هایPC3 در پلیت ۹۶ خانه کاشت شد و با غلظت های مختلف تیمار شد و پس از ۴۸ ساعت در جذب ۵۷۰ نانومتر خوانش شد، IC50 محاسبه شده توسط نرم افزار GraphPad Prism8 محاسبه شد. در روش DNALaddering سلول هایPC3 در پلیت ۶ خانه کاشته شد و پس از تیمار ۴۸ ساعته، ابتداسلول‌ها لیز شدند و سپس به روش استخراج نمکی، DNA سلولی استخراج و الکتروفورز شد(Tafrihi *et al.*, 2014).

**نتایج و بحث**

نتایج آزمایش سنجش میزان فنل تام گیاه نشان داد که در غلظت های ۵۰ µg/ml و ۱۵۰ از صمغ گیاه دارویی*Ferula gummosa* میزان فنل به ترتیب ۹/۲۲ و ۶۰/۸ (میلی گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک) محاسبه شد (نمودار ۱).

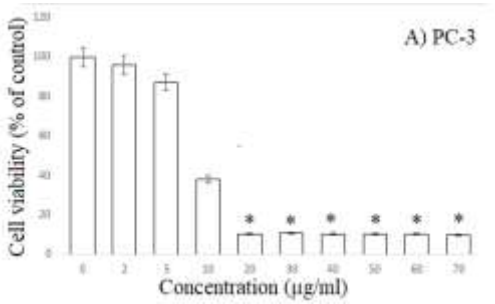



نمودار۱– سنجش میزان فنل تام صمغ گیاه *Ferula gummosa*

گیاهان مختلف با دارا بودن ترکیبات زیستی مختلف ویژگی‌های متفاوتی همچون اثرات آنتی بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی دارند. دراین پژوهش، میزان ترکیبات فنلی،ظرفیت آنتی اکسیدانی و همچنین اثرات کشندگی صمغ گیاه*F.gummosa* بر سلول‌هایPC-3 مورد مطالعه قرار گرفت. این مطالعه نشان داد صمغ گیاه*F. gummosa* میزان قابل توجهی ترکیبات فنلی دارد. مهرپور و همکاران در مطالعه ای به بررسی میزان ترکیبات فیتوشیمیایی وفنلی اندام‌های هوایی گیاه*Ferulaassafoetida L.* استان

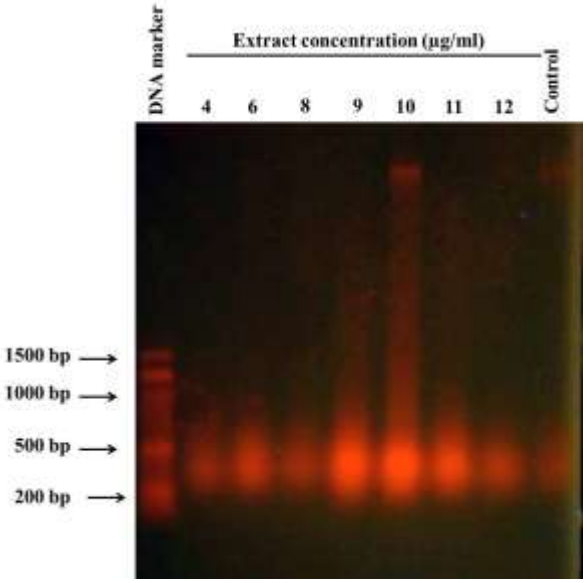
خراسان و سمنان پرداختند و گزارش کردند که بیشترین میزان فنل تام در قسمت برگ مشاهده شد (مهرپور و همکاران،۲۰۱٦). دهقان و همکاران نیز میزان فنل تام و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه*Ferula szovitsiana* را بررسی کردند و گزارش کردند که عصاره گیاه*F. szovitsiana* اثرات آنتی اکسیدانی قابل توجهی در محیط In vitro و in vivo دارند (Dehghan et al., 2007).

جهت بررسی اثرات کشندگی صمغ گیاه باریجه روی سلول‌های سرطانی PC-3 با روش MTT، سلول‌های PC-3 با غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰، ٦۰ و ۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر از صمغ گیاه*F. Gummosa* تیمار شدند و میزان زنده مانی سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت (نمودار ۲). میزانIC50 صمغ گیاه*F. gummosa* در زمان ٤۸ ساعت، ۹/۱٤ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد.




نمودار –۲– نمودار زنده مانی سلول‌های PC-3 تیمار شده با غلظت‌های مختلف صمغ گیاه*F. Gummosa* درزمان ٤۸ ساعت

همچنین استخراج DNA از سلول‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف صمغ گیاه*F. gummosa* و انجام الکتروفورز روی ژل آگارز نشان داد صمغ در غلظت‌های ۱۰ میکروگرم برمیلی لیترو بالاتر احتمالا موجب القاء آپوپتوز در سلول‌های PC-3 می‌شود(شکل ۱).




شکل ۱– تاثیر غلظت‌های مختلف صمغ گیاه *F. gummosa* بر ژنوم سلول‌های PC-3. در غلظت‌های بالاتر از $IC_{50}$، ژنوم بصورت قطعاتی شکسته شده است.

تیمار سلول‌های PC-3 با غلظت‌های مختلف صمغ گیاه*F.gummosa* نشان داد این گیاه اثرات کشندگی قابل توجهی علیه سلول-های سرطانی پروستات نشان می‌دهد و احتمالا این گیاه و یا ترکیبات موثر آن می‌تواند به عنوان یک کاندید مناسب برای درمان سرطان مورد توجه قرار گیرد.

## منابع

مرتضی مهرپور, بهاره کاشفی, مقدم, & محمد. (۲۰۱٦). بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی اندامهای مختلف گیاه دارویی. Ferula assafoetida L در دو رویشگاه طبیعی استانهای سمنان و خراسان. *اکو فیتوشیمی گیاهان دارویی*, *٤*.

Chirag, P., Tyagi, S.,Halligudi, N., Yadav, J., Pathak, S., Singh, S., Pandey, A., Singh, D. and Shankar K., 2013. Antioxidant activity of herbal plants: a recent review. Journal of Drug Discovery and Therapeutics, 1(8): 1-8.

Dehghan, G., Shafiee, A., Ghahremani, M. H., Ardestani, S. K., & Abdollahi, M. (2007). Antioxidant potential of various extracts from Ferula szovitsiana. in relation to their phenolic content. *Pharmaceutical Biology*, *45*(9), 691-699.

Gharaei, R., Akrami, H., Heidari, S., Asadi, M. H., &Jalili, A. (2013). The suppression effect of Ferula gummosaBoiss. extracts on cell proliferation through apoptosis induction in gastric cancer cell line. *European Journal of Integrative Medicine*, *5*(3), 241-247.

Mahboubi, M. (2016). Ferula gummosa, a traditional medicine with novel applications. *Journal of dietary supplements*, *13*(6), 700-718.

Mohadjerani, M. (2012). Antioxidant activity and total phenolic content of Nerium oleander L. grown in North of Iran. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, *11*(4), 1121.

Nabavi, S. F., Habtemariam, S., Sureda, A., &Nabavi, S. M. (2012). Ferula gummosaboiss as a rich source of natural antioxidants with numerous therapeutic uses-a short review.

Sattar, Z., &Iranshahi, M. (2017). Phytochemistry and pharmacology of Ferula persicaBoiss.: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *20*(1), 1.

Tafrihi, M., Toosi, S., Minaei, T., Gohari, A. R., Niknam, V., & Arab Najafi, S. M. (2014). Anticancer properties of Teucriumpersicum in PC-3 prostate cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *15*(2), 785-791.

## Studying the total phenolic content, antioxidant potential and cytotoxicity of *Ferula gummosa* gum on PC-3 cells

***Fateme Eizadifard, Majid Tafrihi, Maryam Mohadjerani***

*Department of Molecular and CellBiology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, 47416-95447, Mazandaran, Iran*

*m.tafrihi@umz.ac.ir

Abstract:Barijeh or *Ferula gummosa* is one of the Iranian endemic plants and belongs to the Apiaceae, which has antibacterial and antiparasitic properties. In traditional medicine, the gum of its gum *F. gummosa* is used in the treatment of gastrointestinal diseases as well as gastrointestinal infections. In this study, the total levels of phenols as well as the antioxidant properties of *F. gummosa* gum were investigated. The results of our study showed that the phenolic compounds in the whole plant at concentrations of 50 and 150 µg/ml was higher and the antioxidant properties of the plant were concentration dependent. Also, by treating PC-3 cells with different concentrations of gum dissolved in DMSO solvent for 48 hours, it was determined that the $IC_{50}$ value of *F. gummosa* gum was about 9.14 µg/ml. The results of the DNA Laddering experiment suggests that concentrations of 10 µg/ml and higher of the gum may induce apoptosis in PC-3 cells.

**Keywords:**Antioxidant compounds, Prostate cancer, Total Phenol, *Ferula gummosa*

# ارزیابی کاربرد سطوح مختلف دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی اتانول بر میزان پروتئین محلول، فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز، گایاکول پراکسیداز و خواص آنتی‌اکسیدانی ریحان

***عزت دارابی حسین‌آباد قاینی[۱]، محمد مقدم[۲*]، محمود شور[۳]***

*۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران*

*۲- نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران*

پست الکترونیک نویسنده مسئول: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

*۳- دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران*

**چکیده:** هدف از این تحقیق بررسی اثر سطوح مختلف دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی اتانول بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان رقم کشکنی‌لولو بود. بدین منظور آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل اتانول در ٤ سطح (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی)، دی‌اکسیدکربن در ۳ سطح (۳۸۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ پی‌پی‌ام) بودند. برطبق نتایج نشان داده شد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۳/۸ درصد) و فنل کل (۵/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۳۸۰ پی‌پی‌ام دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول بدست آمد که تفاوتی با سطح ۲۰ درصد آن نداشت و بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطح ۲۰ درصد اتانول مشاهده شد. با توجه به‌نتایج این تحقیق استفاده از سطح ۲۰ درصد حجمی اتانول و دی‌اکسید کربن ۳۸۰ و ۷۰۰ پی‌پی ام با توجه به هدف کشت پیشنهاد می‌شود.

**کلمات‌کلیدی:** پلی‌فنل اکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گایاکول پراکسیداز

## مقدمه

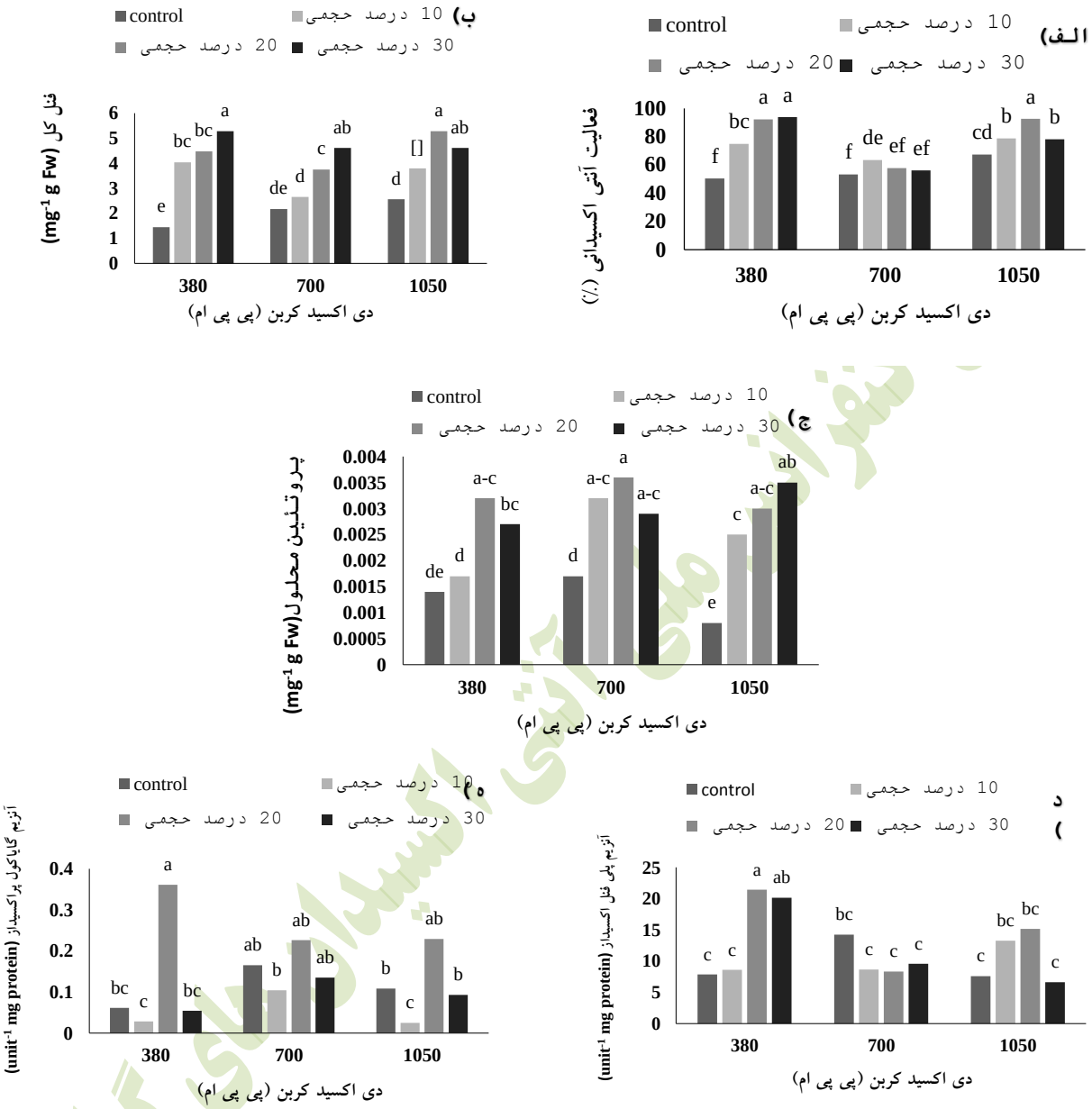
ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که یک‌ساله، علفی، معطر بوده و دارای خاصیت ضد باکتری و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Omidbeigi, 1995). به‌دلیل مشکلات جدی که استفاده بیش از حد از مواد شیمیایی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به‌منظور افزایش عملکرد محصولات به‌وجود آورده‌اند محققین به‌دنبال استفاده از راهکارهایی برای افزایش تولید غذا هستند که خطری برای محیط زیست نداشته باشد (Khosravi, 2011). استفاده از الکلها به‌ویژه اتانول و متانول یکی از این راهکارها می‌باشد چراکه این ترکیبات در گیاه باعث افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن شده و از این طریق می‌توانند بر اسیمیلاسیون مواد در گیاه تاثیر گذاشته و در ساخت اسیدهای آمینه شرکت کرده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پروتئین محلول را افزایش دهند (Zbiec and Podsiad, 2003). نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل در ریحان با کاربرد اتانول افزایش یافت (Moghaddam et al., 2017). دی‌اکسیدکربن بعد از آب یکی دیگر از واکنش‌دهنده‌های مهم مورد نیاز گیاه برای شرکت کردن در فرآیندهای بیوشیمیایی مختلف است و در ساخت ترکیبات مهم از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اهمیت دارد (Zheng et al., 2019).

**مواد و روش‌ها**

به‌منظور بررسی اثر دی‌اکسیدکربن و اتانول بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان رقم کشکنی لولو در سال ۱۳۹۸ آزمایشی گلدانی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل محلول پاشی اتانول در ٤ سطح (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) به‌عنوان فاکتور اول و دی‌اکسیدکربن در ۳ سطح (۳۸۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ پی‌پی‌ام) به‌عنوان فاکتور دوم بودند. نشاء گیاهان در مرحله ٤ برگی به گلدان انتقال یافتند. برای اعمال تیمار دی‌اکسیدکربن گیاهان در مرحله ٦ برگی به محفظه‌هایی به‌طول ۲ متر، عرض ۱/۵ متر و ارتفاع دو متر که با پلاستیک کاملا شفاف پوشانده شده بودند انتقال یافتند و از سیستمی کاملا خودکار جهت تنظیم غلظت گاز دی‌اکسیدکربن استفاده شد. اولین محلول‌پاشی با اتانول در مرحله ۸ برگی انجام شده و محلول‌پاشی‌های دیگر بافاصله یک هفته از هم و به‌مدت یک ماه انجام شدند. در مرحله تمام گل نمونه‌گیری انجام و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش مون و ترائو انجام شد (Moon and Terao, 1998). میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین سیکالتو اندازه‌گیری شد (Singliton and Rushi, 1965)، پروتئین با روش برادفورد (Bradford, 1976)، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز با روش Plewa و همکاران (۱۹۹۱) و فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز با روش Kar و همکاران (۱۹۷٦) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Minitab 17 و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون Bonferoni انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Exell 2016 استفاده شد.

**نتایج و بحث**

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول در سطح احتمال یک درصد بر صفات مورد مطالعه در این تحقیق معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۳/۸٦ درصد) و فنل کل (۵/۲۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۳۸۰ پی‌پی ام دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۳۰ درصد مشاهده شد که در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری بین این تیمار با تیمار سطح ۲۰ درصد اتانول وجود نداشت. این درحالی بود که کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۵۰/۲۹ درصد) و فنل کل (۱/٤۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار بدون کاربرد اتانول و سطح ۳۸۰ پی‌پی ام دی‌اکسیدکربن مشاهده شد (شکل ۱– الف و ب). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین محتوای پروتئین (۰/۰۰۳٦ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۷۰۰ پی‌پی‌ام دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی اتانول با غلظت ۲۰ درصد بدست آمد (شکل ۱– ج). بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (۲۱/٤۳ $unit^{-1}$ mg protein) و گایاکول پراکسیداز (۰/۳٦۱ $unit^{-1}$ mg protein) در سطح ۲۰ درصد اتانول مشاهده شدند و با کم شدن سطح اتانول از میزان این آنزیم‌ها نیز کاسته شد (شکل ۱– د و ه). مقدم و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که با افزایش سطح اتانول بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل ریحان افزوده شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. علت احتمالی این وقایع می‌تواند این باشد که اتانول در گیاه به دی‌اکسیدکربن تبدیل شده و دی‌اکسیدکربن تولیدی بر اسیمیلاسیون مواد در گیاه تاثیر گذاشته و در ساخت اسیدهای آمینه در گیاه شرکت کرده و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای پروتئین گیاه را افزایش می‌دهد (Zbiec and Podsiad, 2003).




شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی اتانول بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی (الف)، فنل کل (ب)، پروتئین محلول (ج)، فعالیت آنزیمهای پلی‌فنل‌اکسیداز (د) و گایاکول پراکسیداز (ه)

**فهرست منابع**

Bradford/ M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 1976; 72(1-2): 248-254.

Kar M, Mishra D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology. 1976; 57(2): 315-319.

Khosravi/ E. 2011. Effect of methanol and ethanol on yield and quality of *Melissa officinalis* L. Master's thesis. Department of Horticulture Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Karaj, Iran

Moghaddam/ M., Narimani/ R., Rostami/ Gh. and Mojarab/ S., (2017). Studying the effect of foliar application of methanol and ethanol on morphological and biochemical characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* c.v. Keshkeni luvelou). Iranian Journal of Field Crops Research. 16(2): 345-354.

Moon/ J.H. and Terao/ J. (1998). Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46(12): 5062-5065.

Omidbeigi/ R. 1995. Approaches to the production and processing of medicinal plants. Tehran: Publishing Thought of the Day.

Plewa/ M.J., Smith/ S.R. and Wagner, E.D. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms. 247(1): 57-64.

Singliton/ V.L. and Rossi/ J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3): 144-158.

Zbiec/ I., Karczmarczyk/ S. and Podsiadlo/ C. 2003. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities (EJPAU) 6 (1): 1-7.

Zheng/ Y.P., Li/ F., Hao/ L.H., Yu/ J.J., Guo/ L.L. Zhou/ H.R., Ma/ C., Zhang/ X.X. and Xu/ M. (2019). Evaluated CO2 concentration induces photosynthetic down-regulation with changes, non-structural carbohydrates and nitrogen content of soybean. BMC Plant Biology. 19: 225.

# Evaluation of application of different levels of carbon dioxide and ethanol foliar spraying on soluble protein, activity of polyphenol oxidase, guaiacol peroxidase enzymes, and antioxidant activity of basil

***Ezat Darabi Hoseinabad Ghaeni[1], Mohammad Moghaddam[2]. Mahmoud Shoor[3]***

1- *M.Sc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.*
2- ***Corresponding Author:*** *Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.*
3- *Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.*

**Abstract:**
The aim of this study was to evaluate the interaction effects of carbon dioxide and ethanol foliar application on the antioxidant activity of basil. So, a pot experiment was conducted as factorial based on a completely randomized design with three levels of carbon dioxide (380, 700, and 1050 ppm) and four levels of ethanol (0, 10, 20, and 30% w/w) with three replications. According to the results of this experiment the highest antioxidant activity (93.8%) and total phenol content (5.3 mg/g fresh leaf weight) was obtained at 380 ppm carbon dioxide and 30% ethanol application and there was no significant difference with 20% ethanol. The highest antioxidant enzyme activity was observed at 20% ethanol application. The results of this study showed that application of 20% ethanol and 700 ppm carbon dioxide were more effective than the other treatments.

**Keywords:** Antioxidant activity, Polyphenol oxidase, Guaiacol peroxidase

# اثر گلوکز بر روی فعالیت پمپ $H^+$-ATPase جلبک تک سلولی *Dunaliella salina*

سحر نویدنژاد و منصور شریعتی
گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم زیستی و فناوری، دانشگاه اصفهان ،: اصفهان
***Saharnavid1396@gmail.com***

**چکیده**

جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella* متعلق به خانواده *Chlorophyceae* بوده و در محدوده وسیعی از دریاها، دریاچه ها و آب های شور زندگی میکند و فاقد دیواره سلولی است. جذب گلوکز در گیاهان و جلبک ها اغلب از طریق ناقل گلوکز-$H^+$ کوترانسپورت موجود در غشای پلاسمایی صورت می گیرد. زمانیکه به محیط اطراف جلبک ها و گیاهان گلوکز اضافه شود، دپلاریزه شدن موقتی پتانسیل غشای پلاسمایی رخ خواهد داد. این اتفاق به دلیل ورود یون پروتون به همراه گلوکز طی انتقال سیمپورت رخ میدهد. این جریان می تواند باعث اسیدی شدن سیتوپلاسم و قلیایی شدن محیط خارج سلولی گردد. به منظور درک بهتر اثر مستقیم یا غیر مستقیم گلوکز بر پمپ $H^+$-ATPase غلظت های مختلف ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار از گلوکز بر سوسپانسیون جلبکی اعمال گردید و میزان pH اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت تیمار گلوکز میزان pH کاهش پیدا میکند و اسیدی میگردد. بررسی دقیق تر pH محیط نشان داد که در دقایق ابتدایی اعمال تیمار گلوکز در اثر انتقال سیمپورت گلوکز به همراه پروتون در دقایق اولیه قلیایی شدن اولیه در محیط خارج سلولی رخ داده و پس از آن به دنبال فعالیت پمپ $H^+$-ATPase، pH محیط به سمت اسیدی شدن می رود. به نظر می رسد در دقایق ابتدایی آزمایش به دنبال اضافه کردن گلوکز pH محیط قلیایی می شود در طول جذب $H^+$ از طریق کوترانسپورت گلوکز-$H^+$ . سپس پمپ $H^+$-ATPase موجود در غشای پلاسمایی فعال شده و باعث خروج $H^+$ از سلول به محیط خارج سلولی برای تنظیم pH درون سلولی که نتیجه آن اسیدی شدن محیط خارج سلولی است. هنگامیکه فعالیت پمپ $H^+$-ATPase توسط غلظت پایین فسفات محدود و متوقف گردید pH محیط اسیدی نگردید که نشان دهنده آن است که در تمامی موارد اسیدی شدن محیط کشت در اثر افزودن گلوکز ناشی از فعالیت پمپ $H^+$-ATPase باشد افزایش غلظت در تیمار گلوکز سبب کاهش روند رشد سلولی گردید که می تواند احتمالا به علت حضور رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) باشد که باعث غیر فعال کردن آنزیم ها و آسیب به DNA می شو. برخلاف انتظار میزان بتاکاروتن به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی کاهش پیدا می کند.

**کلیدواژه‌ها: گلوکز، پمپ $H^+$-ATPase ، دونالیه لا سالینا، آنتی اکسیدان**

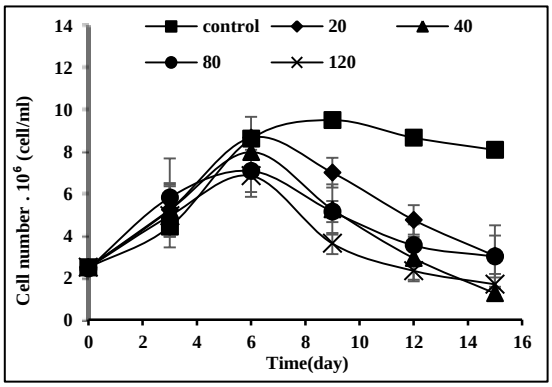
**مقدمه :**

با توجه به اینکه مطالعات زیادی برروی اثر گلوکز بر جلبک *Dunaliella* انجام نشده است برخی تحقیقات قبلی نشان می دهد که اضافه نمودن گلوکز به محیط می تواند علی رغم انتظار به قلیایی شدن محیط بواسطه ورود گلوکز به همراه پروتون (از طریق انتقال سیمپورت) ولی اسیدی شدن محیط کشت مشاهده می شود. گزارش شده است که این اسیدی شدن احتمالا از طریق فعال کردن پمپ $H^+$-ATPase و در نتیجه خروج $H^+$ در پاسخ به ورود پروتون به همراه گلوکز باشد.

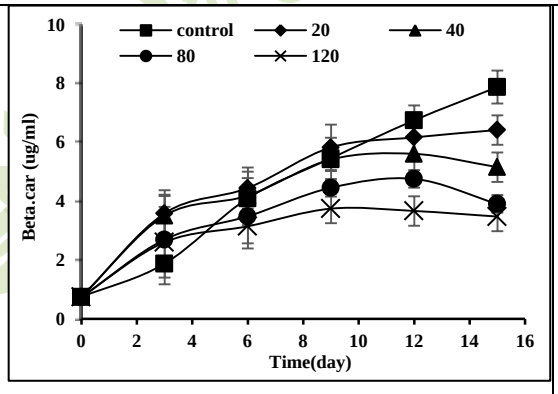
**مواد و روش ها**

جلبک *D. salina* سویه Utex-200 از کلکسیون دانشگاه تگزاس آمریکا تهیه گردید. برای تهیه محیط کشت جلبک، بر اساس روش تغییر یافته جانسون و همکاران عناصر و ترکیبات لازم تهیه گردید. pH محیط کشت در محدوده ۷/۵-۷ تنظیم گردید و برای از بین بردن تمام آلودگی ها ارلن در دستگاه اتوکلاو قرار داده شد. برای تهیه سوسپانسیون جلبکی،۹۰ میلی لیتر محیط کشت استریل شده در ارلن های ۲۵۰ میلی لیتری انتقال داده شده و ۱۰ میلی لیتر سلول های جلبک به آن اضافه گردید. ارلن ها در اتاق کشت قرار گرفتند و واکشت جلبک ها هر ۲۱ روز یکبار انجام گرفت. برای انجام شمارش سلولی مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه جلبک توسط محیط کشت ایزوتونیک رقیق سازی شد و بعد از گذشت حدود چند دقیقه با استفاده از سمپلر ۳۰ میکرولیتر از محلول را برداشته و روی لام هموسایتومتر قرار داده و به کمک میکروسکوپ نوری تعداد سلول ها مورد شمارش قرار گرفت. برای اندازه گیری میزان بتاکاروتن به عنوان آنتی اکسیدان از سوسپانسیون جلبکی استفاده کرده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر غلظت بتاکاروتن برحسب میلی گرم در واحد حجم اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری میزان pH در روزهای صفر، ۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ به میزان ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون های جلبکی با غلظت های صفر، ۲۰، ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار گلوکز برداشته و میزان آن اندازه گیری شد. همچنین برای بررسی دقیق تر میزان pH در ابتدای آزمایش در زمان صفر تا ۳۰ دقیقه به صورت ممتد اندازه گیری گردید. جهت بررسی نقش پمپ $H^+$-ATPase در اسیدی کردن محیط کشت، از غلظت پایین فسفات در محیط (۰/۱ میلی مولار) به واسطه محدود نمودن ATP به منظور کاهش فعالیت پمپ $H^+$-ATPase استفاده گردید.

**یافته های تحقیق:** همانطور که مشاهده می شود (شکل ۱) تا روز ششم پس از زمان شروع تیمار، روند رشد سلولی مانند نمونه شاهد به صورت افزایشی می باشد اما پس از روز ششم، با افزایش غلظت گلوکز از ۲۰ میلی مولار به غلظت های بالاتر کاهش در تقسیم سلولی ملاحظه می گردد به این صورت که در پایان روز پانزدهم این روند به سمت صفر رفته است. در بررسی اثر گلوکز بر غلظت بتاکاروتن در میلی لیتر، نتایج حاکی از افزایش در غلظت بتاکاروتن (شکل۲) در میلی لیتر در غلظت های ۲۰ و ٤٠ میلی مولار به کار برده شده تا روز نهم گلوکز در قیاس با شاهد بود و سپس به یک حالت نسبتا ثابتی رسید. در غلظت های ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار روند افزایشی مشاهده گردید اما در قیاس با نمونه شاهد و غلظت های ۲۰ و ٤٠ میلی مولار تفاوت معنا داری مشاهده شده است و در نهایت به یک حالت نسبتا ثابتی رسیده است.

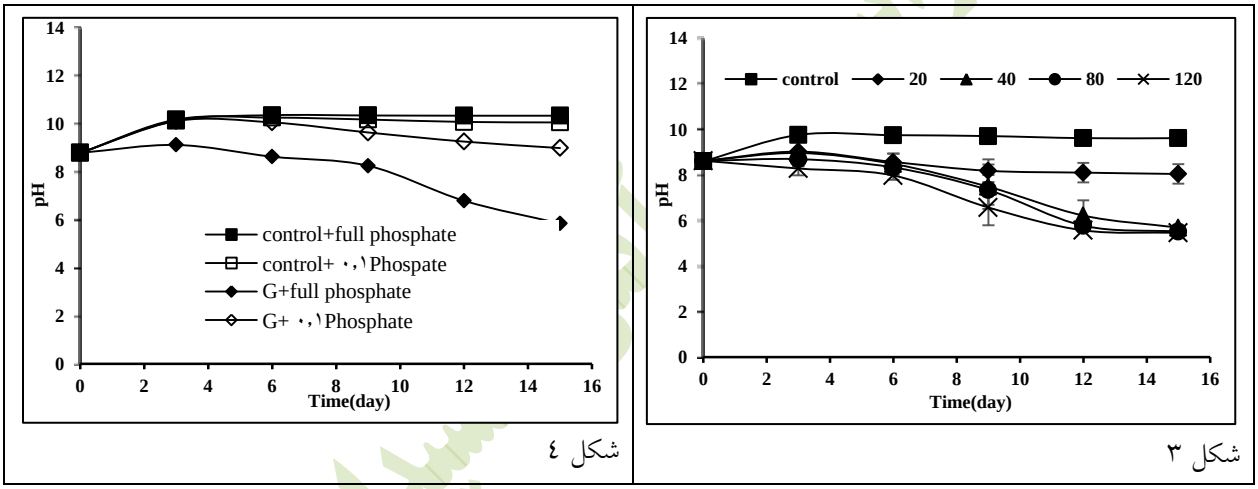


شکل ۱-



شکل ۲-

$H^+$-ATPase با استفاده از هیدرولیز ATP موجب انتقال یون $H^+$ می شود و برای تولید ATP، سلول نیازمند فسفر می باشد. به همین منظور فعالیت پمپ $H^+$-ATPase در محیط کشت حاوی غلظت پایین فسفات (۰/۱ میلی مولار) در قیاس با محیط کشت حاوی فسفات کامل (۰/۲ میلی مولار) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش غلظت ٤٠ میلی مولار در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج آزمایشات قبلی تا غلظت ۲۰ میلی مولار بر روی میزان تغییر pH اثر قابل مشاهده ایی ندارد بدین منظور غلظت ٤٠ میلی مولار که در آن میزان اسیدی شدن محیط کشت قابل مشاهده و اثر گذار بوده است مورد استفاده قرار گرفت. نتایج (شکل ٤) حاکی از آن است که قند اضافه شده به محیط باعث اسیدی شدن محیط گردیده است. در حالتی که فسفات کامل (۰/۲ میلی مولار) و فسفات کم (۰/۱ میلی مولار) در محیط بدون حضور قند قرار گیرند تغییر خاصی در pH محیط رخ نمی دهد. در حالیکه در حضور فسفات کامل و حضور گلوکز (شکل ٤) میزان pH طبق انتظار اسیدی می گردد و به حدود ٦ می رسد. همراه با کاهش میزان فسفات در محیط به منظور کاهش فعالیت پمپ $H^+$-ATPase عدم تغییر pH محیط مشاهده می گردد.




شکل ٤ — شکل ۳

شکل ۳. pH محیط کشت در حضور غلظت های صفر، ۲۰، ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار گلوکز مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می باشد.

بحث:

در این پژوهش اثر گلوکز بر پمپ $H^+$-ATPase گونه جلبکی *D.salina* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل حاکی از آن است که با افزایش غلظت گلوکز روند رشد سلولی، مقدار بتاکاروتن و pH کاهش می یابد. حضور گلوکز منجر به کاهش pH و اسیدی شدن محیط می گردد و همچنین علت اسیدی شدن محیط فعالیت پمپ $H^+$-ATPase می باشد که با متوقف کردن آن کاهش pH نیز متوقف می شود. با توجه به این نکته که در حضور گلوکز رادیکال آزاد اکسیژن تولید می گردد (٤) و انتظار می رود بتاکاروتن به عنوان یکی از آنتی اکسیدان های موجود در سیستم جلبکی افزایش یابد (٦) اما شاهد کاهش آن در این تحقیقات هستیم. طبق گزارشات (۱) به نظر می رسد هنگام تولید رادیکال های آزاد اکسیژن در جلبک، سیستم آنتی اکسیدان ارگانیسم های فتوسنتزی شامل آنزیم های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز فعال شود (۵). نتایج نشان می دهد که برخلاف انتظار حضور گلوکز می تواند باعث متوقف کردن سیکل کالوین (۲) در اثر حضور قند بیشتر در سلول گردد که در نتیجه آن نیازی به

تولید ATP و NADPH از زنجیره انتقال الکترون نمی باشد (۳). گزارش شده است در حضور گلوکز ROS تولید میگردد (۷) و به نظر می رسد سفید شدگی سوسپانسیون جلبکی ناشی از تولید ROS و همچنین اسیدی شدن محیط باشد که در نهایت سبب مرگ سلولی می گردد. علی رغم آزمایش های مختلف در این تحقیق ولی نتایج نتوانست نشان دهد که آیا گلوکز به صورت مستقیم بر فعالیت پمپ $H^+$-ATPase اثر می گذارد یا به صورت غیر مستقیم و با ورود به سلول با تاثیر بر متابولیسم سلول باعث تغییر فعالیت پمپ و در نتیجه اسیدی کردن pH محیط می شود و همچنین برای تشخیص آن باید سایر متابولیت ها اندازه گیری گردد.

## منابع

1. Alain, G. and Natalia, F. and Javier, F. and Portillo, F. (2000) Regulation of yeast $H^+$- ATPase by protein kinases belonging to a family dedicated to activation of plasma membrane transporters. Molecular Cell Biology 20:7654–7661
2. Bhaduri, A. M. and Fulekar, M. H. (2012) Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. Reviews in Environmental Science and Bio-Technology 11: 55–69.
3. Chen, M. and Tang, H. Y. and Ma, H. Z. and Holland, T. C. and NgKY, S. et al. (2011) Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. Bioresource Technology 102: 1649–1655.
4. Cheirsilp, B. and Torpee, S. (2012). Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. Bioresour Technology. 110, 510-516.
5. Cuello, J. and Lahora. A. (1993) Chlorophyll degration by free radicals derived from linolenic acid in incubated barley thylakoids. Acta Botany 42: 481-480.
6. Garcia-Arranz, M., Maldonado, A. M., Mazon, M. J. and Portillo, F. (1994) Transcriptional control of yeast plasma membrane $H^+$-ATPase by glucose. Journal Biology chemistry 269: 18076-18082.
7. Zare chavoshi, Z. and Shariati, M. (2019) Lipid production in *Dunaliella salina* under autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic conditions. Biologia 74:1579-1590.

# activity in *Dunaliella salina* The effect of glucose on the $H^+$-ATPase pump

***Authors:Sahar Navidnejad/ Mansour shariati***
*Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Science and biotechnology, University of Isfahan*

**Abstract:**
Unicellular alga *Dunaliella*, belongs to *Chlorophyceae* that lives in the wide range of seas, lakes and salt water and has no cell wall. Most of the time glucose uptake in plants and algae is done by $H^+$ -glucose co-transport carrier, located in the plasma membrane. When glucose was added to the algal medium and plants, the plasma membrane depolarization would happen. Depolarization is the result of entrance proton with glucose by symport transfer. This causes the acidification of cytoplasm and alkalizing of the medium. For better understanding the direct or indirect effect of glucose on the $H^+$-ATPase pump activity, different concentrations of glucose, 20, 40, 8۰ and 120 mM were applied to the alga suspension and pH of the medium was measured. The result showed that by adding the glucose, pH of the medium was reduced and acidified. More detailed analysis showed alkalization of the medium in the first minutes of the experiment followed by acidification in next few hours. It seems that in initial minutes of experiments, followed by adding the glucose, the pH of the medium was alkalified due to uptake of glucose accompanied by $H^+$ by $H^+$ -glucose co-transport. Then, the $H^+$-ATPase pump located in plasma membrane will be activated and causes exit the protons from the cell to the culture to regulate the internal pH, which results in the acidification of the medium. When the activity of $H^+$-ATPase pump was limited and stopped by phosphate starvation, no acidification of the culture occurred. This confirmed that in presence of glucose, the medium acidification is due to activation of $H^+$-ATPase pump. Adding glucose to the culture cause reducing in the cell number as well. This could be due to an increase in reactive oxygen species (ROS) which are able to inactivate the enzymes and damaging the DNA. Unexpectedly, the amount of beta-carotene as a non-enzyme antioxidant is reduced.

**Keywords:,** $H^+$-ATPase pump, Glucose, *Dunaliella salina*, Anti oxidant

# تغییرات فنول کل، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدان گیاه سالیکورنیا در پاسخ به تنش شوری در شرایط هیدروپونیک

*هاجر محبتی نژاد[۱]، امیر حسین فرقانی[*۱]، محمد فظیلتی[۱]*
۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور
Email:Forghani@pnu.ac.ir *

چکیده:
شوری یکی از عوامل مهم در محدودیت رشد گیاهان است. در این تحقیق از گیاه سالیکورنیا به عنوان یک گیاه شورپسند برای بررسی تغییرات برخی آنتی اکسیدانت‌های غیر آنزیمی با توجه به خصوصیات درمانی آن استفاده شد. بدین منظور پس از جوانه زنی، گیاهچه‌های سالیکورنیا با محلول غذایی هوگلند حاوی۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار NaCl آبیاری شد و بعد از گذشت حدود ۷۰-۶۰ روز، به طور تصادفی ۳ تکرار از هر یک از غلظت‌های ۵۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار نمک انتخاب و جهت بررسی و تعیین شاخص های آنتی اکسیدان استفاده شد. بصورت کلی نتایج نشان داد که با افزایش نمک در محیط غلظت فنول کل، آنتیوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانت گیاه به صورت چشمگیری افزایش یافت و بیشترین غلظت ترکیبات فوق در شوری ۴۰۰ میلی مولار نمک مشاهده شد. با توجه به نتایج حاصله به نظر می رسد که گیاه سالیکورنیا خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی دارد که قادر به رشد در چنین شرایطی است و از اینرو استفاده از گیاهان رشد یافته در مناطق شورمی تواند در قدرت سیستم ایمنی بدن مؤثر و سبب افزایش خاصیت دارویی گیاه سالیکورنیا گردد.
کلمات کلیدی: آنتی اکسیدان‌های گیاهی، آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی، *Salicornia persica*

مقدمه

شوری خاک‌های زراعی و آب آبیاری جزو عمده‌ترین عوامل محدود کننده‌ی رشد گیاهان در بیشتر نقاط جهان و از جمله ایران است و اثرات زیان‌باری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد. پاسخ‌های رشد گیاهان به تنش شوری به دو مرحله‌ی پاسخ سریع- مرحله تنش اسمزی- که باعث توقف رشد برگ‌های جوان می‌شود و مرحله‌ی پاسخ کند- مرحله تنش یونی- که مربوط به تسریع پیری برگ‌های بالغ می‌باشد، تقسیم می‌شود.گیاه سالیکورنیا (*Salicornia. persica*) از دسته‌ی گیاهان گلدار، از خانواده‌ی کنوپودیاسه است که گونه‌های متنوعی را شامل می شود و در خاک غیر حاصلخیز و صحرا قابل کشت است و در دسته گیاهان شورپسند قرار می گیرد (Akhani, 2003). ساز و کار اصلی تحمل به شوری در گیاه سالیکورنیا تا حدی رقیق‌سازی نمک با جذب بیشتر آب دریافتی است(Aghaleh et al.2011).در چنین شرایطی استفاده از گونه های گیاهی با قابلیت زیست در مناطق شور و تامین کننده نیازهای انسان خردمند می‌تواند به عنوان یک ابزار مدیریتی موثر برای مقابله با شرایط خاص و بحرانی باشد. همچنین شناخت گونه های شورپسند و درک نحوه مقابله این گیاهان شورپسند برای اصلاح، برنامه ریزی و ایجاد یک الگوی مدیریت صحیح حایز اهمیت است. از طرفی با توجه به روند مطالعات در خصوص ترکیبات موثره دارویی این گیاه، در این مطالعه تغییر برخی از آنتی اکسیدان‌های گیاه سالیکورنیا تحت تنش شوری بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای *S.persica* از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و پس از تایید گونه گیاهی، به منظور استریل کردن، بذرها را به مدت ۱-۲ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار داده و سپس با سدیم هیپوکلراید (۱۵٪) ضدعفونی شدند. پس از سه بار شستشوی بذرها با آب مقطر استریل، به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک پیت‌ماس و کوکوپیت به ترتیب به نسبت ۲ به ۳ و درون گلدان‌ها قرار گرفت. گلدان‌ها در اتاق کشت با دمای۲۰°C± ۲۸ با ۱۶ ساعت روشنایی (44 µmol phot.$m^{-2}$.$s^{-1}$) و هشت ساعت تاریکی قرار گرفت. پس از ٤ روز جهت تیمار شوری هر گلدان با تعداد ۵ نهال یکنواخت، با محلول غذایی هوگلند حاوی۵۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی مولار NaCl آبیاری شدند و هر سه روز یک بار آبیاری گلدان‌ها بر اساس شوری های ذکر شده انجام شد و گیاهان آبیاری شده با ۵۰ میلی مولار نمک به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. بعد از گذشت حدود ۷۰-۶۰ روز، به طور تصادفی ۳ تکرار از هر یک از غلظت‌های ۵۰ و ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی مولار نمک انتخاب و جهت بررسی و تعیین شاخص های رشدی و آنتی اکسیدان استفاده شد. ترکیبات فنلی کل در برگ‌های گیاه با استفاده از واکنشگر فولین (Folin and Ciocalteu) تعیین شد. آنتوسیانین کل بر اساس روش کار واگنر استخراج و اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) به روش (FRAP) انجام شد( Szôllôsi, 2003).

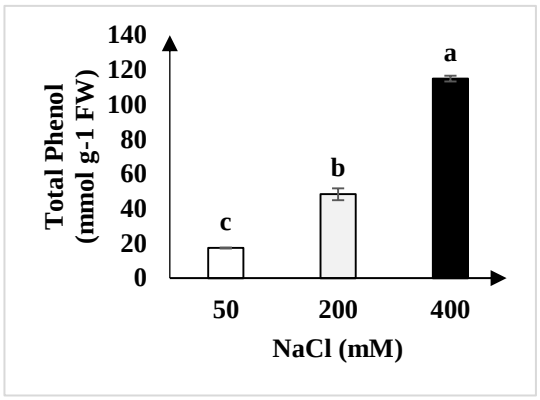
نتایج

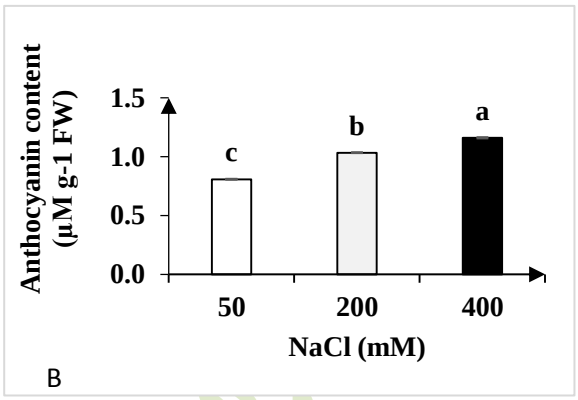
نتایج نشان دادبا با افزایش غلظت نمک، مقادیر ترکیبات فنولی افزایش یافت . به گونه ای که گیاهان تیمار شده با ٤۰۰ میلی مولار NaCl محتوای این ترکیبات بیش از ٥٦۰ درصد افزایش یافت(شکلA – ۱). همچنین گیاهان تیمار شده با ۲۰۰ میلی مولار نمک افزایش در حدود ۱۷۸ درصدی را برای غلظت ترکیبات فنلی نشان داد.بعلاوه غلظت آنتوسیانین با افزایش نمک در محیط افزایش یافت. غلظت آنتوسیانین در گیاهان تیمار شده با ٤۰۰ میلی مولار نمک نسبت به گیاهان شاهد بیش از ٤۳ درصد و نسبت به گیاهان آبیاری شده با ۲۰۰ میلی مولار نمک ۱۲ درصد افزایش داشت.(شکلB – ۱). تغییرات آنتی اکسیدانت کل گیاه سالیکورنیا در پاسخ به تنش شوری نیز قابل توجه بود. با افزایش تنش شوری مقدار کل آنتی اکسیدانت کل بصورت چشمگیری افزایش یافت به گونه ایی که در گیاهان تیمار شده با بیشترین غلظت نمک، بیش از ۳۰۰ درصد افزایش یافت. همچنین در گیاهان تیمار شده با ۲۰۰ میلی مولار نمک محتوای آنتی اکسیدانت کل به۱٤۱ درص افزایش یافت(شکلC – ۱).

بحث

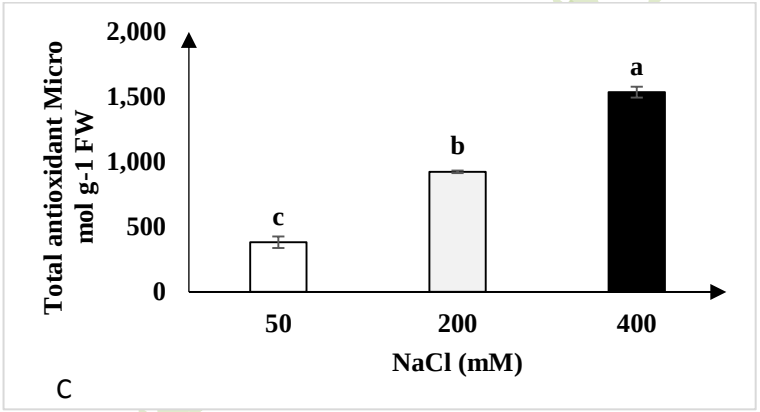
نتایج تحقیق حاضر در جهت درک تاثیر تنش شوری بر خاصیت آنتی اکسیدان گیاه سالیکورنیا صورت گرفت. مشاهدات مزرعه‌ای نشان داده است که رابطه‌ی مستقیمی بین رشد ساقه‌ی گیاه سالیکورنیا با جذب نمک وجود دارد(Aghaleh et al.2011).مطالعاتی در خصوص گونه‌های متفاوت این گیاه همانند *S. persica, S.bigelovii ,S.europaea, S. herbacea, S bigelovii* , و غیره مطالعاتی درر خصوص مرحله جوانه زنی و در شرایط مزرعه ای صورت گرفته است(Akhani 2003). امروزه به‌خوبی آشکارشده است که تنش‌های زیستی مانند شوری، تغییراتی در متابولیسم اولیه و نهایتاً متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها ایجاد می‌نمایند. آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سمیت یون‌ها باعث تخریب رنگیزه‌ها و پروتئین‌های

تیلاکوئیدی و کاهش فتوسنتز می‌شود. سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه نظیر آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها و ترکیبات نیتروژن‌دار از مکانیسم‌های تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی نظیر شوری است(Tuteja et al 2016).در این مطالعه فنل




A




شکل۱- تغییرات درصدی ترکیبات فنولی (A)، آنتوسیانین (B) و آنتی اکسیدان کل (C)در گیاه سالیکورنیا در پاسخ به تنش شوری

کل و آنتوسیانین تحت تیمار شوری نیز افزایش یافت. ظرفیت پاک‌سازی ROS ترکیبات فلاونوئیدی خاص، همانند آنتوسیانین در حالت مشابه بیش از چهار برابر نسبت به ویتامین E و C است و مشخص‌شده است که این ترکیبات در بعضی گونه‌ها نقش بارزتری به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدانت دارند. با توجه به نتایج و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدان کل گیاه سالیکورنیا در پاسخ به تنش شوری، به نظر می رسد *S.persica* خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی دارد احتمالا از نظر دارویی نقش موثری در بالا بردن قدرت سیستم ایمنی بدن ودر پیشگیری و درمان داشته باشد.

فهرست منابع:

Aghaleh, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H. et al. (2011) Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of Salicornia (*S. persica and S. europaea*). Acta Physiol Plant 33, 1261–1270.

Akhani, H.,(2003) Salicornia persica Akhani (Chenopodiaceae), a remarkable new species from Central Iran. Linzer Biologische Beiträge 35.

Tuteja, N. and S. S. Gill,(2016). Abiotic stress response in plants, John Wiley & Sons.

Szôllôsi, R. and I. S. Varga,(2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). *Acta Biologica Szegediensis* 46(3-4): 125-127.

# Changes in total phenol, anthocyanin and antioxidant capacity of *Salicornia* in response to salinity stress under hydroponic culture

*Hajar Mohbatinejad[1], Amir Hossein Forghani[1*], Mohammad Fazilati[1]*
*1-Department of Biology, Payame Noor University, Tehran,Iran*
**Email: Forghani@pnu.ac.ir*

**Abstract**:

Salinity is one of the important factors in limiting plant growth. In this study, *Salicornia* was used as a halophyte plant to study the changes of some non-enzymatic antioxidants in response to salinity stress. After germination, Salicornia seedlings were irrigated with Hoagland nutrient solution containing 50, 200 and 400 mM NaCl. Three replicates of each of 50, 200 and 400 mM NaCl treatment were selected and used to evaluate and determine antioxidant indicators after about 70-60 days. In general, the results showed that the concentration of total phenol, anthocyanin and antioxidant capacity of the plants improved significantly with increasing salt in the medium. The highest concentration of the above compounds was observed in salinity of 400 mM NaCl. According to the results, it seems that *Salicornia persica* has very strong antioxidant properties for growth in hard condition. Therefore, the use of plants grown in saline areas may be effective in strengthening the immune system and increase the medicinal properties of S. persica.

**Key words**: Plant antioxidant, Non-enzymatic antioxidant, *Salicornia persica*

# اثر زمان و نوع محلول‌پاشی بر میزان کاروتنوئید و تانن در گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) تحت تنش خشکی

**ساره خواجه حسینی[1*]، رستم یزدانی بیوکی[2]، محمّدتقی عبادی[3]**

[1*] دانش آموخته دکتری، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

[2] استادیار، مرکز ملی تحقیقات شوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد

[3] استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

sarehkhajahhosseini@gmail.com

**چکیده:**

با هدف ارزیابی اثر زمان و نوع محلول‌پاشی بر میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط تنش خشکی آزمایشی، به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۵-۹۶ به اجرا درآمد. تنش خشکی در سه سطح ۲۵، ۵۰،۷۵ درصد تخلیه آب قابل دسترس گیاه از خاک، به ترتیب شاهد، تنش متوسط، تنش شدید به عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی در چهار سطح آب (شاهد)، کائولین ۲/۵ درصد، کیتوزان ۰/٤ گرم در لیتر، اسیدآمینه گلایسین ۲/۵ در هزار و همچنین زمان محلول‌پاشی (گلدهی، رویشی و گلدهی) به عنوان عامل فرعی بودند. نتایج نشان داد تنش خشکی باعث افزایش میزان کاروتنوئید (۸/۷٦ درصد) و تانن (۷/٦۵ درصد)، نسبت به شاهد شد. در سطح تنش شدید، محلول‌پاشی کائولین در زمان گلدهی با تاثیر روی میزان تانن توانست در مقایسه با سایر تیمارها از جمله شاهد به میزان (۳/۰٦ درصد) در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی زوفا، موثر واقع شود.

**کلمات کلیدی**: آنتی اکسیدان، ترکیبات فنلی، تعرق، محرک‌های زیستی

## مقدمه

تنش خشکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولیدات گیاهی در سیستم‌های کشاورزی محسوب شده (Emam and Zavarehi, 2005) و به صورت تغییر در ساختارهای گیاهی، تغییر در سرعت رشد، پتانسیل اسمزی بافت و دفاع آنتی‌اکسیدانی نمود می‌یابد (Rahbarian *et al.*, 2011). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در گیاهان شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد. ترکیباتی مانند آسکوربات، آلفاتوکوفرول، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی، پرولین و گلوتاتیون که در گروه آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی قرار می‌گیرند (Shahid *et al.*, 2014). کاروتنوئیدها، رنگدانه‌های کمکی در کلروپلاست بوده و تانن‌ها نیز جزو ترکیبات پلی‌فنل طبیعی و مخلوطی از استرهای گلوکز با اسیدگالیک و ۳ -گالویل گالیک‌اسید هستند (Kafi *et al.*, 2009؛ Anonymous,2008). کاستن از شدت تعرق و استفاده از اسمولیت‌ها، از جمله راه‌های مناسب در کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی به شمار می‌آید. کائولین و کیتوزان از جمله مواد ضدتعرق بوده که کائولین حاوی سیلیکات آلومینیوم و کیتوزان که از طریق تجزیه گلوکوزامین حاصل از موجودات دریایی فرآوری شده، جهت کاهش و بهبود اثرات تنش‌های مختلف به کار می‌روند (Rinaudo, 2006; Dzung *et al.*, 2011 ;Saour, 2005). اسیدآمینه گلایسین نیز با ساختار($NH_2$- $CH_2$ –COOH) اسمولیتی

نیتروژن‌دار و آب دوست می‌باشد (خواجه‌حسینی و همکاران، ۱۳۹۹). گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) که حاوی فلاونوئید، تانن و مواد دیگری مانند دیوزمین، هیسوپین و ترکیبات موسیلاژی است، در درمان ناراحتی‌های تنفسی و سرفه، التهاب‌های برونشتی و گرفتگی بینی کاربرد دارد. این گیاه مقاوم به خشکی بوده ولی این گیاه در آغاز رویش همچنین پس از اولین برداشت به آب کافی نیاز دارد (Omidbaigi, 2005). لذا تحقیق حاضر با هدف بهبود سطح تحمل گیاه زوفا به تنش خشکی و بررسی میزان فعالیت آنتی اکسیدان‌های گیاهی موجود در این گیاه، مورد بررسی قرار گرفت.

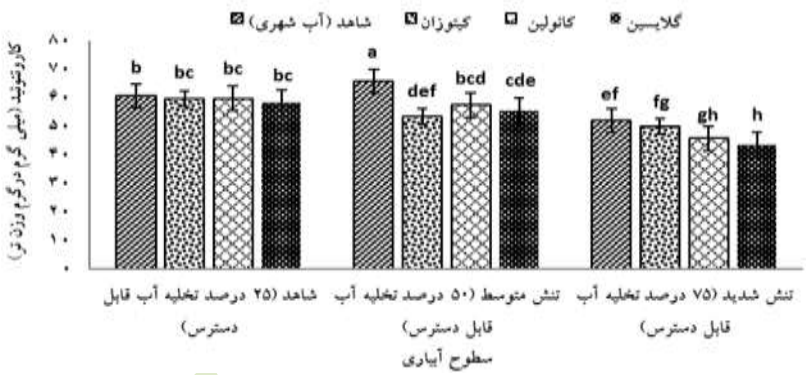
## مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد در سال زراعی ۹۶ –۱۳۹۵، به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنش خشکی در سه سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد تخلیه آب قابل دسترس گیاه از خاک، به ترتیب شاهد، تنش متوسط، تنش شدید) در کرت‌های اصلی و تیمارهای محلول‌پاشی در چهار سطح: آب (شاهد)، کائولین ۲/۵ درصد، کیتوزان ۰/٤ گرم در لیتر، اسیدآمینه گلایسین ۲/۵ در هزار و زمان محلول‌پاشی در دو سطح رویشی، گلدهی و فقط گلدهی درکرت‌های فرعی قرار گرفتند. کاشت به صورت مستقیم و درکرت‌های اصلی انجام گرفت. تنش خشکی پس از استقرار کامل گیاه با افزایش فاصله‌ی دور آبیاری (۷، ۹، ۱۱) و انجام آن بر اساس ثبت رطوبت خاک به وسیله دستگاه TDR صورت گرفت. در زمان گلدهی کامل نمونه‌برداری برگی جهت سنجش آنتی اکسیدان‌ها (کاروتنوئید، تانن) انجام گردید. داده‌ها با نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل و مقایسات میانگین نیز با آزمون LSD در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

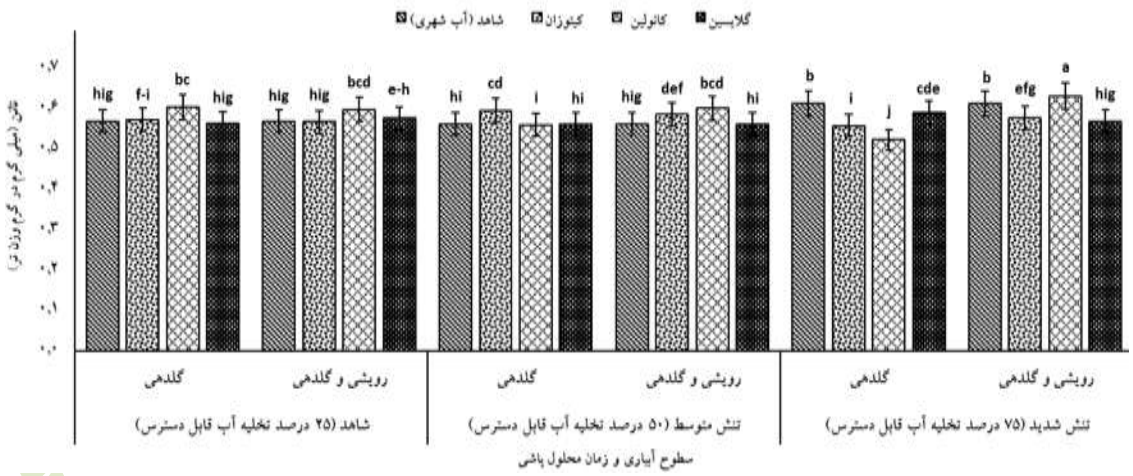
## نتایج و بحث

بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، کاهش آب قابل دسترس گیاه تا سطح تنش متوسط، میزان کاروتنوئید را نسبت به تیمار شاهد، ۸/۷٦ درصد افزایش داد و بیشترین میزان کاروتنوئید در بر همکنش تیمار تنش متوسط و محلول‌پاشی شاهد (٦۵/۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) بدست آمد (شکل ۱). با افزایش تنش خشکی، میزان کاروتنوئیدها نسبت به شاهد ۱٤/۳۸ کاهش یافت. بطور کلی، در جریان تنش خشکی کاروتنوئیدها با گرفتن، انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه و تبدیل اکسیژن یکتایی به ۳ تایی و همچنین با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. کمبود خفیف آب باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها شده، درحالی که کمبود شدید آب کاهش میزان کاروتنوئیدها را در بر خواهد داشت (Munne-Bosch and L. Alegre, 2004). درریحان (افکاری، ۱۳۹٦) افزایش در میزان کاروتنوئید و در بادرشبو (یزدانی بیوکی و خواجه حسینی،۱۳۹۹) نیز کاهش در میزان کاروتنوئید با افزایش کمبود آب گزارش شد. همچنین بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، با کاهش آب قابل دسترس گیاه، میزان تانن نسبت به شاهد، ۷/٦۵ درصد افزایش یافت. همچنین محلول‌پاشی با کائولین در زمان گلدهی، در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بیشترین تاثیر را بر روی میزان تانن داشته، بطوریکه باعث افزایش ۳/۰٦ درصدی صفت مذکور، در مقایسه با تیمار محلول‌پاشی شاهد گردید. بیشترین میزان تانن در بر همکنش تیمارهای تنش شدید و محلول‌پاشی کائولین (۰/٦۳۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در زمان رویشی و گلدهی بدست آمد (شکل ۲). بطور کلی فنل‌ها و ترکیبات فنلی همچون تانن‌ها، گروهی از ترکیبات ثانویه معطر گیاهی بوده که با کاهش میزان آب، روند افزایشی در گیاه دارند (Clifford and Scalbert. 2000). در

پژوهشی مشابه نیز افزایش در میزان تانن‌ها، با بالارفتن شدت تنش خشکی گزارش شد (نظری و همکاران، ۱۳۹۲). از طرف دیگر، افزایش در میزان این ترکیبات را در نتیجه کاربرد کائولین و اثرات مثبت این ماده در افزایش آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) که واکنش مسیر ترکیبات فنلی را کاتالیز می‌کند، می‌توان نسبت داد (Conde *et al.*, 2016). با توجه به نتایج پژوهش حاضر و برتری ماده کائولین در افزایش میزان آنزیم‌های گیاهی همچون تانن‌ها، کاربرد خارجی این ماده در زمان گلدهی گیاهان دارویی تحت تنش کمبود آب، در راستای تحمل به شرایط نامساعد محیطی، می‌تواند به‌عنوان راهکاری مناسب در مناطق با شرایط آب و هوایی گرم و خشک ارائه گردد.




شکل ۱- تاثیر تنش خشکی و نوع محلول‌پاشی بر میزان کاروتنوئید گیاه زوفا




شکل ۲- تأثیر تنش خشکی، زمان و نوع محلول‌پاشی بر میزان تانن گیاه زوفا

**منابع**

افکاری، ا. ۱۳۹٦. تأثیرتنش خشکی ومقادیر کود نیتروژنه برمیزان وعملکرد اسانس برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.). مجله علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۳ (٤): ۱۰۵۹- ۱۰۳۷.

خواجه‌حسینی، س.، فنودی، ف.، طباطبایی، س.ع.، یزدانی بیوکی، ر.، مسعودسینکی، ج. ۱۳۹۹. اثر مواد ضدتعرق و محافظت کننده‌های گیاهی روی عملکرد، صفات رویشی و فیزیولوژیکی زوفا (*Hyssopus officinalis L.*). مجله تولیدات گیاهی، در دست چاپ.

نظری، م.، ذوالفقاری، ر.، فیاض، پ. ۱۳۹۲. میزان تغییرات ترکیبات ثانویهٔ تحت تنش خشکی در نهال‌های بلوط برودار، دارمازو و وی‌ول. نشریه جنگل و فراورده های چوب، مجله منابع طبیعی ایران، ٦٦(۱). ص ١٤-۱.

یزدانی بیوکی، ر.، خواجه حسینی، س. ۱۳۹۹. اثر هم افزایی تنش خشکی و تیمار اسیدآمینه گلایسین بر واکنش‌های ساختاری وآنتی اکسیدانی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*). نشریه تولید گیاهان زراعی. ۱۳(۱): ۱۵۸-۱٤۷.

Anonymous. (2008). Brithish Pharmacopoeia. Vollume II, London, The Stationary Office, 2085. (www. pharmacopoeia.org.uk).

Clifford, M. N. and A. Scalbert. (2000). Ellagitannins: nature, occurrence and dietary burden. J.Sci. Food. Agric. 80(7):1118-1125.

Conde, A., Pimentel, D., Neves, A., Dinis, L., Bernardo, S., M.Correia, C., Geros, H. and Moutinho-Pereira, J. (2016). Kaolin Foliar Application Has a Stimulatory Effecton Phenyl propanoid and Flavonoid Pathways in Grape Berries. Frontiers in Plant Science. 7:1150. doi: 10.3389/fpls.2016.01150.

Dzung, N. A., Phuong Khanh, V. T. and Dzung, T. T. (2011) Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. Carbohydrate Polymer84: 751–755.

Emam, Y., and Zavarehi, M. (2005). Drought tolerance in higher plants (Genetical, Physiological and Molecular Biological Analysis). University of Tehran Press. (In Persian).

Kafi, M., Borzoee, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, J. (2009). Physiology of environmental stresses in plants. Ferdowsi University, Mashhad, Iran, 502 pp.

Munné-Bosch, S., and L. Alegre, (2004), "Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress", Functional Plant Biology, 31 (3):203-216.

Omidbeygi, R. (2005). Production and processing of medicinal plants. Astan Ghods Razavi publication. Mashhad.

Rahbarian, R., Khavari Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A. and Najafi, F. (2011) Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 53: 47-56.

Rinaudo, M.(2006). Chitin and chitosan: properties and application. Progress in Polymer Science, 32: 603- 632.

Saour, G. (2005). Morphological assessment of olive seedling treated with kaolin- based particle film and bistimulant. Advances in Horticultural Science. 20 (1): 1-5.

Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M., and Pinelli, E.(2014). Heavy-metal induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 232: 1-44.

# The Effect of the time and type of the foliar application on carotenoid and tannin content in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under drought stress

**Taghi Ebadi[3]–Sarah Khajeh Hosseini[1], Rostam Yazdani Biouki[2], Mohammad**

*[1]Ph.D.Graduated, Department of Agriculture, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.*
*[2]Assistant Professor, National Salinity Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran*
*[3]Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TMU), Tehran, Iran.*

**Abstract**:

In order to evaluate the effect of time and type of foliar application on the amount of antioxidant enzymes of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under drought stress, a factorial split experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications in 2016-2017. The drought stress included at three levels (25, 50, 75 % of the available water discharge from the soil, respectively, so as the control, middle strees, intense stress as main treatments and foliar application at four levels of water (control), kaolin (2.5%), chitosan (0.4 g/l), glycine amino acid (2.5 per thousand) and foliar application time (vegetative, flowering, just flowering) were considered as subplots. The results showed that drought stress increased the levels of carotenoids (8.76%) and tannins (7.65%) compared to the control. At the level of intense stress, the foliar application with kaolin at the time of flowering with the effect on tannin content could be effective in increasing the antioxidant capacity of hyssop compared to other treatments including control (3.06%).

**Keywords**: Antioxidants, Phenolic compounds, Transpiration, Elicitor

# فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه جو تحت تاثیر کاربرد کود زیستی، بقایای گیاهی و تنش آبی

*وحید براتی*[*1] *و مریم نیازی*[2]

۱- استادیار بخش اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز. *نویسنده مسئول: v.barati@shirazu.ac.ir

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز.

**چکیده:**

به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه جو تحت تاثیر کاربرد کود زیستی، بقایای گیاهی و تنش آبی، این آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها در این پژوهش شامل: دو سطح آبیاری به‌عنوان عامل اصلی [۱- مطلوب: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و ۲- تنش آبی: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا انتهای مرحله‌ی گلدهی] بود. همچنین، عامل‌های فرعی شامل دو سطح بقایای گیاهی [۱- حذف بقایا و ۲- برگرداندن ۳۰ درصد بقایای گیاهی (کاه گندم) به خاک] و چهار منبع کودی [۱- شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن بر هکتار، ۲- کود نیتروژن: کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار ۳- کود تلفیقی: استفاده تلفیقی از باکتری آزوسپیریلوم (*Azospirillum brasilense*) و نیتروژن به مقدار ۵۰ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار و ٤- کود زیستی: تلقیح بذرها با باکتری آزوسپیریلوم] بود. نتایج نشان داد که برهمکنش تیمار بقایا × منبع نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که در شرایط با بقایا نسبت به بدون بقایا، کود نیتروژن و تیمار تلفیقی سبب افزایش بیشتر فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شدند. اثر برهمکنش تیمار رژیم آبیاری × منبع کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که در شرایط مطلوب و تنش رطوبتی، کاربرد کود نیتروژن صرف نظر از منبع آن، سبب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد. البته شدت افزایش در شرایط تنش بیشتر بود. همچنین، فعالیت این آنزیم بواسطه‌ی شرایط تنش در همه تیمارهای کودی افزایش یافت.

**واژه‌های کلیدی**: نیتروژن، فعالیت آنزیم کاتالاز، آنتی‌اکسیدان

## مقدمه

در مناطقی همانند جنوب استان فارس که بارندگی‌ها اکثراً در مرحله رویشی و در زمستان رخ می‌دهد، عملکرد دانه جو به‌طور قابل ملاحظه‌ای توسط تنش‌های آبی در مرحله پرشدن دانه کاهش می‌یابد (براتی و غدیری، ۱۳۹۵). تنش آبی به طور مستقیم بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان را با اختلال روبرو می‌کند. این تنش گونه‌های اکسیژن فعال را در گیاه افزایش می‌دهد و بنابراین پایداری غشاهای سلولی طی فرآیند اکسیداسیون کاهش می‌یابد. این کاهش سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، فتوسنتز و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (Fazeli et al., 2007). گیاهان برای مقابله با تنش آبی مکانیسم‌های دفاعی متنوعی دارند، از جمله اینکه آن‌ها سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را در خود بالا می‌برند. این دو آنزیم به نوعی غیرفعال کننده اکسیژن فعال ایجاد شده به دنبال تنش آبی هستند و افزایش آن‌ها اثرات مخرب تنش را کاهش خواهد داد (Pan et al., 2006). با توجه به کمبود اطلاعات در رابطه با فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه جو تحت تاثیر کاربرد کود زیستی، بقایای گیاهی

و تنش آبی، این پژوهش به بررسی اثرات برهمکنش کود زیستی (آزوسپیریلوم) و بقایای گیاهی در شرایط تنش آبی بر فعالیت آنزیم کاتالاز پرداخته است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب – دانشگاه شیراز در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارها در این پژوهش شامل: دو سطح آبیاری به‌عنوان عامل اصلی [۱- آبیاری مطلوب: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و ۲- کم آبیاری: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا انتهای مرحله‌ی گلدهی] بود. همچنین، عامل‌های فرعی شامل دو سطح بقایای گیاهی [۱- حذف بقایا و ۲- برگرداندن ۳۰ درصد بقایای گیاهی (کاه گندم) به خاک] و چهار منبع کودی [۱- شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن بر هکتار، ۲- کود نیتروژن: کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار به‌صورت اوره (٤٦ درصد نیتروژن) با توجه به آزمون خاک، ۳- کود تلفیقی: استفاده تلفیقی از باکتری آزوسپیریلوم (*Azospirillum brasilense*) و نیتروژن به مقدار نصف نیاز نیتروژنی گیاه (۵۰ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار به‌صورت اوره) و ٤- کود زیستی: تلقیح بذرها با باکتری آزوسپیریلوم)] بود. بذر جو (رقم زهک) در ۲۳ آذر در ردیف‌های به فاصله ۲۵ سانتی‌متر در ٦ خط کاشته شد. جهت اعمال مدیریت بقایا، ۳۰ درصد از بقایای گندم برجای مانده از گیاه زراعی سال قبل در اوایل آبان ماه به کرت‌های مورد نظر افزوده و با خاک مخلوط شدند. باکتری آزوسپیریلوم مورد استفاده در این پژوهش از موسسه تحقیقات خاک و آب (بخش بیولوژی خاک) تهیه گردید. قبل از کاشت بر اساس روش‌های موجود، تلقیح بذرها با باکتری آزوسپیریلوم انجام شد. همچنین، کود نیتروژن در سه مرحله [سه برگچه‌ای (کد زیداکس ۱۳)، پنجه‌زنی (کد زیداکس ۲۳) و ساقه رفتن (کد زیداکس ۳۱)] و به مقدار مساوی بکار رفت. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش (Chance and Maehly, 1955; Aebi, 1984) استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها به روش تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش تیمار بقایا × منبع کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲/۸۳٤ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و کود نیتروژن و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/٥٤٥ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) مشاهده شد (جدول ۱). در مقایسه منابع کود در شرایط بدون بقایا، اگرچه تیمار کود نیتروژن و تلفیقی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، اما باعث افزایش معنی‌داری به ترتیب به میزان ۱۰۸ و ۱۱٤ درصد در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شدند. اما، کاربرد کود زیستی کاهش جزئی و غیر معنی‌داری را نسبت به شاهد به وجود آورد (جدول ۱). در مقابل، در تیمار با بقایا همه منابع کود باعث افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز شدند و برخلاف شرایط بدون بقایا میزان واکنش فعالیت آنزیم کاتالاز به کاربرد کود

نیتروژن – صرف‌نظر از منبع آن – بسیار بیشتر بود. به‌طوری‌که، در کود نیتروژن و تیمار تلفیقی افزایش معنی‌دار و به ترتیب به مقدار ٤٢٠ و ٤١٨ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ١).

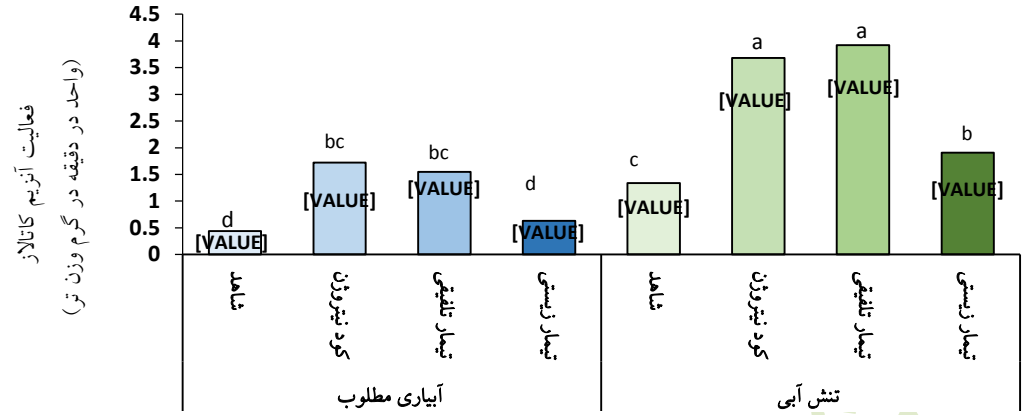
همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش رژیم آبیاری × منبع کود نیتروژن در سطح احتمال ١ درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. در رژیم آبیاری مطلوب، همه منابع کودی فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد افزایش دادند. اما، این افزایش فقط در تیمار کود نیتروژن و تیمار تلفیقی معنی‌دار بود، هر چند که این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. در مقابل، در شرایط تنش آبی تمام منابع کودی فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش دادند. در این شرایط نیز دو تیمار کود نیتروژن و تلفیقی اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (شکل ١). در مقایسه آبیاری مطلوب نسبت به تنش آبی، تنش آبی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط کاربرد کود نیتروژن، تیمار تلفیقی، تیمار زیستی و شاهد به ترتیب به مقدار ١١٤، ١٥٣، ٢٠٣ و ٢٠٥ درصد نسبت به آبیاری مطلوب شد (شکل ١). غشاهای

**جدول ١- برهمکنش بقایا × منبع کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز.**

| بقایا | منبع کود نیتروژن | فعالیت آنزیم کاتالاز ( واحد در دقیقه در گرم وزن تر) |
|---|---|---|
| شاهد£ | | $^{c}$١/٢٣٩ |
| بدون | کود نیتروژن ££ | $^{ab}$٢/٥٧٤ |
| بقایا | کود تلفیقی ¥ | $^{ab}$٢/٦٥١ |
| | کود زیستی ¥¥ | $^{c}$٠/٩٦١ |
| شاهد£ | | $^{c}$٠/٥٤٥ |
| با | کود نیتروژن ££ | $^{a}$٢/٨٣٤ |
| بقایا | کود تلفیقی ¥ | $^{a}$٢/٨٢٣ |
| | کود زیستی ¥¥ | $^{bc}$١/٥٧٥ |

میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ٥ درصد ندارند. £: شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن بر هکتار، ££: کود نیتروژن: ١٠٠ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار، ¥: کود تلفیقی: باکتری آزوسپیریلوم + ٥٠ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار و ¥¥: کود زیستی: باکتری آزوسپیریلوم.

سلولی و اندامک‌ها، اولین محل آسیب به سلول‌ها در شرایط تنش آبی توسط شکل‌های فعال اکسیژن هستند (Schwars et al., 2001). گیاهان برای مقابله با این ترکیبات فرآیندهایی را در خود توسعه داده‌اند که به‌طورکلی به‌عنوان فرآیند دفاع آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند. آنزیم کاتالاز نقش جاروب کننده رادیکال سوپر اکسید و تبدیل آن به آب و اکسیژن را به عهده دارد. افزایش فعالیت این آنزیم تحت شرایط تنش آبی باعث افزایش مقاومت گیاه شده و از کاهش رشد و عملکرد گیاه جلوگیری می‌کند (حسن‌پور و همکاران، ١٣٩٤).




**شکل ۱– اثر برهمکنش رژیم آبیاری × منبع کود بر فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد درون ستون‌ها مقدار عددی هر میانگین را نشان می‌دهند.**

## فهرست منابع:


براتی، و. و غدیری، ح. (۱۳۹۵) اثرات تنش خشکی و کود نیتروژن بر عملکرد، اجزاء عملکرد و محتوای پروتئین دانه دو رقم جو. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ٦ (۲۰): ۲۰۷-۱۹۱.

حسن‌پور، ک.، احمدی، ج.، دانشیان، ج. وحاتمی، ص. (۱۳۹٤) بررسی تغییرات میزان کلروفیل، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گندم دوروم تحت تنش خشکی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۷ (۱۵) :۸۷-۷٦.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidase. Methods Enzymology 2: 764-775.

Fazeli, F., Ghorbanli, M. and Niknam, V. (2007) Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. Biologia Plantarum. 51(1): 98-103.

Pan, Y., Wu, L. J. and Yu, Z. L. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant Growth Regulation. 49: 157-165.

Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L. R., Gardner, P. T., Heinonen, M. I., Hopia, A., & Tijburg, L. (2001). Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. European food research and technology. 212(3): 319-328.

# Catalase enzyme activity as affected by bio-fertilizer, crop residues and water stress

***Barati, V.*** [*1] ***and Niazi, M.***[2]

1. *Assistant Professor, Agro-Ecology Dept., Faculty of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University,* [*] *Corresponding Author: v.barati@shirazu.ac.ir*
2. *Master's degree Student, Agro-Ecology Dept., Faculty of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University*

**Abstract**

In order to investigate the effects of bio-fertilizer, crop residue and water stress on catalase enzyme activity, this study was conducted at Shiraz University. A split factorial experiment in a randomized complete block design were carried out with three replicates. Treatments included: two levels of irrigation as the main plots [normal irrigation ($IR_N$): irrigation based on the plant's water requirement up to the physiological maturity and another factor was deficit irrigation ($IR_{DI}$): irrigation based on the plant's water requirement up to the anthesis stage]. Also, sub plots were two levels of crop residues [1. without residue, 2. returning 30% of wheat residues to soil] and four N fertilizer sources [$N_0$, no nitrogen fertilizer (control); $N_{100}$, 100 kg N $ha^{-1}$; Bio + $N_{50}$, bio-fertilizer (*Azospirillum brasilense*) + 50 kg N $ha^{-1}$ and Bio, bio-fertilizer (*Azospirillum brasilense*)]. The interaction of crop residue × N source on catalase enzyme activity trait showed that the $N_{100}$ and Bio + $N_{50}$ treatments significantly increase catalase enzyme activity as compared with the $N_0$ with more intensity in crop residues treatment as compared to without crop residues treatment. The irrigation regime × N source interaction on the catalase enzyme activity showed that the application of N fertilizer - regardless of its source - increased the activity of this enzyme under both irrigation regimes with more intensity in $IR_{DI}$. Also, water stress increased the catalase enzyme activity in all N sources.

**Keywords:** Antioxidant, Catalase enzyme activity, Nitrogen

# اثر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید روی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana*)

**مهدی خدمتکار[۱]، حبیب شیرزاد[۱*]، ابوالفضل علیرضالو[۱]، راحله طهماسبی[۲]**

[۱] *گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه*

[۲] *گروه شیمی تجزیه جهاد دانشگاهی استان آذربایجان غربی، اورمیه*

hshirzad1354@yahoo.com *

**چکیده:**

عروسک پشت پرده به دلیل خواص تغذیه‌ای مرتبط با ویتامین‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خواص دارویی به شدت مورد توجه قرار گرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه عروسک پشت پرده در شرایط هیدروپونیک صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطوح سدیم نیتروپروساید، میزان فلاونوئید کل افزایش اما فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در غلظت‌های بالا کاهش پیدا کرد. بیشترین فلاونوئید کل در تیمار ۱۵۰ میکرومولار و بیشترین فعالیت آنتی-اکسیدانی و فنول کل در تیمار ۵۰ میکرومولار مشاهده شد. نتایج در کل نشان داد که کاربرد برگی سدیم نیتروپروساید به عنوان یک تنظیم کننده رشدی در گیاه عروسک پشت پرده تاثیر مثبت و مهمی در بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه این گیاه داشت.

**کلمات کلیدی**: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنل کل، فیسالیس.

## مقدمه

عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana* L.) از خانواده سولاناسه، گیاهی گرمسیری و بومی جنوب آمریکا می‌باشد که واریته-های زیادی از آن در سراسر جهان وجود دارد. این میوه به دلیل خواص تغذیه‌ای مرتبط با ویتامین‌ها، مواد معدنی، خاصیت آنتی-اکسیدانی بالا، خواص ضدالتهابی، ضدتنش و خواص دارویی به شدت مورد توجه قرار گرفته است. این محصول منبع بسیار خوبی برای پیش‌ساز ویتامین آ، ویتامین ث و تا حدودی ویتامین ب بوده و سرشار از عناصر معدنی فسفر، آهن، پتاسیم و روی است (سنگین‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۸). محمدی و همکاران (۱۳۹۷)، بیان کردند که کاربرد برگی سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فنل کل در گیاه سرخارگل در مقایسه با شاهد شد. در میوه سیب کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب افزایش آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، فنولیک اسیدها و فلاونوئیدها شد (Ge et al., 2019). با توجه به ارزش بالای غذایی، آنتی‌اکسیدانی و دارویی میوه عروسک پشت پرده، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه عروسک پشت پرده در شرایط هیدروپونیک صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی** : در راستای بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه عروسک پشت پرده در شرایط کشت گلخانه‌ای، آزمایشی با طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) بود.

**فنل کل:** اندازه‌گیری ترکیبات فنولی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو صورت گرفت. بلنک به عنوان شاهد و اسید گالیک به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس اسید گالیک ترسیم و نتایج با استفاده از معادله آن محاسبه و به صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم وزن تر میوه گزارش شدند (Du et al., 2009).

**فلاونوئید کل:**برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل از روش Shin و همکاران (۲۰۱٤) با کمی تغییر استفاده شد. مقدار فلاونوئید کل براساس معادله آن محاسبه شده و بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد.

**اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش**DPPH

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH ، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی نمونه را در یک لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH از قبل آماده شده اضافه شد. محلول حاصل تکان داده شده و در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه‌داری شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ٥١٦ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای تهیه بلنک نیز به روش بالا عمل کرده و به جای عصاره از متانول ۸۰ درصد استفاده شد (Nakajima et al., 2004).

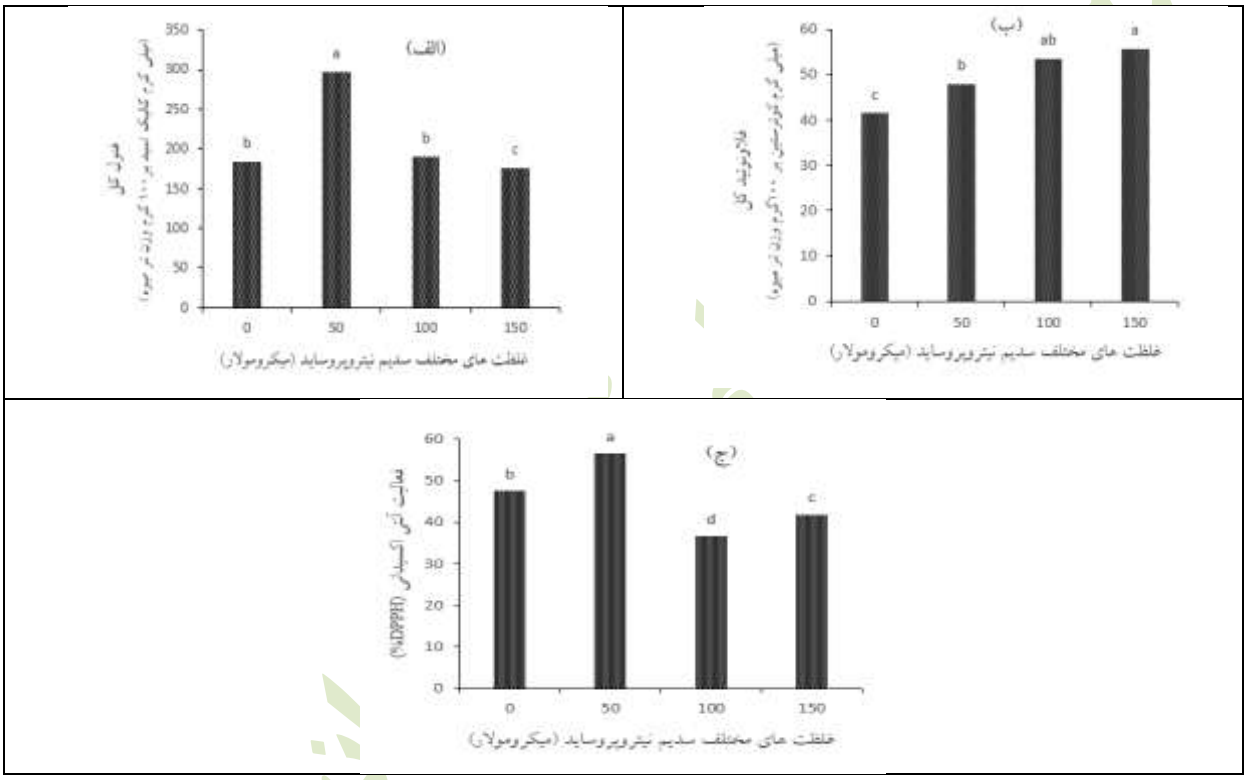
## نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد برگی غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید بر فنل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان فنول کل میوه در غلظت ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید افزایش یافت اما غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید فنول کل میوه را کاهش داد. نیتریک اکسید با افزایش فتوسنتز خالص سبب افزایش مواد قندی می‌شود، به طوری که افزایش مواد قندی مستقیما باعث افزایش ترکیبات فنولی می‌شود (Hayat et al., 2011). دلیل کاهش ترکیبات فنولی در اثر نیتریک اکسید می‌تواند به خاطر غلظت بالای استفاده از این ترکیب باشد، به طوری که مطالعات نشان می‌دهد غلظت بالای نیتریک اکسید سبب تولید رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو می‌شود و به دنبال آن ترکیبات فنولی با دادن الکترون خود به آنزیم‌های پراکسیداز و خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن در این فرآیند مصرف شده و میزان آن‌ها کاهش می‌یابد (Sakihama et al., 2002).

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد برگی غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید بر فلاونوئید کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطوح سدیم نیتروپروساید، میزان فلاونوئید کل میوه روند افزایشی داشت. مطالعات نشان داده است که نیتریک اکسید با تاثیر بر بیان ژن‌های کد کننده‌ی چالکون سنتاز و چالکون ایزومراز می‌تواند سبب افزایش ترکیبات فلاونوئیدی بشود (Tossi et al., 2011).

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد برگی غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطوح سدیم نیتروپروساید، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه در غلظت ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید افزایش یافت اما غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰

میکرومولار سدیم نیتروپروساید میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه را کاهش داد. افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی در اثر نیتریک اکسید می‌تواند به خاطر تحریک بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند: کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز باشد (اصغری و همکاران، ۱۳۹۷). کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر نیتریک اکسید می‌تواند به خاطر تنشی باشد که در اثر غلظت بالای نیتریک اکسید به گیاه وارد شده است. تنش همواره با تولید رادیکال‌های آزاد همراه است، بنابراین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد در این پروسه مصرف می‌شوند و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تقلیل پیدا می‌کند (Zhu et al., 2008).




شکل ۱-

**فهرست منابع:**

**اصغری، م.، غفاری، ه. و فرخزاد، ع. ۱۳۹۷.** تغییر خواص کیفی میوه‌ی سیب رقم رد دلیشیز در پاسخ به کاربرد پس از برداشت اسید سالیسیلیک و نیتریک اکسید. فناوری تولیدات گیاهی، ۱۸(۱): ۱۰۷-۱۲٤.

سنگین‌آبادی، س.، علیرضالو، ا.، رضاپورفرد، ج.، نوروزی، پ. و انصاری، ا. ۱۳۹۸. تاثیر نسبت‌های مختلف نیتروژن به پتاسیم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی میوه فیسالیس (*Physalis peruviana*) در شرایط کشت گلخانه‌ای. مجله پژوهش‌های میوه‌کاری، ٤(۱): ۷۰-۸۲.

محمدی، م.، اسدی صنم، س.، رامنه، و.، گرامی، م. و خوش روز، م. ۱۳۹۷. اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل[*Echinaceae purpurea* (L.) Moench] تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۷ (۲۳): ۱۲۴-۱۳۹.

Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. Food Chemistry, 113(2): 557-562.

Ge, Y., Chen, Y., Li, C., Zhao, J., Wei, M., Li, X., Yang, S. and Mi, Y. 2019. Effect of sodium nitroprusside on shikimate and phenylpropanoid pathway of apple fruit. Food Chemistry, 290: 263-269.

Hayat, S., Yadav, S., Wani, A. S., Irfan, M. and Ahmad, A. 2011. Nitric oxide effects on photosynthetic rate, growth, and antioxidant activity in tomato. International Journal of Vegetable Science, 17(4): 333-348.

Nakajima, J. I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K. 2004. LC/PDA/ESI- MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. Journal of Biomed Biotechnol, 5: 241-247.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. Toxicology, 177(1): 67-80.

Shin, S. W., Ghimeray, A. K. and Park, C. H. 2014. Investigation of total phenolic, total flavonoid, antioxidantand allyl isothiocyanate content in the different organs of *wasabi Japonica* grown in an organic system. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 3(11): 38-45.

Tossi, V., Amenta, M., Lamattina, L. and Cassia, R. 2011. Retracted: Nitric oxide enhances plant ultraviolet-B protection up-regulating gene expression of the phenylpropanoid biosynthetic pathway. Plant cell and environment, 34(6): 909-921.

Zhu, S., Sun, L., Liu, M. and Zhou, J. 2008. Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88(13): 2324-2331.

## Effect of foliar application of sodium nitroprusside on antioxidant and phytochemical characteristics of physalis (*Physalis peruviana*)

***Mehdi Khedmatkar[1], Habib Shirzad[*,1], Abolfazl Alirezalu[1], Rahele Tahmasebi[2]***
*[1]Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,*
*[2]Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia, Iran*

**Abstract**:
Gooseberry (Physalis) is one of the most important medicinal plants that widely used for dealing with hepatitis, malaria, rheumatism, cancer, dermatitis and asthma in most of developed countries. In order to investigate the effect of different concentrations of sodium nitroprusside on antioxidant and phytochemical characteristics, this research was conducted as a pot experiment. Treatments consisted of 4 different concentrations of sodium nitroprusside, including 0 (control), 50, 100, and 150 µM in three replications. Results showed that different concentrations of sodium nitroprusside had significant effects on antioxidant and phytochemical traits of physalis. The best treatment for improvement of (total phenol and antioxidant activity) and flavonoid contents was observed at concentration of 50 and 150 µM, respectively. Therefore, application of appropriate concentrations of sodium nitroprusside as a growth regulator can improve the antioxidant activity and phytochemical traits of pot physalis fruits.
**Keywords:** Antioxidant capacity, Flavonoid, phenol, Physalis.

# اثر محلول‌پاشی نانوکودپتاسیم روی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana*)

**مهدی خدمتکار[۱]، حبیب شیرزاد[۱*]، ابوالفضل علیرضالو[۱]، راحله طهماسبی[۲]**

[۱] *گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه*

[۲] *گروه شیمی تجزیه جهاد دانشگاهی استان آذربایجان غربی، اورمیه*

hshirzad1354@yahoo.com *

**چکیده:** عروسک پشت پرده به دلیل خواص تغذیه‌ای مرتبط با ویتامین‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خواص دارویی به شدت مورد توجه قرار گرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف نانو کود پتاسیم (۰، ۲، ٤ و ٦ گرم بر لیتر) بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه عروسک پشت پرده در شرایط هیدروپونیک صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطوح پتاسیم، میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH افزایش پیدا کرد. بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل در تیمار ٦ گرم بر لیتر و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ٤ گرم بر لیتر مشاهده شد. نتایج در کل نشان داد که کاربرد برگی نانو کود پتاسیم به عنوان یک عنصر مهم در تغذیه معدنی گیاه عروسک پشت پرده تاثیر مثبت و مهمی در بهبود شاخص های آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه این گیاه داشت.

**کلمات کلیدی**: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنل کل، فیسالیس.

## مقدمه

عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana* L.) از خانواده سولاناسه، گیاهی گرمسیری و بومی جنوب آمریکا می‌باشد که واریته-های زیادی از آن در سراسر جهان وجود دارد. این میوه به دلیل خواص تغذیه‌ای مرتبط با ویتامین‌ها، مواد معدنی، خاصیت آنتی-اکسیدانی بالا، خواص ضدالتهابی، ضدتنش و خواص دارویی به شدت مورد توجه قرار گرفته است. این محصول منبع بسیار خوبی برای پیش‌ساز ویتامین آ، ویتامین ث و تا حدودی ویتامین ب بوده و سرشار از عناصر معدنی فسفر، آهن، پتاسیم و روی است (سنگین‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۸). حسینی و همکاران (۱۳۹۸) اظهار داشتند که کاربرد برگی سوربات پتاسیم منجر به افزایش معنی‌دار فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در توت فرنگی در مقایسه با شاهد شد. در نارنگی ماندارین، کاربرد سولفات پتاسیم میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد (Nasir et al., 2016). با توجه به ارزش بالای غذایی، آنتی‌اکسیدانی و دارویی میوه عروسک پشت پرده، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف نانو کود پتاسیم بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه عروسک پشت پرده در شرایط هیدروپونیک صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی** : در راستای بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی میوه عروسک پشت پرده در شرایط کشت گلخانه‌ای، آزمایشی با طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف نانو کود پتاسیم (۰، ۲، ٤ و ٦ گرم بر لیتر) بود.

**فنل کل:** اندازه‌گیری ترکیبات فنولی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو صورت گرفت. بلنک به عنوان شاهد و اسید گالیک به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس اسید گالیک ترسیم و نتایج با استفاده از معادله آن محاسبه و به صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم وزن تر میوه گزارش شدند.(Du et al., 2009)

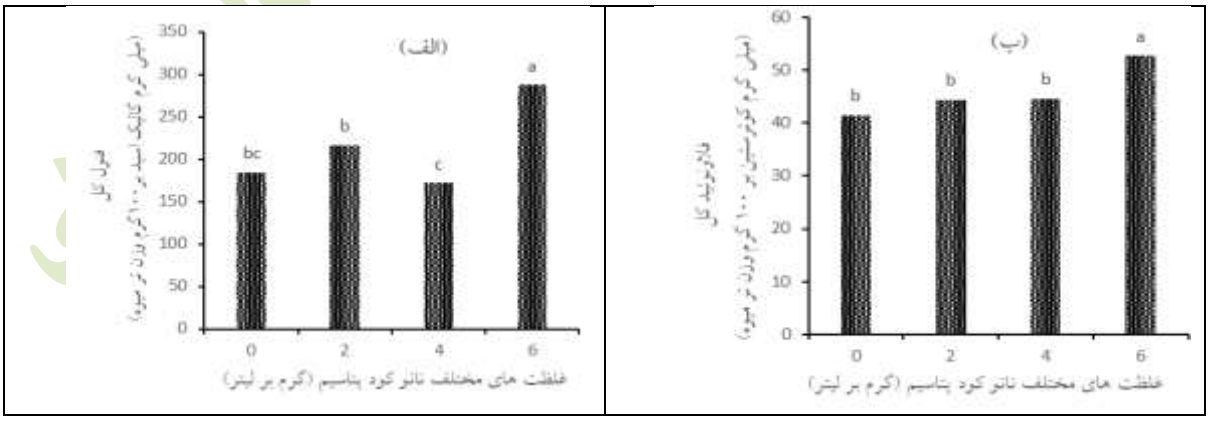
**فلاونوئید کل:** برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل از روش Shin و همکاران (۲۰۱٤) با کمی تغییر استفاده شد. مقدار فلاونوئید کل براساس معادله آن محاسبه شده و بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد.

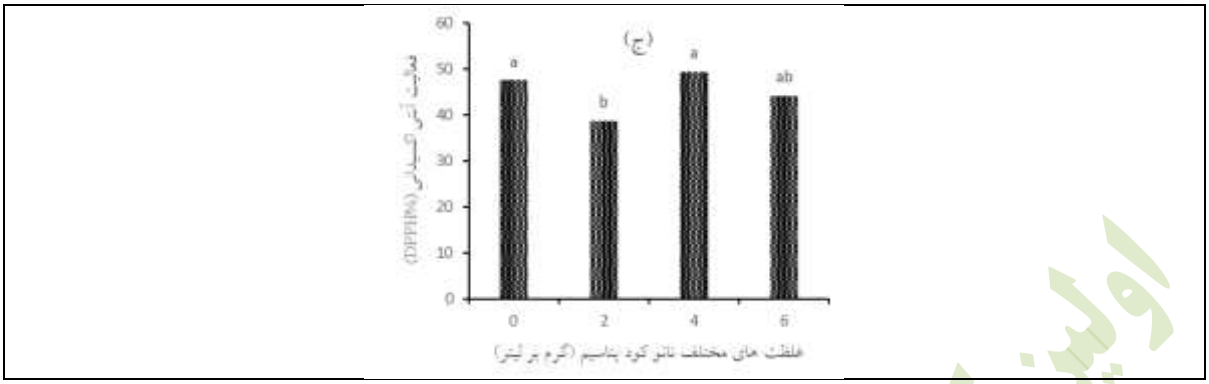
**اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش**DPPH : برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روشDPPH ، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی نمونه را در یک لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH از قبل آماده شده اضافه شد. محلول حاصل تکان داده شده و در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه‌داری شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ٥١٦ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای تهیه بلنک نیز به روش بالا عمل کرده و به جای عصاره از متانول ۸۰ درصد استفاده شد.(Nakajima et al., 2004)

## نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد برگی غلظت‌های مختلف نانو کود پتاسیم بر فنل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطوح پتاسیم، میزان فنول کل میوه در تیمار ۲ و ٦ گرم بر لیتر پتاسیم نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده بود. پتاسیم با تخصیص کربن اضافی به مسیر شیکمیک اسید موجب افزایش فتوسنتز خالص در گیاه شده و به دین طریق سبب افزایش محصولات فتوسنتزی می‌شود. (Soares et al., 2005).

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد برگی غلظت‌های مختلف نانو کود پتاسیم بر فلاونوئید کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطوح پتاسیم، میزان فلاونوئید کل میوه روند افزایشی داشت. پتاسیم از طریق تاثیر بر فتوسنتز و متابولیسم ترکیبات کربنی که خود اساس تشکیل متابولیت‌های ثانویه می‌باشند، سنتز فلاونوئیدها را افزایش می‌دهند (Haukioja et al., 1998).






**شکل ۱ -**

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد برگی غلظت‌های مختلف نانو کود پتاسیم بر فعالیت آنتی-اکسیدانی کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش پتاسیم باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه در غلظت ٤ گرم بر لیتر پتاسیم شده است. دلیل آن می‌تواند به خاطر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل: سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز باشد (Waraich et al., 2011).

**فهرست منابع:**

**حسینی، ف.، امیری، م. ا. و رضوی، ف. ۱۳۹۸.** بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتوسیانین میوه توت فرنگی رقم آروماس با استفاده از لاکتات کلسیم و سوربات پتاسیم. فصل‌نامه تولیدات گیاهی، ٤٢(٤): ٤٥٥–٤٦٨.

**سنگین‌آبادی، س.، علیرضالو، ا.، رضاپورفرد، ج.، نوروزی، پ. و انصاری، ا. ۱۳۹۸.** تاثیر نسبت‌های مختلف نیتروژن به پتاسیم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی میوه فیسالیس (*Physalis peruviana*) در شرایط کشت گلخانه‌ای. مجله پژوهش‌های میوه‌کاری، ٤(١): ٧٠–٨٢.

Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. Food Chemistry, 113(2): 557-562.

Haukioja, E., Ossipov, V., Koricheva, J., Honkanen, T., Karsson, S. and Lempa, K. 1998. Biosynthetic origin of carbon based secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization. Chemoelogy, 8: 133-139.

Nakajima, J. I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K. 2004. LC/PDA/ESI- MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. Journal of Biomed Biotechnol, 5: 241–247.

Shin, S. W., Ghimeray, A. K. and Park, C. H. 2014. Investigation of total phenolic, total flavonoid, antioxidantand allyl isothiocyanate content in the different organs of *wasabi Japonica* grown in an organic system. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 3(11): 38-45.

Soares, A. G., Trugo, L. C., Botrel, N. and da Silva Souza, L. F. 2005. Reduction of internal browning of pineapple fruit (*Ananas comusus* L.) by preharvest soil application of potassium. Postharvest Biology and Technology, 35(2): 201-207.

Waraich, E. A., Ahmad, R., Saifullah, M. Y. and Ashraf, E. 2011. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. Australian Journal of Crop Science, 5(6): 764-777.

# Effect of foliar application of nano potassium on antioxidant and phytochemical characteristics of physalis (*Physalis peruviana*)

***Mehdi Khedmatkar[1], Habib Shirzad[*,1], Abolfazl Alirezalu[1], Rahele Tahmasebi[2]***
*[1]Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,*
*[2]Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia, Iran*

**Abstract**:
Gooseberry (Physalis) is one of the most important medicinal plants that widely used for dealing with hepatitis, malaria, rheumatism, cancer, dermatitis and asthma in most of developed countries. In order to investigate the effect of different concentrations of nano potassium on antioxidant and phytochemical characteristics, this research was conducted as a pot experiment. Treatments consisted of 4 different concentrations of nano potassium, including 0 (control), 2, 4, and 6 g $L^{-1}$ in three replications. Results showed that different concentrations of nano potassium had significant effects on antioxidant and phytochemical traits of physalis. The best treatment for improvement of phytochemicals (total phenol and flavonoid contents) and antioxidant activity was observed at concentration of 6 and 4 g $L^{-1}$, respectively. Therefore, application of appropriate concentrations of nano potassium can improve the antioxidant activity and phytochemical traits of pot physalis fruits.

**Keywords:** Antioxidant capacity, Flavonoid, phenol, Physalis.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر تغییر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز در خیار تحت شرایط بیماری پژمردگی فوزاریومی

*مسلم زارع[۱و۲]، قربانعلی نعمت زاده[۱و۲]، سید کمال کاظمی تبار[۱]، علی دهستانی[۲*]، ولی اله بابایی زاد[۱]*

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری؛ ایران ۲- پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، ساری، ایران

نویسنده مسئول: a.dehestani@gmail.com

چکیده

به منظور ارزیابی کارایی سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل به تنش زیستی در گیاه خیار، گیاهچه های خیار با غلظت ۳ میلی مولار سالیسیلیک اسید تیمار شده و میزان تغییرات فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز را در آنها تحت بیمارگر فوزاریوم اکسیسپوروم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که اولاً تیمار سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاهان تیمار نشده، توانست فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش، و فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز را کاهش دهد و این تغییر (کمی و کیفی) خصوصیات بیوشیمیایی درونی گیاه همراه با بهبود رشد و نمو گیاه بوده است. دوم اینکه پس از مایه‌زنی فوزاریوم به گیاه خیار، روند و شدت تغییرات فعالیت این آنتی اکسیدان‌های آنزیمی درون گیاه در گیاهان شاهد و گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید تفاوت قابل ملاحظه ای داشت و این همراه با کاهش احتمال وقوع بیماری و کاهش تلفات ناشی از آن در گیاه و در نتیجه بهبود مقاومت به بیماری گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید نسبت به گیاهان شاهد بوده است. در گیاهان مایه‌زنی زنی شده با فوزاریوم، گیاهانی که با سالیسیلیک اسید پیش تیمار شده بودند در مقایسه با گیاهان پیش تیمار نشده، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با شدت بیشتری کاهش یافت و فعالیت آنزیم فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز افزایش یافت و در نهایت فعالیت هر سه آنزیم در گیاهانی پیش تیمار شده با سالیسیلیک اسید بیش از شاهد بود.

**کلمات کلیدی:** سالیسیلیک اسید، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز، فوزاریوم.

مقدمه

پیش تیمار گیاهان با القاگرها (الیسیتورها) تحریک کننده آبشاری از وقایع از جمله تغییر رشد و نمو و فعالیت‌های دفاعی میزبان در مقابل بیماری و افزایش توانایی آنها در مقابله با حمله بعدی بیماری می‌شود که همه نتیجه خصوصیات بیوشیمیایی گیاه از جمله تغییر محتوی و یا فعالیت آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی هستند (آسادا، تالبی و همکاران، ۲۰۱۵؛ نادر نژاد و همکاران، ۲۰۱۲؛ زارع و همکاران، ۲۰۱۸). وقتی گیاهانی که از قبل با القاگر پیش تیمار شده باشند، توسط یک پاتوژن آلوده شوند، پاسخ‌های تدافعی سریع‌تر و قاطعانه‌تر فعال می‌شوند (گلنر و کونرات، ۲۰۰۸). بنابراین می‌توان القاگرها را به عنوان جایگزین سموم دفع آفات و امراضی متعارف، که اغلب برای محیط زیست، کشاورزان و مصرف کنندگان مضر هستند، بکار برد.

مطالعه قبلی ما (زارع و همکاران، ۲۰۱۸) نشان داد که پیش تیمار سالیسیلیک اسید ضمن افزایش رشد و نمو گیاه در شرایط طبیعی می‌تواند با کاهش احتمال وقوع بیماری و کاهش تلفات ناشی از سرایت بیماری مقاومت گیاه به بیماری را بهبود بخشد و از طرف

دیگر این تغییرات همراه با تغییر بیان برخی ژن‌ها و محصولات ژنی بود. بنابراین، در این مطالعه سعی شد اثر پیش تیمار این القاگر بر تغییرات کمی و کیفی دیگر آنتی اکسیدان‌های دفاعی درونی خیار (*Cucumis sativus* L.) شامل میزان فعالیت آنزیم-های آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز را تحت شرایط طبیعی و همچنین تحت مایه‌زنی *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی در مقابل شرایط طبیعی به عنوان شاهد بررسی و ارتباط آن با تغییرات صفات ظاهری گیاه و میزان مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی را استخراج کنیم با این هدف که به احتمال زیاد تحت این اثر متقابل سه جانبه القاگر–گیاه–پاتوژن تغییراتی در محتوای متابولیتی گیاه ایجاد خواهد که اثر آن در نمود جنبه‌های مختلف از جمله رشد و نمو گیاه تحت شرایط مختلف طبیعی و سرایت بیماری بروز خواهد کرد و نتیجه این آزمایش راهبردی در ارتقاء شناخت پاسخ بیوشیمیای گیاهی و عملکرد هر کدام از متابولیت‌های ثانویه تحت آزمایش یا ترکیب آنها تحت شرایط مختلف و وظیفه هر کدام از متابولیت‌ها در رشد و نمو گیاه و مقاومت آنها به بیماری‌های گیاهی تحت شرایط متفاوت ایجاد خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد و روش های مورد استفاده در این آزمایش به تبعیت از مواد و روش‌های مطالعه قبلی (زارع و همکاران، ۲۰۱۸) انجام شد. همچنین برای اندازه گیری تغییرات فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز به ترتیب **بر اساس روش‌های ناکانو و آسادا (۱۹۸۱)، هاپکینز و تودهو (۱۹۷۳) و آرورا و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد.**

نتایج:

با تیمار سالیسیلیک اسید میزان فعالیت APx در گیاهان شاهد افزایش یافت (شکل ۱ الف)، میزان فعالیت GPx ابتدا افزایش و سپس تا انتهای دوره کاهش یافت و در انتهای دوره مجدداً تمایل به افزایش نشان داد (شکل ۱ ب) و میزان فعالیت آنزیم GR در اغلب آزمایشات کاهش یافت (شکل ۱ پ). بنابراین در شرایط عادی، تغییرات میزان فعالیت APx (بخصوص در انتهای دوره) رابطه مستقیم با میزان رشد داشت لیکن تغییرات فعالیت آنزیم GPx و GR رابطه معکوس با میزان رشد گیاهان داشت.

با مایه‌زنی پاتوژن سطح فعالیت آنزیم APx در گیاهان شاهد و تیمار $SA^{+}Fu^{+}$ با نرخ متفاوت افزایش و سپس کاهش یافت طوری که در انتهای دوره آزمایش سطح فعالیت آن در گیاهان تیمار $SA^{+}Fu^{+}$ بیش از گیاهان شاهد بود (شکل ۱ ت). بنابراین سطح اولیه فعالیت آنزیم APx، شدت کاهش آن و سطح نهایی آن پس از مایه زنی فوزاریوم در کاهش تلفات حاصل از سرایت بیماری و کاهش احتمال وقوع بیماری و همچنین نمود بیوماس تولیدی گیاه مهم است.

با مایه‌زنی پاتوژن سطح فعالیت آنزیم GPx در شاهد تغییر چندانی نشان نداد یا اندکی کاهش یافت ولی در تیمار $SA^{+}Fu^{+}$ در اواسط دوره افزایش و در انتها کاهش یافت **(شکل ۱ ث)**. بنابراین به نظر می رسد سطح نهایی فعالیت GPx در طول دوره پس از مایه‌زنی فوزاریوم ارتباط مستقیم با میزان رشد و ارتباط معکوسی با احتمال وقوع بیماری و میزان تلفات داشت. همچنین به نظر می رسید پس از مایه‌زنی فوزاریوم، هر قدر شدت کاهش سطح فعالیت آنزیم GPx کمتر باشد، احتمال وقوع بیماری و تلفات ناشی از آن کمتر بود.

با مایه‌زنی پاتوژن سطح فعالیت آنزیم GR در شاهد کاهش و در تیمار $SA^+$ افزایش یافت **(شکل ۱ ج)**. بنابراین به نظر می رسد سطح فعالیت آنزیم GR پس از مایه‌زنی فوزاریوم ارتباط معکوسی با احتمال وقوع بیماری و میزان تلفات ناشی از آن داشت و در تیماری که بیشترین فعالیت این آنزیم را نشان داد، کمترین احتمال وقوع بیماری و تلفات مشاهده شد.

مباحث و خلاصه نتایج

بیماری پژمردگی فوزاریومی یک بیماری مخرب محصولات زراعی از جمله گیاهان خانواده کدوئیان است که تا کنون روش‌های (شیمیایی، زراعی و غیره) مختلفی برای کنترل این بیماری ارائه شده که چندان مؤثر نبوده است. به علاوه امروزه اغلب تحقیقات در مورد کنترل بیماری‌های گیاهی روی روش‌های دوستدار طبیعت مثل استفاده از مواد بیوکنترل طبیعی متمرکز شده است. القای مکانیسم‌های دفاعی گیاه به عنوان یک روش مؤثر کنترل بیماری‌های گیاهی است که در مقابل طیف وسیعی از بیماری‌های گیاهی کارآمد است و مقاومت دراز مدت ایجاد می‌کند. مطالعه محققان قبلی نشان داده که پیش تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود رشد و نمو گیاه خیار تحت شرایط طبیعی و بهبود مقاومت گیاه به بیماری ناشی از پاتوژن *Fusarium oxysporum* f. sp. racidis cucumerinum (FOC) می‌شود. در این مطالعه تغییرات محتوای متابولیکی درون گیاه بررسی و هم وقوعی آنها با رشد گیاهان و کارآیی آنها در کاهش بروز علائم و خسارت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار بررسی گردید.

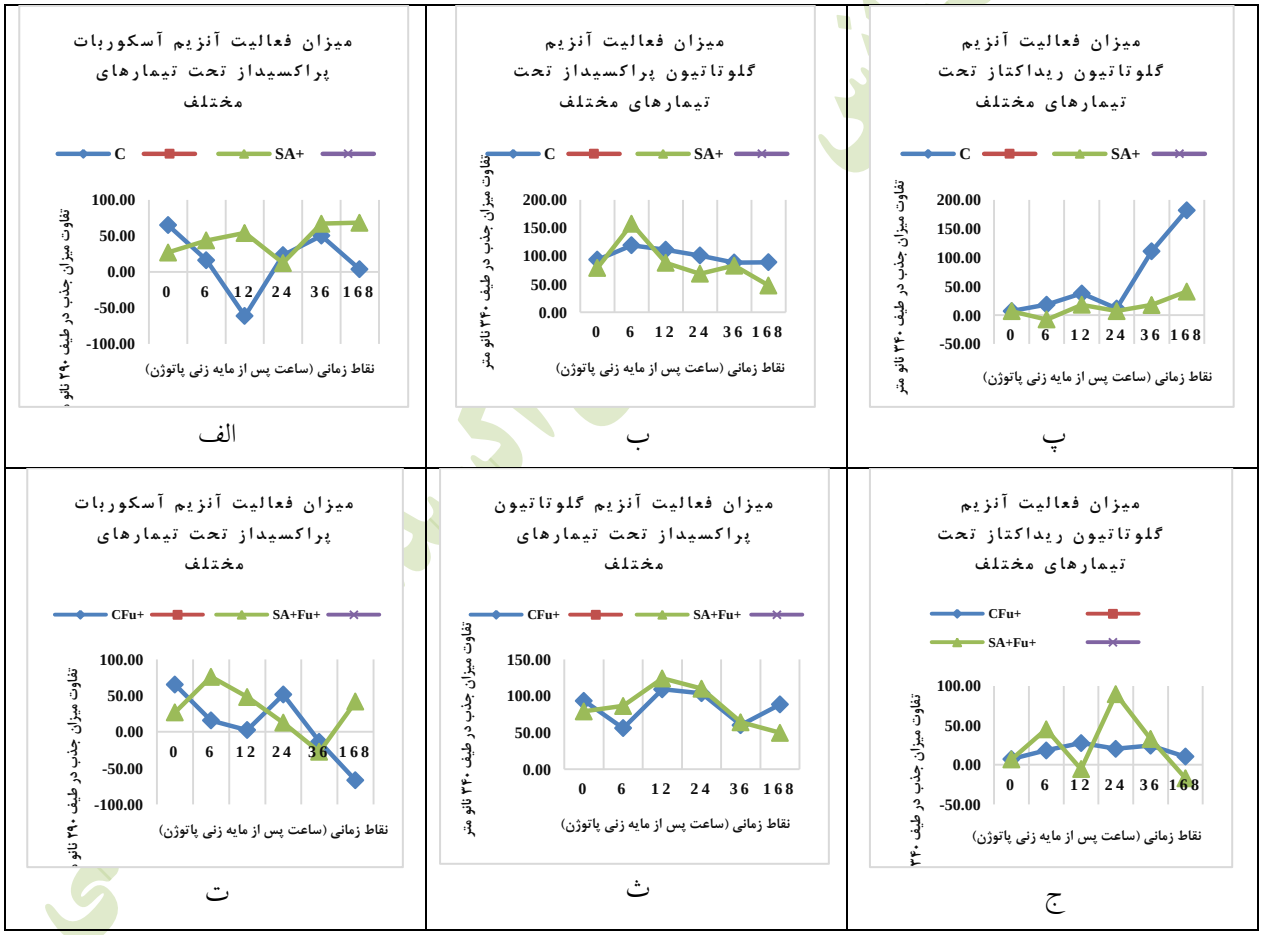
آنزیم APx یک آنزیم از چرخه آسکوربات-گلوتاتیون است که از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش‌های زیستی و محیطی محافظت می‌کند (چاولا و همکاران، ۲۰۱۳؛ فویر و نوکتور، ۲۰۱۱) و گزارشات متعددی در مورد نوسانات فعالیت APx در شرایط طبیعی و در طول تعامل بین گیاهان و پاتوژن‌ها وجود دارد (گایوسو و همکاران، ۲۰۰٤؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۵).

در آزمایشات ما مشخص شد میزان فعالیت APx (بخصوص در انتهای دوره) رابطه مستقیم با میزان رشد داشت. پس از مایه‌زنی فوزاریوم فعالیت آنزیم APx در تیمار $SA^+$ کاهش و در گیاهان شاهد حساس افزایش یافت لیکن سطح فعالیت نهایی آنها کمتر از گیاهان تیمار $SA^+$ بود که تلفات و علائم بیماری کمتری نشان دادند. بنابراین، به نظر می رسید پس از مایه زنی فوزاریوم نیز سطح اولیه فعالیت آنزیم APx، شدت کاهش فعالیت آن و در نهایت سطح نهایی فعالیت این آنزیم با میزان تلفات حاصل از سرایت بیماری و احتمال وقوع بیماری رابطه منفی داشته باشد (شکل ۱ الف و ت).

گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) نیز یک عضو از آنزیم‌های آنتی اکسیدان اولیه است که برای زندگی در همه سلول‌های در حال متابولیسم اکسیژن مورد نیاز است (سساراتو و همکاران، ۲۰۰٤). سطح بیان این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، غلظت درون سلولی انواع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تعیین می‌کند و نقش مهمی در ترمیم خسارات ناشی از ROS و حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو بازی می‌کند (ژاکوب و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعه حاضر، در کل به نظر می‌رسد تغییر فعالیت GPx تحت تیمارهای مختلف رابطه معکوسی با رشد و نمو و تولید بیوماس گیاه داشته باشد اگر چه در برخی آزمایشات مشاهده شد که افزایش اندک فعالیت GPx تا یک آستانه معین رابطه مستقیم با میزان رشد داشته باشد. همچنین پس از مایه زنی فوزاریوم هر چه شدت کاهش سطح فعالیت آنزیم GPx کمتر باشد و در نتیجه سطح فعالیت بیشتری نشان دهد، احتمال وقوع بیماری و تلفات ناشی از آن نیز کمتر بود. بنابراین، سطح نهایی فعالیت GPx در طول دوره پس از مایه‌زنی فوزاریوم ارتباط مستقیم با میزان رشد و ارتباط معکوسی با احتمال وقوع بیماری و میزان تلفات داشت. (شکل‌های ۱ ب و ث).

گلوتاتیون رداکتاز (GR) یک فلاوپروتئین[5] است که در بسیاری از بافت‌های حیوانی و گیاهی وجود دارد (کریستین و همکاران، ۱۹۷۶) و جزیی از مسیر آسکوربات–گلوتاتیون (asa - GSH) است که در تنظیف ROS و فعالیت‌های دفاعی گیاه سهیم هست. بسیاری از محققان تغییرات در فعالیت GR را در موقعیت‌های مختلف بررسی و نشان داده‌اند که فعالیت این آنزیم تحت شرایط استرس افزایش می‌یابد، اگرچه برخی از آن‌ها نیز کاهش فعالیت GR را گزارش کرده‌اند (ملونی و همکاران، ۲۰۰۳؛ زای و همکاران، ۲۰۱۹). نتایج این آزمایش نشان داد که، فعالیت GR با تیمار $SA^+$ تغییر نکرد. با مایه‌زنی فوزاریوم فعالیت این آنزیم در شاهد و به خصوص تیمار $SA^+$ در اغلب نقاط زمانی با شدت متفاوت افزایش یافت و سطح نهایی آن ارتباط مستقیم با سطح مقاومت و میزان رشد گیاه داشت و ارتباط معکوس با احتمال وقوع بیماری و تلفات ناشی از آن داشت (شکل پ و ج).

بنابراین، با توجه به تغییرات مشاهده شده چنین نتیجه گرفته می‌شود که فعالیت و محتوای آنزیم های مختلف در نمود گیاه دخیل هستند و در کل ترکیب‌های متفاوتی از این آنزیم‌ها (از نظرکمیت و کیفیت) می‌تواند پاسخ فیزیولوژیک مشابهی را نشان دهد.




5 flavoprotein

**شکل ۱- نمودار تغییرات فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (APx)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و گلوتاتیون ریداکتاز (GR) در گیاه خیار تحت تیمارهای سه میلی مولار سالیسیلیک اسید (SA3)، الف، ب و پ- بدون مایه‌زنی فوزاریوم، ت، ث و ج- با مایه‌زنی فوزاریوم**

# The effect of salicylic acid on the activity of ascorbate peroxidase, glutathione peroxidase and glutathione reductase enzymes in cucumber plants under Fusarium wilt stress

***M. Zaare[1,2], G. Nematzadeh[1,2], S. K. Kazemitabar[1], A. Dehestani[2*] and V. Babaeizad[3]/ *Corresponding author: A. Dehestani[2*]***

*1Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, 578, Sari, Iran*

*2Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran*

*3 Department of Plant protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, 578, Sari, Iran*

**Corresponding author's e-mail address: a.dehestani@sanru.ac.ir*

**Abstract**

In order to evaluate the efficacy of salicylic acid in increasing biotic stress tolerance, cucumber seedlings were treated with 3 mM salicylic acid and the changes in the activity of ascorbate peroxidase, glutathione peroxidase and glutathione reductase enzymes was assessed after Fusarium oxysporum infection. The results showed that first, salicylic acid treatment compared to control plants, could increase the activity of ascorbate peroxidase, and reduce the activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase, and this change (quantitative and qualitative) biochemical properties of the plant It has been associated with improving plant growth and development. Second, after inoculation of Fusarium with cucumber, the trend and intensity of changes in the activity of these enzymatic antioxidants in the plant in control plants and plants treated with salicylic acid were significantly different, and this is accompanied by a reduction in the risk of disease and The resulting losses in the plant and thus improved the disease resistance of plants treated with salicylic acid compared to control plants. In plants inoculated with F. oxysporum, the activity of ascorbate peroxidase in plants treated with salicylic acid was decreased more sharply than that of control plants, while the activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase was increased. Finally, the activity of all three enzymes in plants pretreated with salicylic acid was higher than the control.

**Key words**: salicylic acid (SA), Ascorbate peroxidase (APx), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione reductase (GR), Fusarium.

# بررسی اثرات سیتوتوکسیک و آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه مریم نخودی شیرازی ( *Teucrium persicum*) بر سلول های ملانومای سرطانی A-375

*آناهیتا نعیمی، مجید تفریحی* [*]*، مریم مهاجرانی*

*گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، مازندران، ایران*

m.tafrihi@umz.ac.ir*

**چکیده**

: جنس *Teucrium* متعلق به خانواده Lamiaceae و زیرگروه Ajugoideae می باشد که حدود ۳۰۰ گونه را در بر میگیرد و چند گونه آن بومی ایران هستند. **گیاه** *Teucrium persicum* یک گیاه بومی ایران است که در پزشکی سنتی جهت تسکین سردرد و درد های شکمی مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیتی عصاره‌ی متانولی *T. persicum* بر سلول های A-375 می باشد. نتایج آزمایش MTT نشان داد که عصاره‌ی *T. persicum* به طور قابل توجهی حیات سلول های A-375 ($IC_{50}$) برای ۲٤و ٤۸ ساعت به ترتیب برابر با ۳٦/۱۳ و ۱۳ میکروگرم بر میلی لیتر) را کاهش داد. علاوه بر این، نتایج این مطالعه نشان داد که مقدار قابل توجهی فنول در این عصاره موجود است. این نتایج نشان می دهد که *T. persicum* ،گیاهی است که دارای فعالیت ضدسرطانی و آنتی اکسیدانی بسیار بالا می باشد.

**کلمات کلیدی:** ملانوما، مریم نخودی شیرازی ، سلول های A-375، ضدسرطان ، MTT ، فنول تام

**مقدمه**

استفاده از ترکیبات فیتو کمیکال به عنوان عوامل درمانی سابقه طولانی دارد. چندین گزارش نشان می دهد که برخی از این ترکیبات دارای فعالیت ضد سرطانی هستند و برخی از آنها از جمله وین بلاستین، وین کریستین، دوکسوروبیسین، توپوتکان و غیره، مستقیماً یا پس از تغییرات شیمیایی از نظر بالینی به عنوان داروهای ضد سرطان استفاده می شوند (کراگ و نیومن، ۲۰۰۵؛ هو و همکاران، ۲۰۱۲).

جنس *Teucrium* یک تیره بزرگ و چندشکلی است که از خانواده Lamiaceae و زیرگروه Ajugoideae است ( استانکوویچ و همکاران، ۲۰۱۱؛ رنجبر و همکاران، ۲۰۱۸). این جنس شامل بیش از ۳۰۰ گونه است که به طور گسترده در اروپا، استرالیا، آمریکا، آفریقا، جنوب غربی و جنوب شرقی آسیا و منطقه مدیترانه توزیع می شوند ( امیرغفران و همکاران، ۲۰۱۰؛ میری و همکاران، ۲۰۱۲؛ رویترز[6] و همکاران، ۲۰۱٦ ).

گیاه *T. persicum* یک گیاه بومی ایران است که در استان فارس رشد می کند (میری و همکاران، ۲۰۱۲). نام محلی آن Marve-talkh است و در پزشکی سنتی جهت تسکین سردرد و درد های شکمی مورد استفاده قرار می گیرد (منصف اصفهانی و همکاران، ۲۰۱۰؛ میری و همکاران، ۲۰۱۲). چندین مطالعه برای شناسایی ترکیب شیمیایی انجام شده است و فعالیت های آنتی اکسیدانی اسانس های *T. persicum* را نشان می دهد ( منصف اصفهانی و همکاران، ۲۰۱۰؛ میری و همکاران، ۲۰۱۲). هدف از این مطالعه، بررسی اثرات سیتوتوکسیتی و آنتی اکسیدانی عصاره‌ی متانولی *T. persicum* بر سلول های A-375 می باشد.

[5] Ruiters

**مواد و روش ها**

رده های سلولی A-375 از دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خریداری شد.

میزان۲۰ میکرو گرم از عصاره *T. persicum* در ۰/٤ میلی لیتر از متانول حل شد تا استوک ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آید. در آزمایش MTT، $٤\times١٠^{٣}$سلول های A-375 در پلیت ۹٦ خانه کاشته شد. پس از تیمار سلول ها با غلظت های مختلف عصاره متانولی *T. persicum* (۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به مدت ٢٤ و ٤٨ ساعت، محیط کشت برداشته شد و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر چاهک اضافه شد. سه ساعت بعد، محلول MTT با ۱۰۰ میکرولیتر DMSO جایگزین شد و میزان جذب در ۵۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (BioTek، آمریکا) خوانده شد. مقادیر $IC_{50}$ با استفاده از نرم افزارگرافپد پریسم ورژن ۸,۰,۲ .محاسبه شد. تمام آزمایش ها در سه تکرار انجام شد.

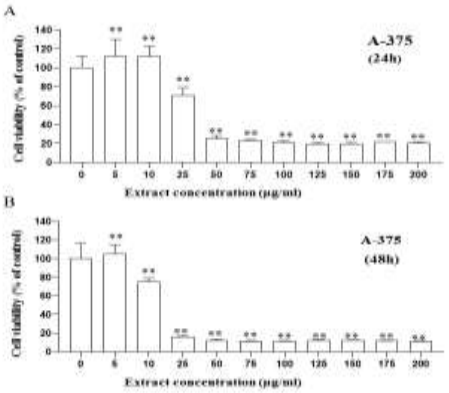
جهت ارزیابی میزان مقادیر فنول کل موجود در عصاره از روش فولین سیوـ کالتو (FCR) استفاده شده است. مقدار لازم عصاره که حاوی ٤۰۰ میکروگرم عصاره ی خشک است را در میکروتیوب قرار داده و با آب مقطر به حجم ۱/٦ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین به آن افزوده و مخلوط شد. پس از طی ۳ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۷٪ به آن افزوده و در نهایت بعد از گذشت ۲ ساعت، با استفاده از الایزا ریدر جذب نمونه ها در طول موج ۷٦۰ نانومتر تعیین گردید. از آب مقطر به عنوان شاهد و از گالیک اسید (۳۰میلی گرم) به عنوان استاندارد در غلظت های مختلف استفاده شد.

**نتایج و بحث:**

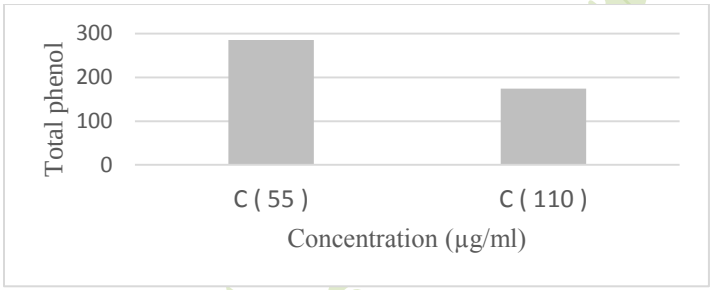
برای ارزیابی اثر مهاری عصاره متانولی *T. persicum* بر حیات سلول های A-375، سلول ها با غلظت های مختلف عصاره به مدت ٢٤ و ٤٨ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند و با استفاده از روش MTT، حیات سلول تعیین شد. مقادیر $IC_{50}$ عصاره *T. persicum* برای سلول های A-375، به ترتیب برابر با ۳٦/۱۳ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱۳ میکروگرم بر میلی لیتر برای ٢٤ و ٤٨ ساعت محاسبه شد. نتایج آزمایش MTT به ما نشان داد که عصاره متانولی گیاه *Teucrium persicum* از پتانسیل بالایی در کاهش حیات سلول های A-375 برخوردار است(شکل ۱). بنابراین ممکن است یک ترکیب در عصاره *Teucrium persicum* وجود دارد که برای سلول های A-375 بسیار سمی است یا ممکن است اثرات هم افزایی یا افزایشی بین دو یا چند ترکیب از عصاره وجود داشته باشد که فعالیت سیتوتوکسیک سلولی قوی را نشان می دهد(اسکندری و همکاران، ۲۰۰۷؛ استانکوویچ و همکاران، ۲۰۱۱). به عنوان مثال، نشان داده شده است که ترکیب پترواستیلبن[۷] و کوئرستین[۸] به طور موثر از رشد متاستاتیک ملانومای بدخیم B16 جلوگیری می کند (فرر[۹] و همکاران، ۲۰۰۵).

نتایج سنجش میزان فنل تام عصاره متانولی *T. persicum* نشان داد که در غلظت های ۵۵ و ۱۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر از این عصاره، مقادیر فنل به ترتیب ۲۸٤/۹ و ۱۷۳/۹ میلی گرم گالیک اسید محاسبه شد (شکل۳).

[1]Pterostilbene
[2]Quercetin
[3]Ferrer




شکل ۱. تیمارسلول های A-375 با غلظت های مشخص شده عصاره متانولی *T. persicum* به ترتیب به مدت ۲٤ (A) و ٤٨ ساعت (B).




شکل ۳. نمودار سنجش میزان فنل تام عصاره متانولی *T. persicum*

اثر آنتی اکسیدانی عمدتا به دلیل ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و دی ترپن های فنولی است. گونه های جنس *Teucrium* غنی از ترکیبات فنولی با فعالیت بیولوژیکی بسیار قوی هستند(استانکوویچ و همکاران، ۲۰۱۱). فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی در تعامل بین انواع مختلف ژن ها و آنزیم ها در بسیاری از مکانیسم های مولکولی برای جلوگیری از سرطان نقش مهمی دارند که شامل مهار رادیکال های آزاد، غیرفعال سازی مواد سرطان زا، ضد تکثیر، توقف چرخه سلولی، القای آپوپتوز، مهار رگ زایی، آنتی اکسیدانی و مقاومت برگشتی داروهای متعدد یا ترکیبی از این مکانیسم ها است (چینمبیری و همکاران، ۲۰۱٤؛ فورمن تاکزک و همکاران، ۲۰۱٦).

مطالعه ی این تحقیق نشان داد که *T. persicum* می تواند به عنوان یک کاندیدای مناسب برای داروهای ضدسرطانی باشد. مطالعات بیشتر و آنالیز شیمیایی ترکیبات موجود در عصاره گیاه *T. persicum* قطعا به شناسایی ترکیب یا ترکیبات موثر این گیاه در مهار سلول‌های سرطانی کمک شایانی می‌کند.

**منابع:**

Amirghofran, *Z.*, Zand, *F.*, Javidnia, *K.*, Miri, R. (2010) The Cytotoxic Activity of Various Herbals against Different Tumor Cells: An in Vitro Study. Iranian Red Crescent Medical Journal. 12(3):260-265.

Chinembiri, T.N. et al. (2014) Review of Natural Compounds for Potential Skin Cancer Treatment. Molecules. 19: 11679-11721.

Cragg, G.M. and Newman, D.J. (2005) Plants As A Source Of Anti-cancer Agents. Ethnopharmacology. 100: 72-90.
Ferrer, P. et al. (2005) Association between Pterostilbene and Quercetin Inhibits Metastatic Activity of B16 Melanoma. Neoplasia. 7(1):37-47.
Furman-Toczek, D. et al. (2016) A review of selected natural phytochemicals in preventing and treating malignant skin neoplasms. Journal of Pre-Clinical and Clinical Research. 10(2):127-130.
Hu, W. et al. (2012) Plants Against Cancer: A Review on Natural Phytochemicals in Preventing and Treating Cancers and Their Druggability. National Institutes of Health. 12(10):1281-1305.
Miri, *A.*, Monsef-Esfahani, *H.*, Amini, *M., et al*.(2012) Comparative Chemical Composition and Antioxidant Properties of the Essential Oils and Aromatic Water from *Teucrium persicum* Boiss. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 11 (2):573-581.
Monsef-Esfahani, H.,Miri,A.,Amini,M,et al. (2010) Seasoanl Variation in the Chemical Composition,Antioxidant Activiy and Total Phenolic Content of Teucrium persicum Boiss. Essential Oils. Research Journal Biological Sciences. 5(7):492-498.
Ranjbar, *M.*, Mahmoudi,*C.*, Nazari,*H*.(2018) An overview of chromosomal criteria and biogeography in the genus *Teucrium* (Lamiaceae). Caryologia. 71(1):63-79.
Ruiters, A.K. *et al*.(2016) The anatomy, ethnobotany, antimicrobial activity and essential oil composition of southern African species of *Teucrium* (Lamiaceae). South African Journal of Botany. 102:175-185.
Skandary, H., and Skandary, M. (2007) Evaluation of Cytotoxic Effect of Teucrium polium on a new Glioblastoma Multiforme Cell line (REYF-1) Using MTT and Soft Agar Clonogenic Assays. International Journal of Pharmacolgy. 3(5):435-437.
Stankovic, *M.*, Curcic, *M.*, Zizic, *J. et al*.(2011) Teucrium *Plant Species as Natural Sources of Novel Anticancer Compounds: Antiproliferative, Proapoptotic and Antioxidant Properties.* International Journal of *Molecular Sciences*. 12(7):4190-4205.

## Studying the Cytotoxic and Antioxidant Effects of *Teucrium persicum* on A-375 Melanoma Cancer Cells

***Anahita Naeimi, Majid Tafrihi, Maryam Mohadjerani***
Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Mazandaran, Iran
* *m.tafrihi@umz.ac.ir*

**Abstract**
*Teucrium* genus belongs to the Ajugoideae subfamily and the Lamiaceae family, which includes about 300 species and a few of them are Iranian endemic. *Teucrium persicum* is an endemic plant of Iran, which is used in traditional medicine for relieve headache and abdominal pains. The purpose of this study is to investigate the cytotoxicity and antioxidant effects of methanolic extract of *T. persicum* on A-375 cells. The results of MTT assay showed that *T. persicum* extract significantly reduced viability of A-375 cells ($IC_{50}$ = *36.13 and 13*µg/ml for 24 and 48 hours respectively). In addition, The results of this study showed that the high amount of phenol exist in the extract. these results suggest that *T. persicum* is a plant with very high anticancer and antioxidant activity.

**Key words**: Melanoma, *T. persicum*, A-375 cells, Anti-cancer, MTT, Total phenol

# اثر کاربرد PGPR و قارچ میکوریزا بر میزان آنتی اکسیدان های بادرنجبویه *(Melissa officinalis L.)*

**فاطمه محمدی کامزدی**

*دانشجوی دکترای دانشگاه اصفهان*

Fatemehmohammadi4336@gmail.com

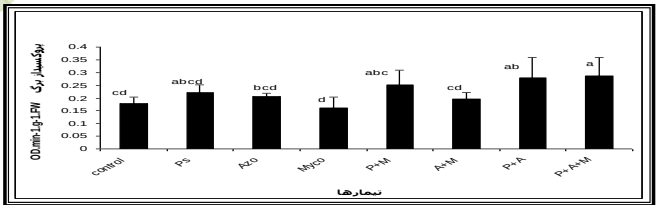
**چکیده:**

باکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) کلون کننده ریشه هستند که رشد میزبان را تحریک می کنند. مایکوریزا آربسکولار ا رشد گیاه را بهبود می می بخشد. جهت بررسی تاثیرمایه تلقیح سودوموناس فلورسنس ،آزوسپریلوم براسیلنه و قارچ همزیست مایکوریزا آربسکولاربر میزان آنزیم های آنتی اکسیدانی گیاه دارویی بادرنجبویه آزمایشی در کشت گلدانی در مرکز تحقیقات ساری در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی وبا چهارتکرار انجام شد. تیمارها شامل:(A) *fluorescent Pseudomonas* ، ( B) *Azospirillum brasilense* ، ( C) *Arbuscular mycorrhiza* ،A+B+C،A+B،B+C،A+C وشاهد بودند. این تحقیق نشان داد تیمار گیاه با باکتری های محرک رشد گیاه و قارچ مایکوریزا آربسکولارباعث افزایش میزان آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود می توان به پاسخ گیاه به حمله باکتری های نامبرده به عنوان یک تنش زیستی نسبت داد.

کلمات کلیدی:آنزیم های آنتی اکسیدانی ، پراکسیداز،کاتالاز ،پلی فنل اکسیداز ،مایکوریزا،باکتری های محرک رشدگیاه،بادرنجبویه

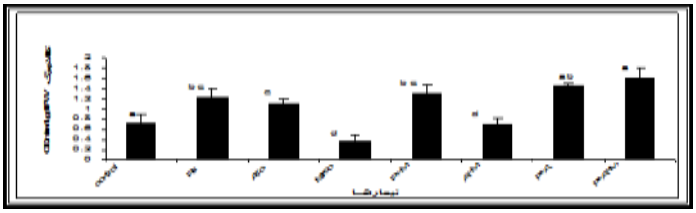
**مقدمه:** ریزوباکتریهای محرک رشد گیاه که به طور طبیعی در خاک ریزوسفری وجود دارند، میکروارگانیسم هایی اند که ریشه های گیاهان را کلون کرده و رشد آن را تحریک می کنند. . قارچ مایکوریزا آربسکولار[10]، در بیشتر جوامع طبیعی، فراوان و منحصر به فرد است و می تواند با بیش از ۸۰ درصد گیاهان آوندی ارتباط داشته باشد. (Per Roos & Jacobsen .2008; Smith. 2009and Phosri et al. 2010 )

**مواد و روش کار:**- تهیه مایه تلقیح سویه مختلف باکتریهای جنس آزوسپریلوم،سودوموناس وقارچ مایکوریزا از مرکز تحقیقات ساری - تلقیح بذور بادرنجبویه بامایه تلقیح.- اجرای طرح بلوک کامل تصادفی در ٤تکرارتیمارهای آزمایش شامل انواع کودهای بیولوژیک رایج ،از جمله: تیمارهای آزمایش شامل:(A )سودوموناس فلورسنس ،(B ) آزوسپریلوم براسیلنه ،(C ) مایکوریزا آربسکولار ،A+B+C،A+B،B+C،A+C وشاهد بودند.- محاسبات آماری نمونه ها درقالب ۸ تیمار با ٤ تکرار صورت گرفت.مقایسه میانگین داده ها با استفاده از روش دانکن و مراحل تنظیم متن ورسم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم افزار Excell،Spss،Word انجام شد.

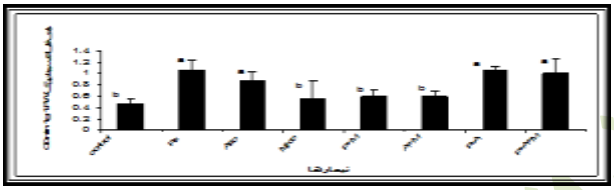



**شکل** :۱- تاثیر PGPR ومایکوریزا آربسکولار،به صورت مجزا وترکیبی،بر میزان فعالیت پراکسیداز برگ در گیاه بادرنجبویه

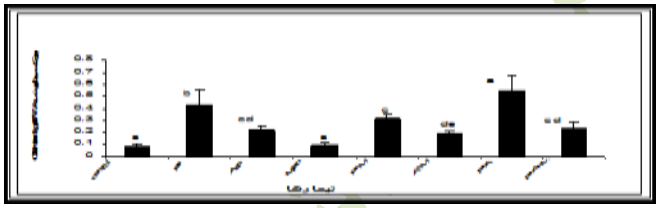
[10] Arbuscular myccorhhiza



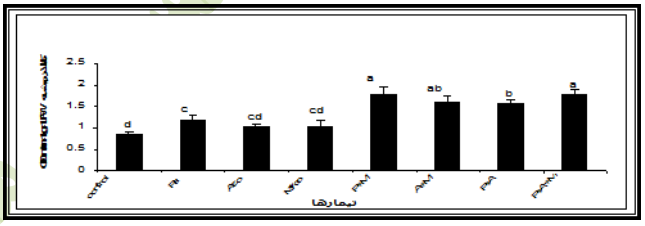
شکل ۲- تاثیر **PGPR** ومایکوریزا آربسکولار،به صورت مجزا وترکیبی،بر میزان فعالیت کاتالاز برگ در گیاه بادرنجبویه



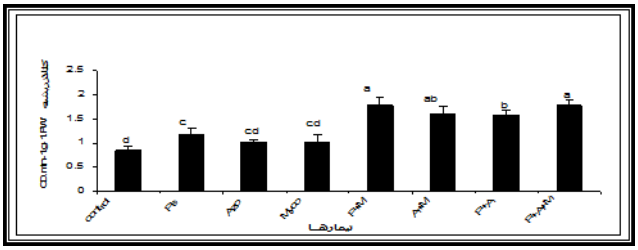
**شکل ۳- – تاثیر PGPR** ومایکوریزا آربسکولار ،بر میزان پلی فنل اکسیداز برگ گیاه بادرنجبویه



شکل ٤- تاثیر PGPR ومایکوریزا آربسکولار،به صورت مجزا وترکیبی،بر میزان پراکسیدازریشه در گیاه بادرنجبویه



**شکل ۵** – تاثیر PGPR ومایکوریزا آربسکولار،به صورت مجزا وترکیبی،بر میزان کاتالاز ریشه در گیاه بادرنجبویه



–**شکل ٦**- تاثیر **PGPR** ومایکوریزا آربسکولار،به صورت مجزا وترکیبی،بر میزان میزان پلی فنل اکسیداز ریشه در گیاه بادرنجبویه

**بحث و نتیجه گیری** :در تحقیق حاضر میزان فعالیت پراکسیداز وکاتالاز و پلی فنل اکسیدازدرتیمار ها نسبت به شاهد افزایش یافت افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را می توان به پاسخ گیاه به حمله باکتری های نامبرده به عنوان یک تنش زیستی نسبت داد.

**منابع:**

-Arriagada ، C.، Pereira ، G.، .، Garcıa-Romera ،I. and Ocamp، A. (2010). Improved zinc tolerance in Eucalyptus globulus inoculated with Glomus deserticola and Trametes versicolor or Coriolopsis rigida. Soil Biology & Biochemistry 42 : 118-124

Banchio، E.، Xie، X.، Zhang، H.، and W.Pare، P. (2009). Soil Bacteria Elevate Essential Oil -Accumulation and Emissions in Sweet Basil.Agricultural and Food Chemestry 57:653-657

-Del Amor, F.M., Serrano-Martı´nez, A., Fortea, I., Nu´ n˜ez-Delicado, E., (2008). Differential effect of organic cultivation on the levels of phenolics, peroxidase andcapsidiol in sweet peppers. J. Sci. Food Agric. 88, 770–777.

- Mandal, A., A.K. Patra, D. Singh, A. Swarup and R. Ebhin Masto. 2007. Effect of long-term application ofmanure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. Bioresource Technology. 98: 3585–3592.

Smith ,R. (2009).Plant-corrhizapercentinfectionasevidenceofcoupledmetabolism . Journal of Theoretical Biology 259 : 172–175

## Application effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and mycorrhiza fungus on fungus on quantity of antioxidativate responses in leaf and root of Lemon Balm (*Melissa officinalis L.*)

***Mohammadi Karmozdi ,F***
*Fatemehmohammadi4336@gmail.com*

**Abstract:**
Application of biofertilizers, especially plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and mycorrhiza fungus is one of the most important strategies for plant nutrition,especially in sustainable management of agroecosystems. In order to investigate the effect of Pseudomonas and *Azospirillum* bacteria and *Mycorrhiza* fungus on quantity of antioxidativate responses of Lemon Balm, a pot culture was conducted at the Agricultural Research center of sari during summer of 2010. A randomized complete block design with four replications was used. Treatments included: (A) *fluorescent Pseudomonas*, (B) *Azospirillum brasilense*, (C) the fungus of *arbuscular mycorrhiza*, A+C, B+C, A+B, A+B+C, and control without using bio-fertilizers.The results indicated that the inoculation of Lemon Balm with biological fertilizers significantly increased quantity of antioxidativate responses in leaf and root compared with control( per 0.05%). Therefore increased activity of antioxidant enzymes can be attributed to the plant response to the attackof theseas a biological stress.

**Keywords**: Antioxidant enzymes, proxidase, catalase, polyphenol oxidase, plant growth promoting rhizobacteria, Lemon Balm.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹- دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# تغییرات فصلی و ارتفاعی آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در برگ گونه بلوط‌ایرانی در جنگل‌های زاگرس جنوبی، ایلام

*کبری عزیزی[۱]، حمیدرضا ناجی[۲*]*

*۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم جنگل، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران*

*۲-عضو هیات علمی، گروه علوم جنگل، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.*

مسول مکاتبات*: hrn_16hrn@yahoo.com

**چکیده:** این مطالعه به بررسی اثر تغییرات ارتفاع از سطح دریا و فصل رویش بر خصوصیات آنتی‌اکسیدان برگ بلوط‌ایرانی در منطقه گچان ایلام پرداخت. نمونه‌های برگ این گونه در فصل پاییز در سه طبقه ارتفاعی (پایین‌بند، میان‌بند، بالابند) با پنج تکرار جمع‌آوری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش ارتفاع از سطح دریا صفات آنزیم‌های پراکسیداز وکاتالاز تغییر کردند. آنزیم کاتالاز در فصل بهار با افزایش ارتفاع روند کاهشی و در فصل پاییز روند افزایشی و آنزیم پراکسیداز در فصل بهار با افزایش ارتفاع روند کاهشی و در فصل پاییز روند ثابت داشتند.

**واژگان کلیدی:** ارتفاع از سطح دریا، خصوصیات آنتی اکسیدان، بلوط ایرانی.

**مقدمه**

ارتفاع از سطح دریا یکی از مهمترین عواملی است که با تأثیر بر میزان و نوع بارندگی، تبخیر، تعرق، شدت تشعشعات خورشیدی، تشکیل و تکامل بر نوع و تراکم پوشش گیاهی تأثیر بسزایی دارد (Barnes, 1998). تعامل پیچیده عوامل محیطی متفاوت در رابطه با ارتفاع منجر به تغییر در انواع زیستگاه‌ها و جوامع گیاهی متفاوت می‌شود. محققین معتقدند که تغییر در شرایط اکولوژیکی بر صفات مختلف رویشی درختان اثرگذار است. به طور کلی، سه عامل محیط اکولوژیکی، عوامل ژنتیکی و رابطه بین ژنوتیپ و محیط مهمترین عوامل تغییر در صفات درختان می‌باشند (Hejazy, 1998). فاکتورهای محیطی از قبیل دما ، نور ، دسترسی به آب و مواد مغذی و همچنین فاکتورهای داخلی نظیر آنزیم‌های پروکسیداز وکاتالاز در سیکل فصلی رشد درختان درگیر می‌شوند (Forshey and Elfvin, 1998). قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط ناسازگار باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شده که این تنش به‌خاطر تولید گونه‌های اکسیژن فعال، روی رشد اثر می‌گذارد (Mittler *et al.*, 2004). گیاهان از طریق فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی که شامل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می باشد با این تنش مقابله می‌کنند (Prochazkova *et al.*, 2001). آنتی‌اکسیدانها در گیاهان اهمیت زیادی دارند و توانایی سازگاری با استرس‌هایی مثل خشکی، گرما و نور زیاد را بالا می‌برند تا سطح گونه‌های اکسیژن واکنشگر را کنترل کنند (Basra, 2001).

**مواد و روش ها**

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح دو عامله با پنج تکرار در آزمایشگاه غلوم جنگل دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در طی سالهای ۱۳۹۵- ۱۳۹۶ اجرا گردید.

**تهیه نمونه**

با توجه به پراکنش گونه بلوط ایرانی در جنگل‌های زاگرس، سه جمعیت بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) در طول یک شیب ارتفاعی و سه طبقه ارتفاعی: پایین‌بند (۱۶٤۰ متر بالای سطح دریا)، میان‌بند (۱۸۲۱ متر بالای سطح دریا) و بالابند (۱۹۰۰ متر بالای سطح دریا) در منطقه گچان ایلام جهت نمونه برداری انتخاب شد. سپس از هرجمعیت پنج پایه دانه‌زاد با قطر و ویژگیهای تقریبا" یکسان انتخاب شدند. از قسمت بیرونی و میانه تاج هر پایه، تعدادی برگ در اواخر شهریور ماه ۱۳۹۵ و اواخر اردیبهشت ۱۳۹٦ در جهت شیب غالب شمال شرقی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها سپس سریعا"جهت انجام آزمایش‌های بعدی به یخچال ۸۰- درجه در آزمایشگاه منتقل شدند.

**اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز:** اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به روش (Aebi, 1984) انجام شد با این تفاوت که فعالیت آنزیم کاتالاز در طول موج ٤۲۰ و با استفاده از ضریب خاموش $^{-1}cm^{-1}$ ۳۹/٤mM و فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ٤۷۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $^{-1}cm^{-1}$ ۲٦/٦mM تعیین گردید.

**نتایج و بحث**

نتایج تجزیه واریانس صفات آنتی‌اکسیدان برگ گونه بلوط‌ایرانی در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد که اثر فصل بر روی صفات آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز اندازه‌گیری شده معنی‌دار است. نتایج نشان داد که اثر طبقه ارتفاعی و همچنین اثر متقابل فصل و طبقه ارتفاعی بر صفات آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌داراست (جدول۱).

**آنزیم کاتالاز:** بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در فصل بهار در طبقه ارتفاعی بالابند (جدول۱) شناسایی شد و هیچ اختلاف معنی‌داری با طبقات ارتفاعی پایین‌بند و میان‌بند نداشت. همچنین، نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در فصل پاییز در طبقه ارتفاعی بالابند حاصل شد و با طبقات ارتفاعی پایین‌بند و میان‌بند اختلاف معنی‌داری داشت. به‌طورکلی، اثر طبقات ارتفاعی بر میزان آنزیم کاتالاز در فصل بهار و پاییز نشان داد که در فصل بهار اختلاف بین حداکثر در پایین‌بند با حداقل در بالابند ۲۱/۵٦٪ و در فصل پاییز اختلاف بین حداقل در پایین‌بند و حداکثر در بالابند ٦۲/۰۰٪ است.

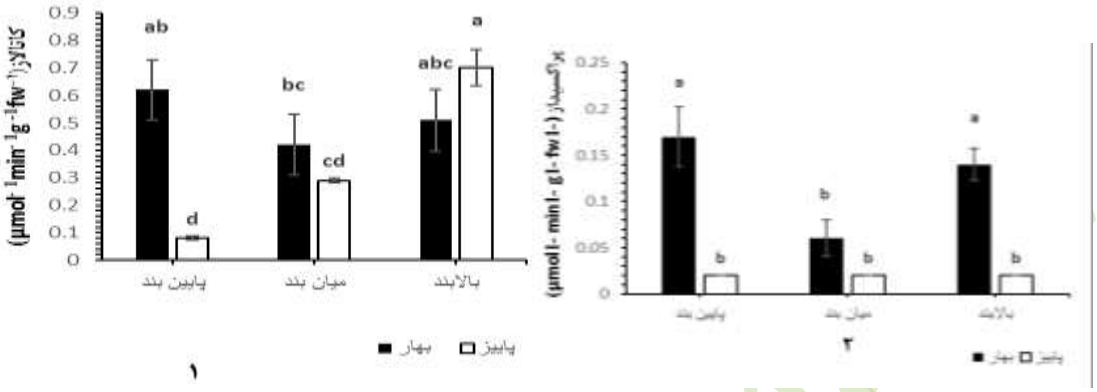
**جدول ۱- تجزیه واریانس صفات آنتی‌اکسیدان برگ بلوط ایرانی** (*Quercus brantii*).

| منابع تغییرات | کاتالاز $(\mu mol)^{-1}FW^{-1}g^{-1}min^{-1}$ | پراکسیداز $(\mu mol)^{-1}FW^{-1}g^{-1}min^{-1}$ |
|---|---|---|
| فصل | ۰/۱۹* | ۰/۰۷* |
| طبقه ارتفاعی | ۰/۲۱* | ۰/۰۰۸* |
| فصل *طبقه | ۰/۳۳* | ۰/۰۰۸* |
| خطا | ۰/۰۳ | ۰/۰۰۱٤ |
| % CV | ۲۳/۵٦ | ۲٤/۲۱ |

* و ns: به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال آماری ۵ درصد و عدم معنی داری تیمارها هستند.

**آنزیم پراکسیداز:** نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول۱) نشان داد که بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در فصل بهار در طبقه ارتفاعی پایین بند حاصل شد و با طبقه ارتفاعی میان بند اختلاف معنی داری داشت. همچنین، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که میزان آنزیم پراکسیداز در فصل پاییز در هر سه طبقه ارتفاعی به یک میزان بود و هیچ اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند.

به‌طورکلی، اثر طبقات ارتفاعی در فصل بهار از پایین به بالا روند نزولی داشت. بین حداکثر در پایین‌بند با حداقل در بالابند ۴۲٪ اختلاف داشته، ولی در فصل پاییز اثر طبقه ارتفاعی از پایین به بالا به یک میزان ثابت بود.




**شکل ۱- تغییرات خصوصیات آنزیم کاتالاز(۱) و پراکسیداز (۲) در طبقات ارتفاعی مختلف.**

آنزیم پراکسیداز به عنوان یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی بوده که نقش مهمی در گیاه ایفا می‌کند. این دسته از نشانگرها اگر چه در مطالعات ژنتیکی استفاده می‌گردند ولی تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند (Liengsiri *et al.*,1995). **آنزیم کاتالاز یک آنزیم مهم برای مقابله با پراکسید هیدروژن تولید شده در شرایط تنش است** (Srivalli *et al.*,2003). **بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در قبل و بعد از تنش سرما نشان داد که با کاهش سرما میزان آنزیم کاتالاز کاهش یافته و میزان آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. این باعث تجزیه ایندول‌استیک‌اسید و کاهش رشد گردید** (Omran,1980). **در شرایط تنش خشکی و شوری** (Frank *et al.*, 1963; Reddy *et al.*, 2004) **آفات و بیماری میزان آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش معنی‌داری دارند و احتمالاً نمونه‌هایی که دارای مقادیر بیشتری از این آنزیم‌ها باشند مقاومت بیشتری به تنش‌های غیرزنده، آفات و بیماری از خود نشان می‌دهند** (Frank *et al.*,1963).

**فهرست منابع:**

Aubin, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105:121–126.

Basra, A. (2001) Crop responses and adaptations to temperature stress. Food Products Press, Binghamton, New York.

Barnes, B.V. (1998) Forest ecology. John Wiley and Sons. Inc.

Frank, H.A. Ishibashi, S.T. Reid, A. and Ito, J.S. (1963) Catalase activity of psychrophilic bacteria grown at 2 and at 30 C. Journal of Applied Microbiology.11:151–153.

Forshey, C.G. and Elfving, D.C. (1989) The relationship between vegetative growth and fruiting in apple trees. Horticultural Reviews.11: 229-287.

Hejazy, A.K.M. E1-Demedesh, A. and Hosni, H.A. (1998) Vegetation, species diversity and floristic relations along an altitudinal gradient in south- west Saudi Arabia. Journal of Arid Environment. 3:3-13.

Liengsiri, Ch. Yeh, F. and Boyle, T. (1995) Isozyme analysis of a tropical forest tree. *Pterocarpus macrocarpus* Kurz. In Thailand. Forest Ecology and Management.74: 1-3. 13-22.

Mittler, R. Vanderauwera, S. Gollery, M. and Breusegem, F.V. (2004) Abiotic stress series. Reactive oxygen gene network of plant. Trends in Plant Science. 9 (10):490-498.

Omran, G. (1980) Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase and IAA oxidase during and after chilling cucumber seedlings. Plant Physiology. 65: 407-408.

Prochazkova, D. Sairam, R.K. Srivastava, G.C. and Singh, D.V. (2001) Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. Plant Science. 161:765-771.

Reddy, A.R. Chiatanya, K.V. and Vivekanandan M.( 2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Plant Physiology. 161:189-1202.

Srivalli, B. Sharma, G. Khanna-Chopra, R. (2003) Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. Physiology Plantarum. 119:503-512.

## Effect of Altitude and Growing season on proxidase and catalase enzymes in Leaf from Persian Oak (*Quercus brantii*) in Southern Forest of Zagros, Ilam

***Kobra Azizi*[1], *Hamid Reza Naji*[2*]**

*M.Sc. Student, Department of Forest Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.*
*Assistant Professor, Department of Forest Sciences, Ilam University, Ilam, Iran. Hrn_16hrn@yahoo.com*

**Abstract:**
in this study, we studied the effect of variations in altitude and growing season on antioxidants features of Persian oak leaf from Gachan, Ilam. The leaf samples were collected from trees at three different altitudes with five repetitions. According to the results with increasing the altitude, some variations were observed in the antioxidants values. In the spring, the catalase and peroxidase enzymes showed a decreasing trends along with increasing altitude, while in the autumn had an increasing and steady trends, respectively.

**Keywords:** Altitude, antioxidant features, Persian oak.

# ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های حساس و متحمل برنج به تنش شوری

*فرهاد باقری [۱*]، همت اله پیردشتی [۲]، مرتضی اولادی [۳]، مریم جنابیان [٤]*

۱-دانشجوی دکتری اگروتکنولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲-استاد، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳-دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، ، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*٤- دانش آموخته دکتری زراعت، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری*

asgharebagheri@yahoo.com*

**چکیده:**

به منظور ارزیابی واکنش ژنوتیپ های حساس و متحمل برنج به تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک-های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش سطوح شوری (صفر، ٤ و ۸ دسی‌زیمنس) و هشت ژنوتیپ متحمل و حساس برنج (M9-P1-7-2-1، M9-P3-4-5-3، M9-P3-4-7-3، M9-P3-21-1-1، IR29، سپیدرود، دیلمانی و نونابوکرا) به عنوان فاکتورهای مورد آزمایش در نظر گرفته شدند. در این پژوهش میزان پروتئین محلول، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و میزان پراکسیدهیدروژن و عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند. نتایج حاکی از افزایش میزان پروتئین و عملکرد در موتانت M9-P1-7-2-1 برنج (متحمل) تحت مواجهه با تنش شوری به دنبال کاهش میزان تولید پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم SOD بود. به طورکلی می‌توان بیان داشت افزایش میزان پروتئین محلول برگی و در نتیجه میزان کمتر فعالیت آنزیم SOD می‌تواند در تحمل موتانت مذکور در شرایط تنش شوری نقش داشته باشد.

**کلمات کلیدی**: آنتی اکسیدان، برنج، شوری، موتانت، پروتئین محلول

**مقدمه:**

شوری یکی از عوامل تنش‌زای محیطی است که علاوه بر کاهش رشد و نمو گیاهان محدوده‌ی توزیع و پراکندگی گیاهان را در اکوسیستم‌های مختلف تعیین می‌نماید (Ismail and Horie, 2017). از طرفی گیاه برنج، پرتقاضاترین غله جهان، به تنش شوری حساس بوده به طوری که بیشترین حساسیت آن در مرحله گیاهچه‌ای و گل‌دهی گزارش شده است (Hosseini *et al*., 2012). تنش اکسیداتیو یک پدیده فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پیچیده است که حاصل تولید بیش از اندازه و تجمع انواع فعال اکسیژن می‌باشد و در گیاهان عالی تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی رخ می‌دهد (Ismail and Horie, 2017). گیاهان به منظور کاهش آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو، مجهز به سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و گیاهان با سطوح بالاتر آنتی‌اکسیدانی مقاومت بالایی نسبت به آسیب‌های اکسیداتیویی از خود نشان می‌دهند (Kibria *et al*., 2017). اصلاح موتاسیونی با استفاده از جهش و تنوع ژنتیکی در ساختار توارثی نباتات، سالیان متمادی در عرصه به‌تزادی گیاهی در کنار روش کلاسیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Domingo et al, 2007). بیشترین تعداد واریته‌های موتانت اصلاح شده در موتاسیون القایی مربوط به پرتوتابی (۸٦٪) که ٦٤ درصد مربوط به گاما و ۲۲ درصد مربوط به اشعه ایکس است (Shu & Lagoda, 2007; Ahloowalia et al., 2004). لی و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از پرتوتابی توانستند لاین‌های القایی جهش یافته متحمل به شوری در برنج ایجاد کنند. هدف از

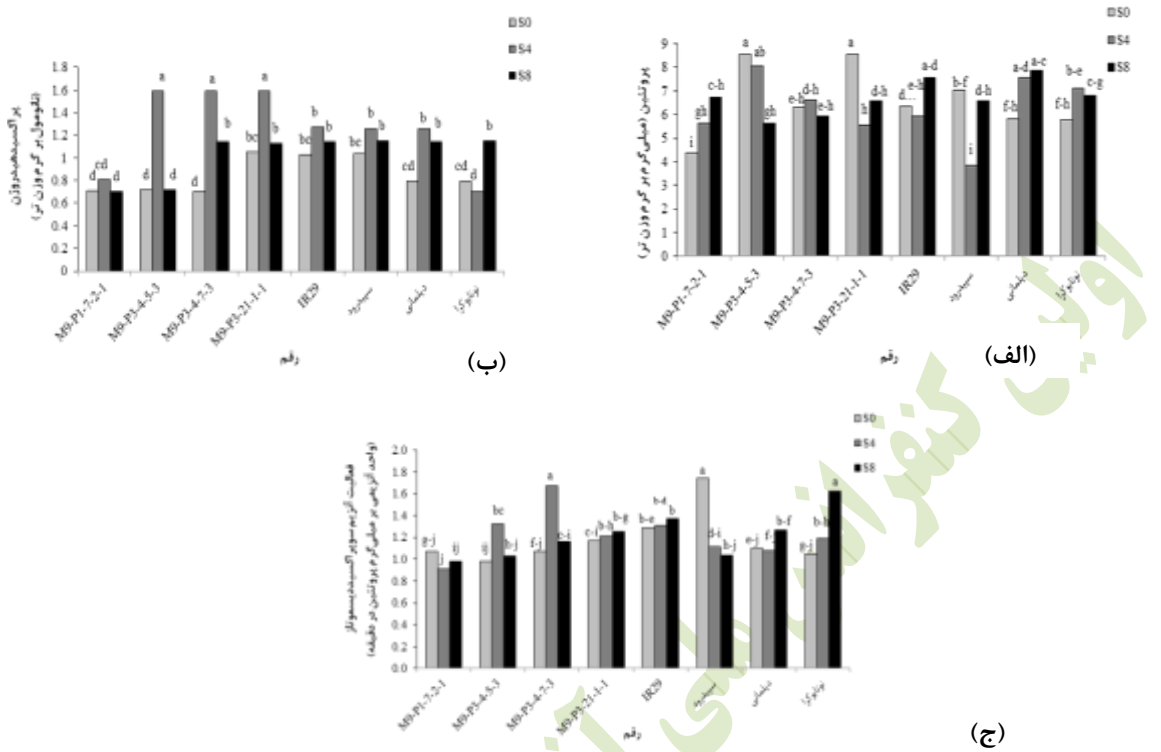
این پژوهش مطالعه تغییرات میزان پروتئین، پراکسیدهیدروژن، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و همبستگی آنها با عملکرد دانه در برخی ژنوتیپ های حساس و متحمل برنج نسبت به تنش شوری در نظر گرفته شد.

**مواد و روش ها:**

پژوهش حاضر در تابستان ۱۳۹۹ در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش شوری در سه سطح (صفر، ٤ و ٨ دسی زیمنس) و ژنوتیپ‌های برنج شامل ٤ لاین موتانت (M9-P1-7-2-1، M9-P3-4-5-3، M9-P3-4-7-3، M9-P3-21-1-1) به همراه دو رقم شاهد حساس (IR29، سپیدرود) و دو رقم شاهد متحمل (دیلمانی و نونابوکرا) به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شدند. لاین‌های مورد بررسی در این تحقیق از پرتوتابی اشعه گاما با دز ۲۰۰ گری از چشمه کبالت ٦٠ روی که بعد از اداره نسل های در حال تفکیک و رسیدن به جمعیت M9 انتخاب شدند. در این آزمایش ابتدا نشاءها در خزانه به تعداد سه بوته در هر کپه به فاصله ۲۵ سانتی‌متر از همدیگر کشت و در مرحله ۳ برگی به گلدان انتقال داده شدند. تنش بصورت آبیاری با شوری در مرحله ٤ الی ٥ برگی و یک هفته پس از استقرار بوته‌ها در گلدان صورت گرفت. جهت ثابت نگه داشتن سطح شوری با گرفتن عصاره اشباع خاک تیمار شده، ضریب هدایت الکتریکی (EC) و اسیدیته (pH) خاک اندازه‌گیری شدند. در این آزمایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD) (Beauchamp and Fridovich, 1971)، میزان پراکسیدهیدروژن (Alexieva et al., 2001)، پروتئین محلول برگی (Bradford, 1971) و همچنین میزان عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. درنهایت، داده‌ها با نرم‌افزار آماریSAS نسخه ۹/٤ تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام پذیرفت.

**نتایج و بحث:**

تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده شوری بر میزان پراکسید هیدروژن و اثر رقم بر میزان پروتئین محلول برگ، پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD) معنی دار بود. همچنین برهمکنش شوری و رقم نیز بر فعالیت پارامترهای مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. در این بررسی مشاهده شد که مقدار پروتئین‌های محلول برگی در موتانت M9-P1-7-2-1 و ارقام دیلمانی و نونابوکرا با افزایش غلظت نمک (از شاهد تا ۸ دسی‌زیمنس) افزایش یافت. بیشترین میزان پروتئین محلول برگی در موتانت M9-P1-7-2-1 در سطح شوری ۸ دسی‌زمینس به دست آمد که بیش از ۵۳ درصد نسبت به شاهد بدون تنش افزایش یافت. گزارش شده است که به احتمال زیاد افزایش پروتئین به جهت تنظیم اسمزی و در نهایت ممانعت از کاهش آب گیاه (Parida *et al.*, 2004) و یا ممکن است افزایش میزان پروتئین به علت افزایش سنتز پروتئین‌های جدید ناشی از بروز ژن‌های مقاومت به تنش و یا کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین باشد. افزایش پروتئین در گیاه برنج در تنش شوری توسط کاوازکی و همکاران (Kawasaki *et al.*, 2001) و در گیاه جو توسط هورکمن و همکاران (Hurkman *et al.*, 1991) نیز گزارش شده است. یافته‌ها همچنین بیانگر افزایش چشمگیر میزان پراکسیدهیدروژن در تمامی ارقام به ویژه در سطح شوری ٤ دسی‌زیمنس بود (شکل ۱–ب).




شکل ۱- اثر تنش شوری بر میزان پروتئین (الف) و پراکسید هیدروژن (ب) و آنزیم SOD (ج) در ژنوتیپ‌های برنج. میانگین های دارای حرف مشابه تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. ، $S_0$ ، $S_4$،$S_8$ به ترتیب شاهد، ٤ و ٨ دسی زیمنس بر متر مربع

از طرفی میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در ارقام M9-P3-4-7-3،M9-P3-4-5-3 و رقم متحمل نونابوکرا در زمان قرارگیری در معرض تنش شوری به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این وجود بیشترین فعالیت این آنزیم در ارقام M9-P3-4-5-3، M9-P3-4-7-3 در سطح شوری ٤ دسی‌زیمنس (به ترتیب حدود ۳۵ و ٥٦ درصد) و در رقم نونابوکرا در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس (حدود ٥٤ درصد ) نسبت به شاهد بدون تنش مشاهده گردید. همچنین کمترین میزان تغییر در موتانت M9-P1-7-2-1 تحت تنش شوری بدست آمد (شکل ۱-ج). Hasamuzzaman و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده نمودند که با افزایش سطح شوری، عملکرد ارقام برنج کاهش می‌یابد و در مقابل سطوح مختلف شوری، ارقام مختلف برنج اختلاف معنی‌داری با هم داشته و با افزایش سطح شوری، رشد، اجزای عملکرد و در نهایت عملکرد دانه کاهش می‌یابد. در مجموع نتایج گویای فعالیت کمتر آنزیم SOD در موتانت M9-P1-7-2-1 به دنبال تولید کمتر پراکسیدهیدروژون در نتیجه افزایش میزان پروتئین و عملکرد نسبت به سایر ارقام برنج تحت تنش شوری بود. این امر گویای آن است موتانت M9-P1-7-2-1 میزان کمتری تحت تنش اکسیداتیو قرار گرفته است. همبستگی مثبت و معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD با میزان تولید پراکسیدهیدوژن (داده ها نشان داده نشد) و همبستگی منفی و معنی‌دار آن با میزان عملکرد نیز بر این موضوع تأکید می‌کند (جدول ۱).

جدول ۱- همبستگی ساده پارامترهای مورد مطالعه با عملکرد دانه در ژنوتیپ های برنج تحت تنش شوری

| پارامتر مورد مطالعه | ضریب همبستگی |
|---|---|
| پروتئین محلول | ۰/۳٤ - |
| فعالیت سوپراکسید دیسموتاز | ۰/۵۲** - |
| پراکسید هیدروژن | ۰/۰۵ |

## سپاسگزاری

به‌این‌وسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به خاطر حمایت‌های مالی در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

## فهرست منابع

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell and Environment 24: 1337-1344.

Ahloowalia, B.S., M. Maluszynski, and K. Nichterlein .2004. Global impact of mutation-derived varieties. Euphytica 135: 187–204.

Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276-287.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Domingo, C., F. Andres and M. Talon. 2007. Rice cv. Bahia mutagenized population; a new resource for rice breeding in the Mediterranean basin. Spanish Journal of Agriculture Research, 5(3); 341-347.

Hasamuzzaman, M., Fujita, M., Islam, M. N., Ahamed, K. U. and Nahar, K. 2009. Performance of four irrigated rice varieties under different levels of salinity stress. International Journal of Integrative Biology, 6(2): 117.

Hosseini, S. J., Tahmasebi, Z. and Pirdashti, H. 2012. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for NaCl tolerance at early seedling stage. International Journal of Agronomy and Plant Production, 3(8): 274 283.

Hurkman, W. J., H. Tao, C. K. Tanaka. 1991. Germin–like polypeptides increase in barley roots during salt stress. Plant Physiology, 97:366-374. doi: 10.1104/pp.97.1.366

Ismail, A. M. and Horie, T. 2017. Genomics, physiology, and molecular breeding approaches for improving salt tolerance. Annual Review of Plant Biology, 68, 405-434.

Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y. and Hoque, M. A. 2017. Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. Rice Science, 24(3), 155-162.

Kawasaki, S., C. Borchert, M. Beyholos, H. Wang, S. Brazille and K. Kawai. 2001. Geneexpression profiles during the initial phase of salt stress in rice. Plant Cell, 13:889-905.

Lee SY, Cheong JI, Kim TS (2003) Production of doubled haploids through anther culture of M1 rice plants derived from mutagenized fertilized egg cells. Plant Cell Report, 22: 218-223.

Shu, Q.Y., P.J.L. Lagoda .2007. Mutation techniques for gene discovery and crop improvement. China Academic Journal of Molecular Plant Breeding, 5(2):193-195

# Investigation of biochemical traits among sensitive and resistant rice genotypes under salinity stress

***Farhad Bagheri [1*], Hemmatollah Pirdashti [2], Morteza Oladi [3], Maryam Jenabiyan [4]***

1-Ph.D. Student of Agrotechnology, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

2- Prof., Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

3- Ph.D. Student of Plant Breeding, Department of Plant Breeding, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

4- Ph.D. Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

*asgharebagheri@yahoo.com*

**Abstract**

In order to evaluate the effect of salinity on biochemical traits of sensitive and tolerant rice genotypes, a factorial experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications. In this experiment, salinity levels (0, 4 and 8 dS) and rice genotypes (M9-P1-7-2-1, M9-P3-4-5-3, M9-P3-4-7-3, M9-P3-21-1-1, IR29, Sepidrood, Deylmani and Nonabucra) were considered as the treatments. In this study, soluble protein , superoxide dismutase (SOD) activity, hydrogen peroxide ($H_2O_2$) content and paddy yield were measured. The results showed that the amount of protein in M9-P1-7-2-1 mutant of rice under salinity stress increased while the production of $H_2O_2$and the SOD activity were decreased. It seems that increasing the protein is related to salt tolerance of this mutant line where its paddy yield increased by 24% in 4 dS/m Of salt stress. The highest correlation coefficient of performance with superoxide dismutase was negative at the level of one . In general, it can be concluded leaf soluble protein and SOD enzyme activity can be considered as a optimum criteria for selecting tolerant rice genotypes under salinity stress.

**Keywords**: Antioxidant, Rice, Salinity, Mutant, Soluble protein

# تاثیر تنش شوری بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی چند ژنوتیپ برنج

فرهاد باقری[۱*]، همت اله پیردشتی [۲]، مرتضی اولادی [۳]، مریم جنابیان [٤]

۱-دانشجوی دکتری اگروتکنولوژی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲-استاد، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳-دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، ، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

٤-دانش آموخته دکتری زراعت، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*asgharebagheri@yahoo.com

**چکیده:**

به منظور ارزیابی اثر شوری بر صفات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های برنج آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش ژنوتیپ‌های برنج (M9-P1-7-2-1، M9-P3-4-5-3، M9-P3-4-7-3، M9-P3-21-1-1، IR29، سپیدرود، دیلمانی و نونابوکرا) و سطوح شوری (صفر، ٤ و ۸ دسی‌زیمنس) فاکتورهای مورد آزمایش در نظر گرفته شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح شوری و ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد برای صفات کارتنوئید، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید و نشت الکترولیت معنی‌دار شد. بر اساس یافته ها می‌توان ژنوتیپ M9-P3-4-5-3 را به عنوان ژنوتیپ متحمل به شوری نسبت به سایر ژنوتیپ‌های مورد آزمایش مشخص کرد به دلیل اینکه این ژنوتیپ کمترین نشت الکترولیت (۳۹ درصد) و مالون‌دی‌آلدهید (٦۳/۲۲درصد) و همچنین بیشترین میزان پرولین (۵۰ درصد) و کارتنوئید (٤٤/۵ درصد) را نسبت به شاهد خود نشان داد.

کلمات کلیدی: برنج، پرولین، شوری، مالون‌دی‌آلدهید

**مقدمه:**

تنش شوری یکی از معضلات رو به گسترش در جهان امروز است که شدیدا" امنیت و پایداری تولیدات کشاورزی را تهدید می‌کند (Wu *et al*, 2015). برنج به عنوان یکی از غلات مهم به تنش شوری بسیار حساس است. با این وجود، درجه حساسیت به شوری در بین ارقام آن متغیر است، به طوری که برخی ارقام قادرند در غلظت‌های بالای شوری رشد کنند (Melawi *et al*, 2015). نتایج روی تاثیر تنش شوری در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل برنج نشان داد که میزان کارتنوئید در ١٦٨ ساعت بعد از تنش ابتدا افزایش یافت و بعد از آن در پایین ترین حد خود قرار گرفت (Senguttuvel *et al*, 2014). در مطالعه‌ای دیگر اعمال تنش شوری روی گیاهچه‌های سه رقم برنج افزایش میزان غلظت مالون‌دی‌آلدهید را به همراه داشت (Bhattacharjee and Mukherjee, 2002). همچنین، بررسی تاثیر تنش شوری روی پارامترهای فیزیولوژیک در ١٠٦ ژنوتیپ برنج نشان داد پرولین می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب جهت شناسایی ارقام حساس و محتمل به شوری به کار گرفته شود (Kanawapee *et al*, 2012). به همین منظور آزمایش حاضر جهت ارزیابی میزان کارتنوئید، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید و نشت الکترولیت در چندین ژنوتیپ برنج در سطوح مختلف شوری طراحی و اجرا گردید.

**مواد و روش‌ها:**

پژوهش حاضر در تابستان ۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه

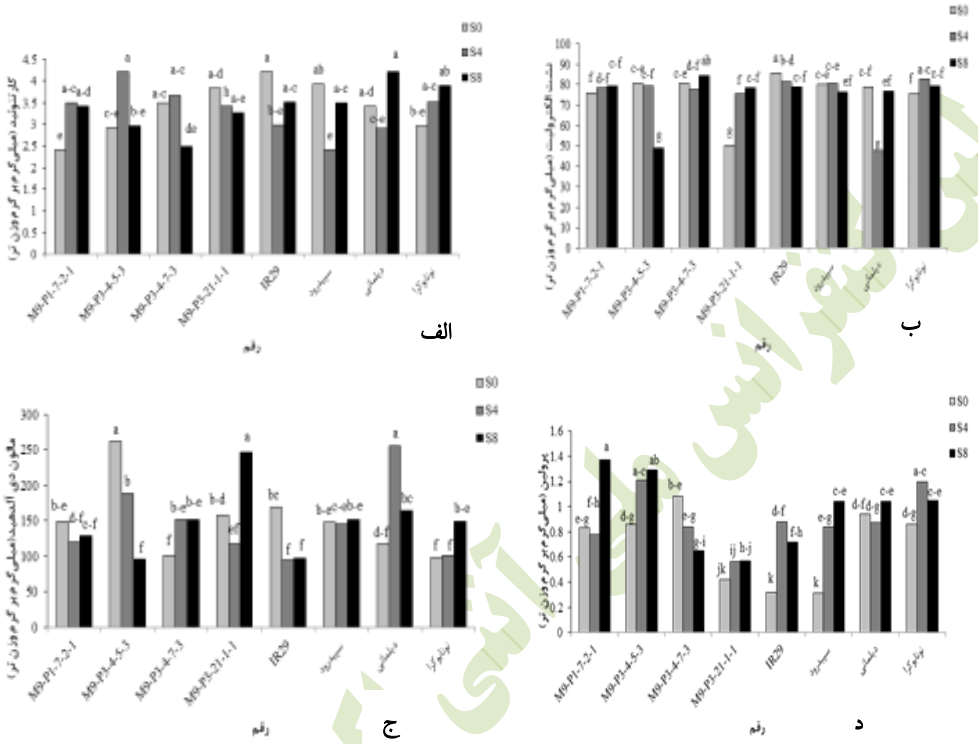
علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش عامل اول شوری در سه سطح (صفر، ٤ و ٨ دسی‌زیمنس) و عامل دوم ژنوتیپ شامل چهار لاین موتانت (M9-P1-7-2-1، M9-P3-4-5-3، M9-P3-4-7-3، M9-P3-21-1-1) به همراه دو رقم شاهد حساس (IR29، سپیدرود) و دو رقم شاهد متحمل (دیلمانی و نونابوکرا) بود. لاین‌های مورد بررسی در این تحقیق از پرتوتابی اشعه گاما با دز ۲۰۰ گری از چشمه کبالت ٦٠ روی که بعد از اداره نسل‌های در حال تفکیک و رسیدن به جمعیت M9 انتخاب شد. در این آزمایش نشاءها در خزانه به تعداد سه بوته به فاصله ۲۵ سانتی‌متر از یکدیگر کشت و در مرحله‌ی سه برگی به گلدان ها منتقل شدند. اعمال تنش به صورت آبیاری با آب شور (NaCl) در مرحله چهار الی پنج برگی و یک هفته پس از استقرار بوته‌ها در گلدان صورت گرفت. جهت ثابت نگه داشتن سطح شوری با گرفتن عصاره اشباع خاک تیمار شده، ضریب هدایت الکتریکی (EC) و اسیدیته (pH) خاک اندازه‌گیری شدند. در این آزمایش میزان کارتنوئید (Lichtenthaler, 1987)، پرولین (Bates *et al*, 1973)، مالون‌دی‌آلدهید (Heath and Packer, 1968) و نشت الکترولیت (Farooq and Farooq, 2006) از در بالاترین برگ های توسعه‌یافته اندازه گیری شدند. در پایان، تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/٤ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری پنج درصد انجام شد.

**نتایج و بحث:**

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل سطوح شوری و ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد برای صفات کارتنوئید، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید و نشت الکترولیت معنی‌دار شد. بر اساس نتایج (شکل ۱–الف) بیشترین میزان کارتنوئید در سطح شوری چهار دسی‌زیمنس در ژنوتیپ M9-P3-4-5-3 مشاهده شد به طوری که حدود ٤٤/٥ درصد نسبت به شرایط عدم تنش شوری در همین رقم افزایش نشان داد. از طرفی کمترین میزان نشت الکترولیت در ژنوتیپ M9-P3-4-5-3 در سطح شوری هشت دسی‌زیمنس به دست آمد که نسبت به شرایط عدم تنش شوری در رقم مذکور حدود ۳۹ درصد کاهش داشت. همچنین ژنوتیپ M9-P3-21-1-1 در سطح شوری صفر کمترین میزان نشت الکترولیت را نشان داد (شکل ۱–ب). نتایج به دست آمده با نتایج لطف الهی و همکاران (۱۳۹٤) در گیاه بابونه تحت تنش شوری مطابقت دارد. مقدار مالون‌دی‌آلدهید (شکل ۱–ج) ژنوتیپ M9-P3-4-5-3 کمترین میزان در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس نسبت به شاهد خود را با ٦۳/۲۲درصد کاهش نشان داد. همچنین ژنوتیپ‌های M9-P3-4-7-3 در سطح شوری صفر، IR29 در ٤ و ٨ دسی‌زیمنس و نیز نونابوکرا در سطح صفر و ٤ دسی‌زیمنس از میزان کمتری برخوردار بودند.

از طرفی در شکل ۱ (د) بیشترین میزان پرولین در ژنوتیپ‌های M9-P1-7-2-1 و M9-P3-4-5-3 در سطح شوری هشت دسی‌زیمنس (به ترتیب حدود ٦٥ درصد و ٥٠ درصد نسبت به شرایط عدم تنش شوری در ارقام مذکور) حاصل شد. این نتایج با نتایج سایر محققین مبنی بر افزایش میزان پرولین با افزایش میزان سطح شوری مطابقت دارد (Nouri *et al*, 2013; Mirza Masoumzadeh *et al*, 2012; Rahdari *et al*, 2012; Farkhondeh, 2012). نتایج یک تحقیق توسط حسنوند و همکاران (۱۳۹٥) نشان داد که غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس کلرید کلسیم موجب افزایش نشت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدهید شد. نتایج این آزمایش نشان داد که می‌توان ژنوتیپ M9-P3-4-5-3 را به عنوان ژنوتیپ متحمل به شوری نسبت به سایر ژنوتیپ‌های مورد

آزمایش مشخص کرد به دلیل اینکه این ژنوتیپ کمترین نشت الکترولیت و مالوندی‌آلدهید و همچنین بیشترین میزان پرولین و کارتنوئید را نشان داد. هر چند شناخت بیشتر و دقیق تر سازوکارهای تحمل به تنش شوری در این ژنوتیپ نیازمند پژوهش های بیشتری است.




شکل ۱- اثر تنش شوری بر میزان کارتنوئید (الف) ، نشت الکترولیت (ب)، مالوندی‌آلدهید (ج) و پرولین (د) در ژنوتیپ‌های برنج. میانگین های دارای حرف مشابه تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. ، $S_0$ ، $S_4$،$S_8$ به ترتیب شاهد، ٤ و ٨ دسی زیمنس بر متر مربع

**سپاسگزاری**

به‌این‌وسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به خاطر حمایت‌های مالی در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

**فهرست منابع**

لطف الهی، ل.، گل سفیدی، ح و امیدی، ح. ۱۳۹٤. بررسی تاثیر سطوح مختلف شوری بر پرولین، رنگدانه های فتوسنتزی و رطوبت نسبی برگ در محیط آب کشت (*Matricaria chamomilla* L.) گیاه دارویی بابونه آلمانی.نشریه پژوهش های تولید گیاهی. جلد ۲۲. شماره(۱): ۸۹-۱۰٤.

Bates, L. S. Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of Free Proline for water- Stress studies. Plant and Soil, 39, 205-207.

Bhattacharjee, S. and A.K. Mukherjee. 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. Seed Science and Technology, 30: 279-287.

Farooq, Sh. and Farooqe, A. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. J. Plant Physiol. 163, 629-637.

Farkhondeh, R., Nabizadeh, E., and Jalilnezhad, N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugarbeet cultivars. Int. J. Agri. Sci. 2(5):385-39.

Heath, R. L., & Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics, 125(1), 189-198.

Kanawapee, N.J. Sanitchon, W. Lontom and P. Threerakulpisut. 2012. Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. Plant and soil, 358: 235-249.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Mekawy, A.M.M., D.V.M. Assaha, H. Yahagi, Y. Tada, A. Ueda and H. Saneoka. 2015. Growth, physiological adaptation, and gene expression analysis of two Egyptian rice cultivars under salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 87: 17-25.

Mirza Masoumzadeh, B., Imani, A.A. and Khayamaim, S. 2012. Salinity stress effect on proline and chlorophyll rate in four beet cultivars. Scholars Res. Library. 3(12):5453-5456.

Munns, R., R.A. James and A. Läuchli. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of experimental botany, 57(5): 1025-1043.

Nouri, K., Omidi, H., Naghdi badi, H.A., Torabi, H. and Fotokian, M.H. 2013. Effects of soil and water salinity on flower yield, soluble compounds, content of saline elements and essential oil quality of German chamomile (Shirazian Babooneh, Matricaria recutita L.). J. Water Res. Agri. 26(4): 367-3

Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S. M. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. J. Stress Physiol. Biochem. 8(1): 182-193.

Senguttuvel, P., C. Vijayalakshmi, K. Thiyagarajan, J.R. Kannanbapu, S. Kota, G. Padmavathi and B.C. Viraktamath. 2014. Changes in photosynthesis, chlorophyll fluorescence, gas exchange parameters and osmotic potential to salt stress during early seedling stage in rice (*Oryza sativa* L). SABRAO Journal of Breeding and Genetics, 46: 120-135.

Wu, T., W. Lin Kao and C.H. Hong. 2015. Gene knockout of glutathione reductase 3 results in increased sensitivity to salt stress in rice. Plant Molecular Biology, Volume 87, Issue, 6: 555-564.

# The effect of salinity stress on some biochemical parameters of several rice genotypes

***Farhad Bagheri [1*], Hemmatollah Pirdashti [2], Morteza Oladi [3], Maryam Jenabiyan [4]***

1-Ph.D. Student of Agrotechnology, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

2- Prof., Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

3- Ph.D. Student of Plant Breeding, Department of Plant Breeding, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

4- Ph.D. Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

*asgharebagheri@yahoo.com*

**Abstract:**

In order to evaluate the effect of salinity on biochemical traits, experimental rice genotypes were performed as a factorial in a randomized complete block design with three replications. In this experiment, rice genotypes (M9-P1-7-2-1, M9-P3-4-5-3, M9-P3-4-7-3, M9-P3-21-1-1, IR29, Sepidrood, Deylmani and Nonabucra) and salinity levels (0, 4 and 8 dS/m) were the treatments. The results of analysis of variance showed that the interaction of salinity levels and genotype at the level of 1% probability was significant for carotenoids, proline, malondialdehyde and electrolyte leakage. The results of this experiment showed that M9-P3-4-5-3 genotype can be identified as a salinity tolerant genotype as compared to other genotypes because this genotype has the lowest electrolyte leakage (39%) and malondialdehyde (63.22%) and it also showed the highest levels of proline (50%) and carotenoids (44.5%) as compared to its control.

**Keywords**: Rice, Proline, Salinity, Malondialdehyde

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹ – دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# اثرات کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد موثره زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*)

*رویا رضوی زاده*[*1]، *فاطمه ادب آوازه*[1,2]

[1] گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ، ایران

[2] گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، صندوق پستی ۷۶۱۶۹۱۴۱۱۱، کرمان، ایران

[*] razavi.roya@gmail.com

**چکیده:**

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*) یکی از گونه‌های مهم بومی با خواص دارویی از جمله تقویت سیستم ایمنی بدن، سریع کردن جریان خون، ضد التهاب و اثرات سیتوتوکسیک است. به منظور بررسی اثرات کیتوزان به عنوان یک بیوپلیمر طبیعی غیرسمی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی زرین گیاه در شرایط درون شیشه‌ای، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مواد موثره اصلی گیاه اندازه‌گیری شد. گیاهچه‌های دو هفته‌ای زرین گیاه در محیط MS حاوی غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ کیتوزان کشت داده شد. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌ها بطور قابل‌توجهی کاهش یافت. همچنین بررسی محتویات اسانس با استفاده از GC-MS نشان داد که کیتوزان تاثیر مثبتی بر محتوای اصلی اسانس همچون تیمول، پاراسیمین و کاندینول داشت که به ترتیب ۱۶٫۲٪، ۲۰٫۳٪ و ۳۴٪ افزایش یافتند. علی رغم میزان کاهش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، غلظت $20\ mg\ L^{-1}$، اثر مثبتی بر محتوای اصلی اسانس در زرین گیاه داشت.

**کلمات کلیدی**: زرین گیاه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کیتوزان.

## مقدمه

در سال‌های اخیر نقش ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان دارویی و رژیم غذایی به ویژه پلی‌فنل‌ها به دلیل داشتن خاصیت آنتی-اکسیدانی به عنوان ابزارهای درمانی در بیماری‌های مزمن مانند سرطان، دیابت، پیری، بیماری‌های قلبی ـ عروقی و چاقی مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*) یکی از گیاهان دارویی و معطر از تیره نعناییان است که به علت داشتن متابولیت‌های ثانوی فراوان در طب سنتی در کاهش تب، درد مفاصل و روماتیسم و بعنوان ضد التهاب و التیام دهنده زخم و تقویت کننده سیستم ایمنی استفاده می‌شود. در برگ‌های زرین گیاه ترکیبی به نام spinal-z وجود دارد که از سال‌ها پیش در درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گرفته است (Jahanian et al., 2005).

یکی از راهکارهایی که امروزه جهت القای متابولیسم ثانوی، افزایش تولید متابولیت‌های ارزشمند و تشدید پاسخ‌های دفاعی گیاه در شرایط آزمایشگاهی مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از الیسیتور یا محرک در محیط کشت درون شیشه می‌باشد. کیتوزان، یک بیوپلیمر آلی و طبیعی است که به عنوان یکی از الیسیتورهای زیستی کارآمد برای بهبود بخشیدن تولید متابولیت‌های ثانوی و تحریک پاسخ‌های فیزیولوژیکی در کشت سلول گیاهان دارویی زیادی تأیید شده است (Golkar et al., 2019). این پلی‌ساکارید کاتیونی، به دلیل دسترس‌پذیری فراوان، چسبندگی بی‌نظیر، خواص دارویی مناسب و دیگر خواص سودمند بیولوژیکی مثل زیست سازگاری، زیست تخریب‌پذیری، عدم سمیت و تحریک کم سیستم ایمنی، در موارد بیوپزشکی و داروی مورد توجه قرارگرفته

است. کیتوزان در وزن‌های مولکولی مختلف وجود دارد و خواص فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی کیتوزان به شدت توسط وزن مولکولی و درجه داستیلاسیون تحت تاثیر قرار می‌گیرد.

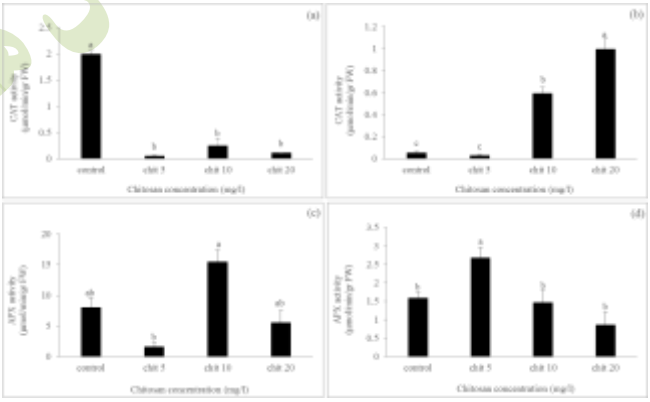
از اینرو، با توجه به اهمیت مطالعه در زمینه گیاهان دارویی و اثرات مثبت الیسیتورهایی همچون کیتوزان بر مواد موثره دارویی، پژوهشی با هدف ارزیابی اثرات کیتوزان بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های زرین گیاه در شرایط کشت درون شیشه انجام شد.

## موادها و روش‌ها

بذرهای زرین گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. تعدادی بذور پس از شستشوی سطحی با آب مقطر، با الکل ۷۰٪ به مدت ۲۰ ثانیه، آب ژاول ۲۵٪ به مدت ۵ دقیقه استریل و برای غلبه بر خواب بذر، به مدت ۱۲ دقیقه در اسیدسولفوریک ۷۰٪ خیسانده شد. بذور پس از شستشو با آب مقطر استریل، به محیط ۱/۲MS منتقل و در اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵±۲°C و رطوبت ۹۸-۹۵٪ نگهداری شد. سپس از گیاهچه‌های دو هفته‌ای، جداکشت تهیه و به محیط‌های حاوی ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر کیتوزان منتقل و به مدت چهار هفته در اتاق کشت نگهداری شد. برای ارزیابی مواد مؤثره اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف جرم سنجی استفاده شد و سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش Cakmak and Marschner (1992) و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش Nakano and Asada (1981) انجام شد.

## نتایج و بحث

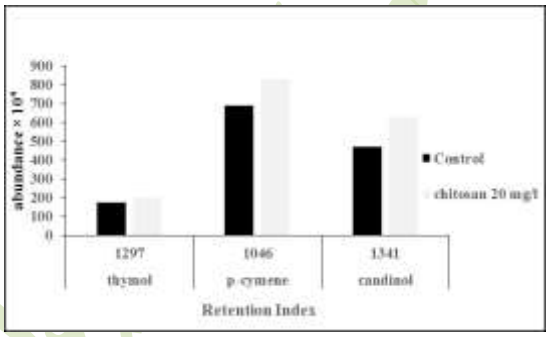
فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی تحت تأثیر کیتوزان، در مقایسه با شاهد، کاهش معنی‌داری نشان داد، با این حال، بین غلظت-های مختلف کیتوزان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 1a). فعالیت آنزیم در ریشه‌ها تحت تأثیر کیتوزان در غلظت ۵ mg/l با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما با افزایش غلظت‌های کیتوزان در محیط کشت، فعالیت آنزیم افزایش یافت(شکل 1b). حداکثر فعالیت APX، در اندام‌هوایی در غلظت ۱۰ mg/l کیتوزان و در ریشه‌ها در غلظت ۵ mg/l مشاهده شد، که حدود ۲ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد (شکل d و 1c).



کل ۱: : اثر کیتوزان بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در اندام هوایی (a)، ریشه (b)، فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی (c) و ریشه (d) *D. kotschyi*. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیر متشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد ($p\leq0.05$).

با وجود گزارش‌های متعددی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط کیتوزان، در این مطالعه فعالیت CAT در اندام هوایی با افزایش غلظت کیتوزان کاهش یافت. با این حال، در ریشه‌های تحت تیمار، افزایش غلظت کیتوزان در محیط کشت باعث افزایش فعالیت CAT شد. نتایج تحقیقات پیشین بیانگر آن است که کیتوزان از طریق افزایش محتوای نسبی آب برگ، منجر به حفظ تورژسانس و حجم برگ می‌شود و غشای سلولی را محافظت می‌کند، از اینرو، به طور قابل توجهی پایداری غشاهای سلولی گیاهان را افزایش داده و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (Yang Feng et al., 2009). القا فعالیت آنزیم‌هایCAT و APX ممکن است نقش حفاظتی را در مقابل آسیب‌های احتمالی اکسیداتیو بازی کند (Dorey et al., 1998)، که می‌تواند دلیل افزایش فعالیت CAT در ریشه‌ها و APX در پاسخ به کیتوزان باشد.

یکی دیگر از سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی زرین گیاه که به شدت تحت تاثیر کیتوزان قرار گرفت، محتویات اسانس می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی محتویات اسانس با استفاده از GC-MS نشان داد که تیمار ۲۰ $mg\ L^{-1}$ کیتوزان در مقایسه با شاهد باعث افزایش محتوای تیمول (۱۶/۲٪)، پارا سیمن (۲۰/۳٪) و کاندینول (۳٤٪) شد (شکل ۲).




شکل ۲: اثرات کیتوزان بر ترکیبات اصلی اسانس *D. kotschyi*

افزایش درصد تیمول و پارا-سیمن، که متعلق به فنل مونوترپن و ترپنوئید است، افزایش فعالیت متابولیکی در مسیرهای فنیل پروپانوئید، موالونات و لیپوکسیژناز را پیشنهاد می‌کند. احتمالاً، گیاهان در پاسخ به الیسیتور، ترپن را انباشته می‌کنند که به دلیل کاهش تقاضای کربن همراه با کاهش رشد است، که این امر نمونه‌ای از توافق بین رشد و دفاع است. تیمول و سایر ترکیبات موجود در اسانس مانند پارا-سیمن به دلیل بی‌خطر بودن برای سلامتی مصرف کنندگان، به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی استفاده می‌شوند. علاوه بر کاربرد در صنایع غذایی و به عنوان یک ماده دافع، از خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی تیمول نیز استفاده شده است. بنابراین، افزایش تیمول می‌تواند در جستجوی داروهای جدید طبیعی ارزشمند باشد.

**فهرست منابع:**

Cakmak, I. and Marschner, H. (1992) Manesium Deficiency And High Light Inensity Enhance Activities Of Superoxide Dismutase, Ascrobate Peroxidase, And Glutatione Reductase In Bean Leaves. Plant Physiology. 98(4): 1222-7.

Dorey, S., Baillieul, F., Saindrenan, P., Fritig, B. and Kauffmann, S. (1998) Tobacco class I and II catalases are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance. Molecular Plant-Microbe Interactions 11: 1102-1109.

Golkar, P., Taghizadeh, M. and Yousefian, Z. (2019) The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 137(3): 575–585.

Jahanian, F., Ebrahimi, S.A., Rahbar-Roshandel N., and Mahmoudian, M. (2005) Xanthomicrol is the main cytotoxic component of Dracocephalum kotschyii and a potential anti-cancer agent. Phytochemistry. 66(13): 1581-1592.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22:867–880.

Yang Feng, H., Li, J., Wu, J., and Yurong, X. Q. (2009) Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. Plant Growth Regulation. 58: 131-136.

## In vitro chitosan effects on antioxidant activity and essential oil of *Dracocephalum kotschyi*

***Roya Razavizadeh*[1], *Fatemeh Adabavazeh*[2]**
[1]*Department of Biology, Payame Noor University,193953697 Tehran, Iran*
[2]*Department of Biology, Shahid Bahonar University,7616914111 Kerman, Iran*

**Abstract**:
*Dracocephalum kotschyi* is one of the important endemic species with renowned medicinal properties, such as antihyperlipidemic, immunomodulatory, antinociceptive and cytotoxic effects. To explore the potential effects of chitosan as a natural nontoxic biopolymer on the antioxidant activity of *D. kotschyi* under in vitro culture, antioxidant enzyme activities and main essential oil content were measured. Two-week-old *D. kotschyi* was cultured on MS medium containing 0, 10 and 20 mg $L^{-1}$ chitosan. The results indicated that the antioxidant enzyme activities significantly decreased in seedlings. Moreover, evaluation of contents of essential oils using GC–MS showed that chitosan had a beneficial effect on the main essential oil contents such as thymol, p-cymene and candinol (16.2%, 20.3% and 34% increasing, respectively). In spite of reduction of antioxidant activities, 20 mg $L^{-1}$ had a positive effect on the oil components in *D. Kotschyi*.

**Keywords**: *Dracocephalum kotschyi* is, antioxidant activity, chitosan,

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹ – دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# تاثیر کیتوزان بر دفاع آنتی اکسیدانی گیاهچه های زنیان(*Carum copticum*)تحت تنش خشکی در شرایط کشت درون شیشه

*زهرامسیبی، رویا رضوی زاده*،امیر حسین فرقانی*
**razavi.roya@gmail.com***
*گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور،تهران*

**چکیده**

در این پژوهش نقش کیتوزان در بهبود اثرات تنش خشکی در گیاه زنیان در شرایط کشت درون شیشه بررسی شد. بذرها در محیط کشت های MSحاوی غلظت های ۰، ۱۰و۲۰ میلی گرم برلیتر کیتوزان و ۰و۳درصد مانیتول کشت گردیدند.میزان انتوسیانین ،فلاونوییدها و فعالیت انزیم های انتی اکسیدان چهار هفته پس از کشت در گیاهچه ها بررسی گردید. غلظت فلاونوئیدها در هر سه طول موج تحت تیمار کیتوزان افزایش معنی داری در تنش خشکی نشان داد. با اعمال تیمار خشکی مقادیر انتوسیانین در گیاه زنیان افزایش یافت. هر دو غلظت کیتوزان در شرایط بدون تنش میزان آنتوسیانین را دربخش هوایی و ریشه افزایش دادند. با ایجاد تنش خشکی در گیاه زنیان فعالیت اسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه به طور معنی داری افزایش یافت. دو غلظت کیتوزان فعالیت اسکوربات پراکسیداز را در محیط فاقد مانیتول افزایش داد. بیشترین فعالیت کاتالاز در هر دو اندام در تیمار خشکی مشاهده شد. در تنش خشکی هر دو غلظت کیتوزان سبب کاهش فعالیت انزیم کاتالازدر بخش هوایی و ریشه گردید.

**کلمات کلیدی**: کیتوزان، مانیتول ،کشت درون شیشه، تنش خشکی

**مقدمه**

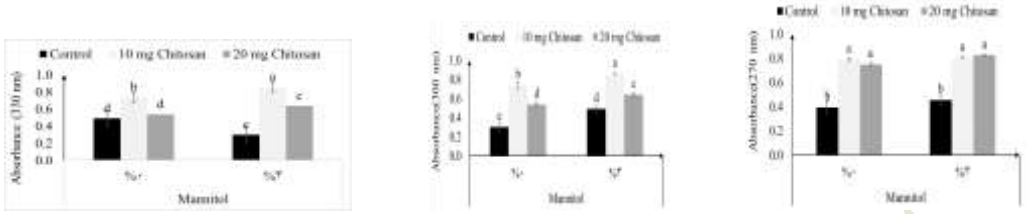
تنش محیطی از مهمترین عوامل کاهش دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان است. در این میان آب جایگاه ویژه ای دارد و همواره از ان به عنوان موثرترین عامل بر رشد گیاهان یاد می شود. به نظر می رسد که گیاهان دارویی واکنش های متفاوتی نسبت به تنش خشکی در عملکرد ومواد موثر تولیدی داشته باشند.الیسیتورها ترکیباتی با منشا زیستی و یا غیر زیستی هستند که ازطریق القای پاسخ های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت های ثانوی می شوند.کیتوزان یک پلی ساکارید پلی کاتیونی به عنوان یکی از الیسیتورهای زیستی کارامد برای بهبود بخشیدن تولید متابولیت های ثانوی در کشت سلول گیاهان دارویی تایید شده است. به دنبال درک الیسیتور، پاسخ های دفاعی سریع در سلول های گیاهی نظیر افزایش جریانات یونی از عرض غشای پلاسمایی، تولید انواع اکسیژن واکنشگر، فعال سازی ژن های مربوط به دفاع، تغییرات ساختاری در دیواره سلولی و فیتوالکسین ها اتفاق می افتد. کیتوزان با خاصیت الیسیتوری مکانیسم های دفاعی را تحریک می کند و یک پاسخ مهم در برابرالیسیتورهای زیستی توسط سلول های گیاهی تولید اکسیژن واکنشگر(ROS)می باشد که سمی هستند.رادیکال های تولید شده در سلول های گیاهی به وسیله سیستم انتی اکسیدان انزیمی و غیر انزیمی کنترل می شوند. با توجه به متاثر شدن گیاهان دارویی از تنش اسمزی محیط و تاثیر ان بر رشد و ریخت زایی و مقدار و کیفیت مواد موثره انها، در این تحقیق سعی بران شد با استفاده از مانیتول به عنوان عامل اسمزی محیط کشت در شرایط این ویترو، تاثیر تنش خشکی بر برخی انتی اکسیدان های انزیمی و غیر انزیمی گیاهچه های زنیان به عنوان یک گیاه ارزشمند دارویی تحت تیمارالیسیتورکیتوزان مورد بررسی قرار گیرد.

**مواد و روش ها**

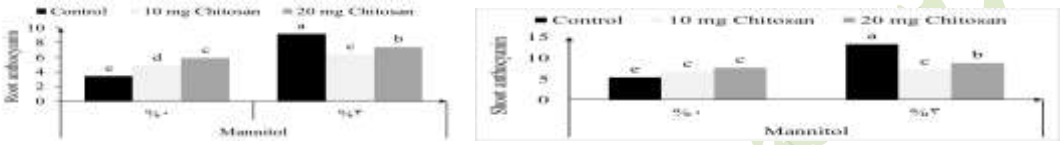
بذرهای گیاه زنیان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد.تعدادی بذور پس از شستشو در محیط کشت های ساده(MS )کشت گردید و در اتاق کشت نگهداری شدند. محیط های کشت حاوی بذور به مدت ٤ هفته در اتاق کشت بادوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی و دمای ٢٥ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس از زیر اولین گره از گیاهچه های ٤ هفته ایی جدا کشت تهیه شد و به محیط کشت های حاوی غلظت های ١٠و٢٠ میلی گرم بر لیتر کیتوزان و مانیتول٠و ٣ درصد هر کدام به طور جداگانه منتقل گردید و به مدت ٤ هفته در اتاق کشت نگه داری شدند. چهار هفته پس از تیمار برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاهچه ها بررسی گردید.اندازه گیری میزان انتوسیانین طبق روش Wangner(١٩٧٩)و اندازه گیری فلاونوییدها طبق روش Krizek وهمکاران (١٩٩٨)انجام شد. برای اندازه گیری فعالیت انزیم کاتالاز از روش Cakmak and marschner (1992) استفاده شد و اندازه گیری فعالیت انزیم اسکوربات پراکسیداز بر اساس روش Nakano and asada(1981) بود.

**نتایج و بحث**

در گیاهان تحت تنش خشکی نسبت به گروه شاهد میزان فلاونوییدها به طور قابل توجهی افزایش یافت.در هر سه طول موج در محیط واجد مانیتول ٣٪بیشترین میزان فلاونویید مشاهده شد.همچنین بیشترین جذب در هر سه طول موج در تیمارهای کیتوزان در شرایط خشکی و عدم حضور مانیتول مشاهده شد که ١٠ میلی گرم کیتوزان در افزایش غلظت فلاونویید بیش از ٢٠ میلی گرم کیتوزان مشاهده شد.اثر خشکی و کیتوزان وبرهمکنش ان ها بر انتوسیانین بخش هوایی و ریشه معنی دار بود با اعمال تیمار خشکی مقادیر انتوسیانین در گیاه زنیان افزایش یافت.بیشترین انتوسیانین اندام هوایی و ریشه در تیمار گیاهان با مانیتول٣٪مشاهده شد.تیمار ١٠ و٢٠ میلی گرم کیتوزان در محیط فاقد مانیتول باعث افزایش غلظت انتوسیانین اندام هوایی نسبت به گیاه شاهد شد. فلاونوییدها وانتوسیانین ها از مهمترین ترکیبات انتی اکسیدانی در گیاهان هستند.این ترکیبات نه تنها رادیکال های ازاد را از بین می برند بلکه از تولید بیشتر ان ها در گیاه جلوگیری می کنند. بیشتر مطالعات اخیر نشان داده است که انتوسیانین ها در پاسخ به انواع تنش سنتز شده اند(Hale et al.,2002). با ایجاد تنش خشکی در گیاه زنیان غلظت اسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه به صورت معنی داری افزایش یافت.در اندام هوایی و ریشه کاربرد دو غلظت کیتوزان تجمع اسکوربات پراکسیداز را در محیط فاقد مانیتول افزایش داد.انزیم اسکوربات پراکسیداز در تیمار کیتوزان ١٠و ٢٠ میلی گرم نسبت به شاهد افزایش بسیار زیادی پیدا کرد. بیشترین فعالیت انزیم کاتالاز در هر دو اندام در تیمار خشکی مشاهده شد که فعالیت این انزیم در اندام هوایی به بیش از ٣ برابرو در ریشه بیش از ٥ برابرگیاهان شاهد ثبت شد.در تنش خشکی هر دو غلظت کیتوزان سبب کاهش معنی دار فعالیت انزیم کاتالاز در بخش هوایی و ریشه شد. مطالعات متعدد نشان داد که کیتوزان به عنوان یک الیسیتور زیستی دارای پتانسیل برای از بین بردن رادیکال های ازاد است( Kim,2007)

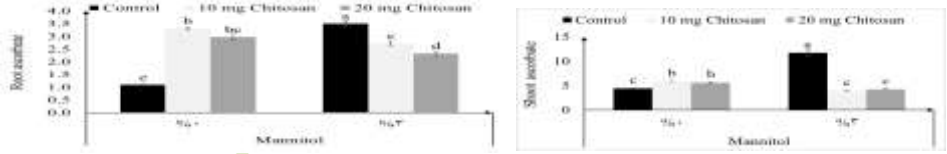



**شکل ۱**- تغییرات جذب فلاونوئیدها در سه طول موج ۲۷۰،۳۰۰،۳۳۰ نانومتر در پاسخ به تنش خشکی و کیتوزان. مقادیر، میانگین سه تکرار± SE است. حروف مشابه در هر نمودار بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها با ازمون دانکن در سطح ۵ درصد است.




شکل ۲۲- تغییرات انتوسیانین بخش هوایی و ریشه گیاه زنیان در پاسخ به تنش خشکی و کیتوزان.مقادیر میانگین سه تکرار± SE است. حروف مشابه در هرنمودار بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها با ازمون دانکن در سطح ۵ درصد است

**شکل۳**- تغییرات کاتالاز اندام هوایی وریشه زنیان در پاسخ به تنش خشکی و کیتوزان . مقادیر، میانگین سه تکرار SE است. حروف مشابه در هر نمودار بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها با ازمون دانکن در سطح ۵ درصد است.




**شکل ٤**-تغییرات اسکوربات پراکسیداز اندام هوایی وریشه زنیان در پاسخ به تنش خشکی و کیتوزان. مقادیر، میانگین سه تکرار SE است.حروف مشابه در هر نمودار بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها با ازمون دانکن در سطح ۵ درصد است.

## منابع

1)Farouk, S. and Amany, R. (2012) Improving growth and yield of cowpea by foliar application of chitosan under water stress. Egyptian Journal of Biology 14: 15-27.
2)Golkar, P., Taghizadeh, M. and Yousefian, Z. (2019) The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 137(3): 575–585
3)Nusrat, J. and Ahmad, R. (2012) The activity of antioxidant enzymes in response to salt stress in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings raised from seed treated with chitosan. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93(7): 1699-1705

# The effect of chitosan on antioxidant defense ofCarum copticum seedling under in vitro drought stress

*Zahra mosayebi, Roya Razavizadeh*, Amir Hossein Forghani*
**Department of Biology, Payame Noor University, Tehran**

**Abstract**:
In this study, the role of chitosan in improving the effects of drought stress on Carum copticum seedlings under in vitro culture conditions was investigated. Seeds were cultured in MS medium containing concentrations of 0, 10 and 20 mg / L chitosan and 0 and 3% mannitol. Anthocyanin levels, flavonoids and antioxidant enzyme activity were assessed in seedlings four weeks after culture. The results showed that the concentration of flavonoids in all three wavelengths treated with chitosan showed a significant increase in drought stress. With the application of drought treatment, the levels of anthocyanins in the seedlings increased. Both chitosan concentrations increased the amount of anthocyanin in the shoot and roots under non-stress conditions. Ascorbate peroxidase activity in shoots and roots increased significantly with drought stress. Two concentrations of chitosan increased ascorbate peroxidase activity in mannitol-free medium. The highest catalase activity was observed in both organs in drought treatment. In drought stress, both concentrations of chitosan reduced the activity of catalase in shoot and root.

**Key words**: Mannitol, chitosan, in vitro, drought stress

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی

# ارزیابی اثر نانوذره اکسید سیلیس (nano-SiO2) بر صفات آنتی اکسیدانی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کادمیوم

راضیه رحمتی زاده[۱]، رشید جامعی[۱]، محمد جواد آروین[۲]

[۱]ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، [۲]کرمان، دانشگاه باهنر کرمان، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی

ایمیل نویسنده‌مسئول: jamei.r96@gmail.com

**چکیده**

در سال‌های اخیر نانوتکنولوژی در کشاورزی و تولید مواد غذایی به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق به بررسی اثر محلول پاشی نانوذرات اکسید سیلیس ($nano\text{-}SiO_2$) در ۰، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه گوجه فرنگی تحت ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار $CdCl_2$ پرداخته شد. کادمیوم (Cd) سبب کاهش پارامترهای رشد، فتوسنتز و افزایش محتوای MDA، $H_2O_2$، پرولین و فعالیت کاتالاز در گوجه فرنگی گردید اما ۵۰ میلی گرم در لیتر $nano\text{-}SiO_2$ توانست سمیت کادمیوم را بهبود بخشد. در مجموع، ۵۰ میلی گرم در لیتر $nano\text{-}SiO_2$ به طور بالقوه برای رشد گیاه مفید بود و ممکن است سبب تحریک مکانیسم‌های دفاعی مختلف در گیاهان در پاسخ به کادمیوم گردد.

**کلمات کلیدی**: نانوذره سیلیس، فعالیت آنتی اکسیدانی، نانوتکنولوژی، تنش اکسیداتیو، فلز سنگین.

**مقدمه**

تجمع فلز سنگین در خاک به عنوان یکی از نگران کننده‌ترین عوامل در بین تنش های محیطی می‌باشد (Wu et al. 2016). کادمیوم از نظر سمیت زیست محیطی از دسته اول مواد خطرناک است که متحرک است و قابلیت تجمع در زنجیره غذایی را دارد (Kao 2014). غلظت Cd در محلولهای خاک‌های غیرآلوده ۰,۳۲ - ۰,۰٤ میکرومولار و در خاک‌های نسبتاً آلوده ۱ – ۰,۳۲ و در خاک‌های آلوده بیشتر از ۱ می‌باشد (Kao 2014). Cd فرایندهای مورفولوژیکی ، بیوشیمیایی و ساختاری گیاهان را تغییر می دهد و بر جذب عناصر، فتوسنتز، رشد سلول ها، متابولیسم کربوهیدرات ها، اسیدهای چرب ، اسیدهای نوکلئیک و در نهایت مرگ گیاه تأثیر می گذارد (Song et al. 2017).

سیلیکون (Si) که فراوان ترین عنصر پس از اکسیژن هست ۲۵٪ از پوسته زمین را تشکیل داده است با این حال به عنوان یک عنصر اساسی برای گیاهان در نظر گرفته نمی شود (Tripathi et al.2015). Si به عنوان یک شبه عنصر در رشد و نمو گیاهان تحت شرایط تنش ، می‌تواند باعث افزایش فتوسنتز و بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش های زیستی (مانند بیماری) و همچنین در برابر تنش های مختلف غیر زیستی، از جمله فلزات سنگین ، گرما ، سرما ، خشکی و شوری شود (Alsaeedi et al.2017) نانوتکنولوژی، که امروزه به عنوان یک فناوری پیشرفته و مدرن مورد توجه قرار گرفته است، قادر است در رشته های مختلف سبب بهبود تحقیقات گردد (Karimi et al. 2016). در کشاورزی، انتظار می رود که استفاده از نانوذرات به عنوان ابزاری نوین باعث افزایش تولید محصول از طریق افزایش رشد، بهبود تغذیه، راندمان جذب آب هم در شرایط تنش و هم غیر تنش شود (Alsaeedi et al.2017).

گوجه فرنگی (Solanum lycopersicum L.) یکی از پرکاربردترین محصولات در سراسر جهان است و منبع غنی از ترکیبات عملکردی سالم است (Hashem et al. 2015). گوجه فرنگی از نظر سطح زیرکشت و مصرف تجاری بعد از سیب زمینی در رتبه دوم قرار دارد (Hashem et al. 2015).

اثرات تنظیمی Si تحت شرایط تنش بر روی گیاهان کاملاً مستند است (Farhangi-Abriz et al. 2018). از طرف دیگر، با توجه به استفاده از نانوتکنولوژی به عنوان یک زمینه در حال تجلی تقریباً در همه رشته‌های علمی، ضروری است مکانیسم‌های مقاومتی گیاه به تنش در ارتباط با نانوذرات نیز ارزیابی شود.

**مواد و روش‌ها**

بذر گوجه فرنگی (رقم Calj-N3) از شرکت ملی بذر تهران تهیه شد و با آب دوبار تقطیر شسته شدند و با استفاده از محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه استریل شدند و سپس بر روی کاغذ صافی مرطوب درون پتری دیش برای مدت ۷۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و بعد از آن به گلدان حاوی پرلیت منتقل و روزانه با مدت ۱٤ روز با محلول ۰,۵ هوگلند تغذیه شدند. گیاهان روزانه با نانوذره اکسید سیلیس ($SiO_2$) با غلظت های ۰ ، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۵ روز اسپری برگی شدند. نانوذره کسید سیلیس قبل از تیمار به مدت ۲۰ دقیقه اولتراسونیک شدند.سپس به مدت ۱٤ روز در معرض کادمیوم با غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار قرار گرفتند. پس از آن پارامترهای رشدی اندازه گیری شد و برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی گیاهان در ازت مایع فریز شدند. سنجش کلروفیل به روش(۱۹۸۷) Lichtenthaler، مالون دآلدئید به روش (۱۹٦۹) Heath and Packer، پراکسید هیدروژن به روش (Velikova et al. 2000 ، پرولین به روش Bates et al. 1975، کاتالاز به روش Dhindsa et al. 1981 انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد که با نرم افزار SPSS ورژن ۲۰ به صورت آنالیز واریانس دوطرفه (way-Two ANOVA) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با دقت ۹۵ درصد انجام گردید.

**نتایج و بحث**

در تحقیق حاضر، پارامترهای رشد گیاه گوجه فرنگی تحت تنش Cd کاهش یافت (جدول ۱). کاهش پارامترهای رشد یکی از مهمترین شاخص‌های سمیت Cd در گیاهان مانند لوبیا (Alsaeedi edt al. 2017) و برنج (Chen et al. 2018) است. کادمیوم به عنوان یک فاکتور بسیار قوی، باعث کاهش فتوسنتز، محتوای کلروفیل، تولید ROS و تخریب غشا می_شود (Kao 2014). از طرف دیگر Cd به عنوان یک کاتیون دو ظرفیتی، فعالیت بسیاری از حامل‌های غشایی که در انتقال مواد نقش دارند را مهار می‌کند که منجر به کاهش جذب عناصر اساسی می شود (Kao 2014). تغذیه بهتر مواد معدنی تابعی از عملکرد Si در کاهش سمیت Cd است به طوری که Si که ماده مغذی گیاهی مفیدی است، تجمع بیشتر مواد غذایی را تحریک می کند (Farhangi-Abriz et al 2018). در مطالعه حاضر، کاهش رشد ممکن است در ابتدا مربوط به تجمع Cd باشد که باعث تولید ROS و آسیب به ماکرومولکول_ها می‌شود (جدول ۲). گزارش‌های زیادی در مورد این‌که تنش فلزات در گیاهان استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند وجود دارد که از طریق افزایش تولید ROS به مولکول‌هایی مانند لیپیدها ، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رساند (Farhangi-Abriz et al. 2018; Karimi et al. 2016). به‌طور مشابه، در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که محتوای MDA و $H_2O_2$ به طور قابل توجهی در حضور کادمیوم افزایش یافت که به دنبال آن منجر به آسیب به ماکرومولکول_ها می‌گردد ادعا شده است

که نانو $SiO_2$ با افزایش فعالیت آنزیم_های آنتی اکسیدان، تجمع اسمولیت‌ها و مواد غذایی، در پاسخ به تنش‌های مختلف محیطی (از جمله فلزات سنگین) نقش اساسی دارد (Farhangi-Abriz et al. 2018) در مطالعه حاضر نیز کاربرد ۵۰ میلی گرم در لیتر نانو $SiO_2$ به‌طور معنی داری سبب کاهش محتوی MDA، H2O2 و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. که با نتایج Alsaeedi و همکاران (۲۰۱۷) لوبیا و Chen و همکاران (۲۰۱۸) در برنج همسو می‌باشد. در مجموع یافته های تحقیق ما نشان می دهد که ۵۰ میلی گرم در لیتر نانو $SiO_2$ اثرات منفی Cd بر پارامترهای رشد و رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت کادمیوم را بهبود می‌بخشد.

**جدول ۱:** اثرات غلظت‌های مختلف $CdCl_2$ و nano-$SiO_2$ بر وزن تازه اندام هوایی و ریشه ، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، Chla، Chlb، Chlt و .Car میانگین‌ها با حروف مشابه از نظر آماری وقتی با آزمون دانکن مقایسه می‌شوند تفاوت معناداری ندارد.

| $CdCl_2$ (µM) | nano-$SiO_2$ (mg/l) | Shoot fresh Weight (g/plant) | Root fresh weight (g/plant) | shoot dry Weight (g/plant) | Root dry Weight (g/plant | Chla (µg/gr FW) | Chlb (µg/gr FW) | Chlt (µg/gr FW) | Car (µg/gr FW) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 44.46±1.11bc | 35.33±.88c | .84±.01a | .91±.03ab | 12.06±.34b | 3.32±.07de | 15.39±.35c | 2.27±.14cd |
| | 25 | 47.65±1.05ab | 38.00±1.15bc | .85±.02a | .94±.01ab | 12.83±.37b | 4.15±.17c | 16.99±.19b | 3.21±.17a |
| | 50 | 50.86±3.09a | 42.33±1.45a | .89±.02a | .95±.02a | 14.47±.29a | 6.27±.22a | 20.74±.18a | 3.40±.18a |
| | 100 | 48.65±1.22ab | 39.66±.88ab | .71±.03bc | .86±.02bc | 12.28±.46b | 3.90±.13cd | 16.18±.33bc | 2.44±.13bc |
| 100 | 0 | 38.64±1.14cdef | 24.00±.57f | .63±.01d | .76±02d | 9.00±.17cd | 2.14±.14f | 11.14±.10f | 1.38±.13e |
| | 25 | 40.66±2.85cde | 26.00±2.30ef | .65±.01cd | .79±.03cd | 9.75±.17c | 4.01±.18c | 13.77±.19d | 2.09±.11cd |
| | 50 | 43.29±1.07bc | 30.66±1.45d | .77±.02b | .88±.03ab | 9.89±.35c | 5.47±.14b | 15.36±.48c | 2.50±.13bc |
| | 100 | 41.62±1.26cd | 29.33±1.45de | .60±.04d | .78±.02cd | 9.30±.32cd | 3.01±.12e | 12.31.42e | 1.83±.05de |
| 200 | 0 | 27.42±.98g | 16.00±1.15g | .34±.02f | .33±.03g | 4.17±.31f | 1.56±.16fg | 5.74±.14i | .45±.07f |
| | 25 | 33.36±.65f | 18.66±.88g | .37±.01f | .42±.02f | 8.45±.42d | 1.38±.29g | 9.84±.22g | 1.85±.14de |
| | 50 | 36.94±1.77def | 28.00±.57de | .48±.02e | .56±.02e | 10.07±.34c | 6.18±.34a | 16.26±.03b | 2.76±.31b |
| | 100 | 35.53±3.07ef | 19.33±1.20g | .37±.01f | .44±.02f | 7.32±.53e | 1.62±.39fg | 8.95±.18h | 1.55±.01e |

**جدول 2:** اثرات غلظت‌های مختلف $CdCl_2$ و nano-$SiO_2$ برمالون د آلدئید اندام هوایی و ریشه، پراکسید هیدروژن اندام هوایی و ریشه، پرولین اندام هوایی و ریشه و فعالیت کاتالاز اندام هوایی. میانگین‌ها با حروف مشابه از نظر آماری وقتی با آزمون دانکن مقایسه می‌شوند تفاوت معناداری ندارد.

| $CdCl_2$ (µM) | nano-$SiO_2$ (mg/l) | Shoot MDA (nM/gr FW) | Root MDA (nM/gr FW) | Shoot $H_2O_2$ (µM/gr FW) | Root $H_2O_2$ (µM/gr FW) | Shoot proline (mg/gr FW) | Root proline (mg/gr FW) | Shoot CAT (U/gFW ) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | .11±.03i | .38±.02gh | 20.35±.82e | 34.84±.30e | 25.57±2.41f | 12.08±1.36f | .11±.00f |
| | 25 | .10±.00i | .31±.02h | 19.88±1.03f | 33.39±.36e | 27.80±4.03f | 15.66±1.72ef | .22±.00e |
| | 50 | .09±.00i | .28±.01h | 18.94±.75f | 32.69±.96e | 34.74±2.16f | 16.08±2.92ef | .23±.00e |
| | 100 | .15±.00h | .47±.01fg | 20.25±.42e | 34.10±.99e | 40.76±1.77f | 16.83±1.15ef | .15±.00ef |
| 100 | 0 | .35±.00e | .62±.02e | 29.55±1.00cd | 58.90±2.37c | 35.05±2.69f | 25.91±2.66d | .57±.01d |
| | 25 | .20±.00g | .57±.04ef | 26.78±2.06d | 44.40±2.80d | 38.98±3.07f | 20.50±1.66de | .87±.01c |
| | 50 | .16±.00h | .41±.03gh | 20.96±1.06e | 38.30±4.50de | 31.43±3.35f | 14.00±1.88ef | .82±.03c |
| | 100 | .30±.00f | .60±.03ef | 28.21±2.06cd | 55.97±2.39c | 55.70±2.08e | 27.75±1.95d | .61±.01d |
| 200 | 0 | .61±.00a | 1.43±.06a | 44.04±1.20a | 76.09±3.45a | 154.51±7.34a | 68.25±3.16a | 1.06±.02b |
| | 25 | .50±.01c | 1.23±.06b | 39.28±1.96b | 74.61±2.13a | 137.99±11.96b | 60.08±2.45b | 1.33±.01a |
| | 50 | .45±.00d | .83±.06d | 31.67±1.96c | 57.52±3.44c | 98.22±4.28d | 43.58±3.72c | 1.26±.02a |
| | 100 | .55±.00b | 1.04±.05c | 38.80±1.46b | 66.30±1.71b | 122.39±4.45c | 63.16±3.74ab | .99±.02b |

**References**

Alsaeedi, A.H. EI-Ramady, H. Alshaal, T. EI-Garawani, M. Elhawat, N. and Almohsen, M. (2017) Engineered silica nanoparticles alleviate the detrimental effects of $Na^+$ stress on germination and growth of common bean (Phaseolus vulgaris). Environmental Science and Pollution Research. 24(27): 21917-21928.

Chen, R. Zhang, C. Zhao, Y. Huang, Y. and Liu, Z. (2018) Foliar application with nano-silicon reduced cadmium accumulation in grains by inhibiting cadmium translocation in rice plants. Environmental Science and Pollution Research. 25(3): 2361-2368.

Farhangi-Abriz, S. and Torabian, S. (2018) Nano-silicon alters antioxidant activities of soybean seedlings under salt toxicity. Protoplasma. 255(3): 953-962.

Hashem, A. Abd_Allah, E.F. Alqarawi, A.A. Al Huqail Asma, A. Egamberdieva, D and Wirth, S. (2015) Alleviation of cadmium stress in Solanum lycopersicum L.by arbuscular mycorrhizal fungi via induction of acquired systemic tolerance. Saudi journal of biological sciences. 23(2): 272-281.

Kao, C.H. (2014) Cadmium stress in rice plants: Influence of Essential Elements. Crop Environ Bioinform. 11:113-118.

Tripathi, D.K., Singh, V.P., Prasad, S.M., Chauhan, D.K., and Dubey, N.K. (2015) Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in Pisum sativum (L.) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry.96:189-198.

# Effect of $SiO_2$ nanoparticles on antioxidant activity in tomato plant under cadmium stress

***Razieh Rahmati Zadeh[1], Rashid Jamei[1], Mohammad Javad Arvin[2]***
*Corresponding Author E-mail:* jamei.r96@gmail.com
*[1]Biology Department, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran; [2]Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman*

**Abstract**

Nanotechnology in agriculture and food production is extensively studied in recent years. This research investigated the effect of foliar spray of silicon oxide nanoparticles (nano-$SiO_2$) at 0, 25, 50 and 50-100 mg/L on physiological characteristics of tomato plant under 0, 100, and 200 µM $CdCl_2$. Cadmium (Cd) had a negative effect on growth, photosynthesis and increased the content of MDA, $H_2O_2$, proline and CAT activity in tomato; however, 50 mg/L concentration of nano-$SiO_2$ improved cadmium toxicity. Overall, 50 mg/L concentration of nano-$SiO_2$ is potentially advantageous for plant growth and may stimulate various defense mechanisms of plants in response to cadmium.

**Keywords:** $SiO_2$ nanoparticles, Antioxidant activity, Nanotechnology, Oxidative Stress, Heavy Metal.

اولین کنفرانس ملی آنتی اکسیدان های گیاهی
(۱۷ و ۱۸ دی ماه ۱۳۹۹ – دانشگاه اصفهان)
ISC
۹۹۲۰۰-۵۲۵۸۲
دانشگاه اصفهان
قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان

# تاثیر نانوذره اکسید آهن (nano $Fe_3O_4$) بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کادمیوم

راضیه رحمتی زاده[۱]، محمد جواد آروین[۲] ، رشید جامعی[۱]
[۱]ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، [۲]کرمان، دانشگاه باهنر کرمان، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی
ایمیل نویسنده مسئول: Razieh_Rahmaty@yahoo.com

## چکیده

نانوتکنولوژی در همه جنبه های زندگی مدرن و به ویژه کشاورزی استفاده می‌شود. اگرچه آهن به عنوان عنصر اساسی برای رشد گیاه در نظر گرفته می‌شود اما نقش آن در کاهش تنش های غیر زیستی به طور گسترده مورد ارزیابی قرار نگرفته است. در این تحقیق سعی شده است تا تأثیر نانوذرات مغناطیسی $Fe_3O_4$ در ٤ سطح (۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و $CdCl_2$ در ۳ سطح (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) بر گیاه گوجه فرنگی ارزیابی شود. کادمیوم (Cd) سبب افزایش نشت یونی و تنش اکسیداتیو در گیاه گردید اما ۲۰ میلی گرم در لیتر نانوذره $Fe_3O_4$ توانست سمیت کادمیوم را بهبود بخشد. در مجموع، ۲۰ میلی گرم در لیتر نانوذره $Fe_3O_4$ به طور بالقوه برای رشد گیاه مفید است و ممکن است سبب تحریک مکانیسم های دفاعی مختلف در گیاهان در پاسخ به کادمیوم گردد.

کلمات کلیدی: فعالیت آنتی اکسیدانی، نانوتکنولوژی، تنش اکسیداتیو، فلز سنگین.

## مقدمه

حضور مقادیر بالای فلزات سنگین مانند مس (Cu) ، نیکل (Ni) ، کادمیوم (Cd) و کبالت (Co) در محیط زیست یک تهدید قوی برای اکوسیستم ها و همچنین یک نگرانی مهم زیست محیطی در سراسر جهان است (Chen et al. 2017). از بین تمام فلزات سنگین، کادمیوم منجر به سطح بالایی از آسیب به گیاهان و همچنین سلامت انسان می شود. کادمیوم می تواند به راحتی جذب شود و در قسمتهای مختلف گیاه توزیع و سپس از طریق زنجیره غذایی به بدن انسان منتقل شود (Kao 2014). به دلیل ماهیت آب دوست بودن، این عنصر به راحتی وارد ریشه می‌شود و در اندام گیاه تجمع می‌یابد (Hasan et al. 2011) . کادمیوم باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز کلروفیل، نوکلئیک اسید شده که در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود (Gill et al. 2013). مکانیسم سلولی سمیت سی دی به طور کامل مشخص نشده است ولی مکانیسم احتمالی اتصال کادمیوم به گروه سولفیدریل و / یا کربوکسیل یا جایگزینی آن بجای فاکتورهای ضروری مانند Zn است (Hasan et al. 2011). نانوتکنولوژی یک رشته در حال تکامل در قرن بیست و یکم است که تأثیر بسزایی در زندگی بشر داشته است و باعث افزایش کیفیت زندگی در زمینه های مختلف مانند کشاورزی و صنایع غذایی گردیده است (Tripathi et al. 2017). نانوذرات دارای ویژگی مهمی مانند نسبت سطح به حجم بالا، خصوصیت نوری، حرارتی و الکتریکی اند که به آن‌ها ویژگی‌های برجسته فیزیکی، شیمیایی و زیستی می‌دهد (Rastogi et al. 2017). آهن یک عنصر اساسی برای بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی می‌باشد و چهارمین عنصر از نظر اهمیت در میان عناصر است اما مقدار آن در خاک کم است و برای نیاز گیاه کافی نیست (Askary et al. 2017). Fe بیشتر در فرم $Fe^{3+}$ نامحلول یافت می‌شود، از این رو خاک‌ها معمولاً از نظر $Fe^{2+}$ دچار کمبود می‌باشند (Rui et al. 2016). به دلیل حلالیت کم مواد معدنی حاوی آهن در بسیاری از نقاط جهان، یک راه مقابله با کمبود آهن استفاده از نانوذرات است (Askary et al. 2017). گوجه فرنگی (Solanum lycopersicum L.) بعد از سیب زمینی رتبه دوم را از نظر سطح زیر کشت و تولید دارد و همچنین از آن به عنوان گیاه

مدل در آزمایشات استفاده می‌شود (Hashem et al. 2015). اطلاعات کمی درباره نقش نانوذره اکسید آهن بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گوجه فرنگی در شرایط تنش کادمیوم وجود دارد. از این رو در مطالعه حاضر به بررسی نقش نانوذره $Fe_3O_4$ در شرایط تنش کادمیوم پرداخته ایم.

**مواد و روش‌ها**

بذر گوجه فرنگی (رقمCalj-N3) از شرکت ملی بذر تهران تهیه شد و با آب دوبار تقطیر شسته شدند و با استفاده از محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه استریل شدند و سپس بر روی کاغذ صافی مرطوب درون پتری دیش برای مدت ۷۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و بعد از آن به گلدان حاوی پرلیت منتقل و روزانه با مدت ۱٤ روز با محلول ۰,۵ هوگلند تغذیه شدند. گیاهان روزانه با نانوذره آهن ($Fe_3O_4$) با غلظت های ۰ ، ۱۰ ، ۲۰ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۵ روز اسپری برگی شدند. نانوذره آهن قبل از تیمار به مدت ۲۰ دقیقه اولتراسونیک شدند.سپس به مدت ۱٤ روز در معرض کادمیوم با غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار قرار گرفتند. پس از آن پارامترهای رشدی اندازه گیری شد و برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی گیاه در ازت مایع فریز شد. سنجش مقدار نشت یونی به روش (Ben Hamed, 2007)، فعالیت آنزیم آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز به روش (Plewa et L. 1991)، آسکوربات پراکسیداز به روش (Nakano and Asada, 1981) و کاتالاز به روش (Dhindsa et al. 1981) انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد که با نرم افزار SPSS ورژن ۲۰ به صورت آنالیز واریانس دوطرفه (way-Two ANOVA) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با دقت ۹۵ درصد انجام گردید.

**نتایج و بحث**

**جدول ۱:** اثرات غلظت‌های مختلف $CdCl_2$ و nano-$Fe_3O_4$ بر نشت یونی و فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز برگ. میانگین‌ها با حروف مشابه از نظر آماری وقتی با آزمون دانکن مقایسه می‌شود تفاوت معناداری ندارد.

| $CdCl_2$ (µM) | nano-$Fe_3O_4$ (mg/l) | Leaf electrolyte leakage (%) | Shoot GPX (Ug/FW) | Shoot APX (Ug/FW) | Shoot CAT (U/gFW) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 5.60±.8ij | .13±.01h | .50±.04h | .13±.01g |
| | 20 | 2.40±.4k | .30±.01g | 1.06±.08g | .29±.01h |
| | 50 | 4.40±.4jk | .36±.02g | .88±.08g | .16±.01g |
| | 100 | 5.20±.4j | .20±.02gh | .57±.05h | .16±.01g |
| 100 | 0 | 14.40±.4e | 2.41±.13f | 2.00±.18e | 1.55±.07g |
| | 20 | 7.60±.4hi | 3.04±.18e | 2.46±.36d | 1.89±.09e |
| | 50 | 11.20±.4fg | 3.77±.15e | 2.56±.22d | 1.65±.04f |
| | 100 | 12.00±.8ef | 2.54±.15f | 1.56±.22f | 1.61±.04f |
| 200 | 0 | 29.20±.8a | 6.31±.27c | 4.34±.15b | 3.37±.14c |
| | 20 | 20.80±.8d | 7.16±.21a | 4.94±.30a | 3.68±.17b |
| | 50 | 26.40±.8bc | 6.78±.18b | 4.66±.14a | 3.11±.17d |
| | 100 | 27.60±.8ab | 6.04±.18d | 3.97±.14c | 3.07±.17d |

تنش کادمیوم اثرمنفی بر پارامترهای رشد گیاه دارد، به‌طوریکه کاهش پارامترهای رشد یکی از مهمترین خصوصیات سمیت کادمیوم می‌باشد که در گیاهانی مانند گوجه فرنگی (Ünyayar et al. 2006)، برنج (Chen et al. 2017)، گوجه فرنگی (Hassan et al. 2011)، ذرت (Pál et al. 2006)، گندم ( Ci et al. 2010 ) گزارش شده است. تحت تنش کادمیوم، کاهش رشد ممکن است به دلیل پیوندهای قوی بین مولکول‌های

پکتین در دیواره سلولی باشد که منجر به سخت شدن و کاهش انبساط می‌شود (Pál et al. 2006). این تنش همچنین باعث افزایش تولید ROS می‌شود که منجر به آسیب به غشای سلولی و ماکرومولکول‌ها می‌شود که به دنبال آن تغییر سایر فرایندهای سلولی رخ می‌دهد(Ci et al. 2010) . پیشنهاد شده است که نانو مواد ممکن است در گیاهان نقش دوگانه داشته باشند، در غلظت-های پایین مانند مولکول‌های سیگنالینگ عمل کنند و باعث حذف ROS گردند، اما در غلظت‌های بالا اثرات سمی بر روی گیاهان دارند و منجر به ایجاد ROS شود (Rastogi et al. 2017). اندازه کوچکتر نانو ذرات به نفوذ بهتر آن‌ها در سلول کمک می کند زیرا با افزایش سطح تماس و جذب هدفمند باعث تسهیل در فرایند تحریک سلول می‌گردد (Rastogi et al. 2017) . ادعا می‌شود که نانوتکنولوژی پتانسیل بالایی برای کاهش سمیت فلزات سنگین از محیط زیست دارد (Farhangi-Abriz and Torabian 2018). نانوذرات در غلظت‌های پایین باعث کاهش تنش اکسیداتیو می‌گردند و این کار را از طریق بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌ها انجام می‌دهند (Farhangi-Abriz and Torabian 2018). گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل تنش اکسیداتیو، مانند استفاده از سیستم آنزیمی دارند که قادراست رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین ببرد و خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را بهبود دهد. کاتالاز نیز به عنوان نوعی آنزیم مهم در مقابله با پراکسیدهیدروژن، قادر است که این ترکیب را به $H_2O$ و $O_2$ تجزیه کند. در این مطالعه افزایش نشت الکترولیتی و فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز برگ تحت تنش کادمیوم کاملا مشهود بود اما کاربرد ۲۰ میلی گرم در لیتر نانوذره آهن سبب بهبود شرایط تنش گردید (جدول ۱). در توافق با نتایج ما Sheykhbaglou و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند کابرد نانوذره آهن سبب بهبود رشد گیاه سویا در شرایط شوری می‌گردد. عسکری و همکاران (۲۰۱۷) و جلالی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که کاربرد نانودره اکسید آهن منجر به بهبود ظرفیت سیتم آنتی اکسیدانی در گیاه می‌شود که به دلیل افزایش در محتوی کلروفیل، قند، فعالیت آنزیم CAT و کاهش در محتوی MDA، $H_2O_2$ است که در تایید با نتایج ما می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که ۲۰ نانوذره آهن در حفاظت از گیاه در برابر تنش اکسیداتیو مفید بوده است.

**References**

Askary, M. Talebi, S.M. Amini, F. Dousti Balout Bangan, A. (2017) Effects of iron nanoparticles on Mentha piperita L. under salinity stress. Biologija. 63(1):65–67.

Chen, R. Zhang, C. Zhao,Y. Liu, Z. (2017) Foliar application with nano-silicon reduced cadmium accumulation in grains by inhibiting cadmium translocation in rice plants. Environmental Science and Pollution Research. 25(3):2361– 2368.

Gill, S.S, Hasanuzzaman, M. Nahar, K. Macovei, A. Tuteja, N. (2013) Importance of nitric oxide in cadmium stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 63:254–261.

Hasan, S.A. Hayat, S.H. Ahmad, A. (2011) Brassino steroids protect photosynthetic machinery against the cadmium induced oxidative stress in two tomato cultivars. Chemosphere. 84:1446–1451.

Hashem, A. Abd_Allah, E.F. Alqarawi, A.A. Al Huqail Asma, A. Egamberdieva, D.Wirth, S. (2015) Alleviation of cadmium stress in Solanum lycopersicum L.by arbuscular mycorrhizal fungi via induction of acquired systemic tolerance. Saudi journal of biological sciences. 23(2):272–281.

Kao, C.H. (2014) Cadmium stress in rice plants: influence of essential elements. *Crop*, *Environment* & *Bioinformatics*. 11:113–118.

Rastogi, A. Zivcak, M. Sytar, O. Kalaji, H.M. He, X. Mbarki, S. Brestic, M. (2017) Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: A critical review. Materials chemistry frontiers. 5:78-84.

Rui, M. Ma, C. Hao, Y. Guo, J. Rui, Y. Tang, X. Zhao, Q. Fan, X. Zhang, Z. Hou, T. Zhu, S. (2016) Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (Arachis hypogaea). Frontiers of plant science7:815-823.

Jalali, M. Ghanati, F. Modarres-Sanavi, A.M. (2016) Effect of $Fe_3O_4$ nanoparticles and iron chelate on the antioxidant capacity and nutritional value of soil-cultivated maize (Zea mays) plants. Crop and Pasture Science. 67(6): 621-628.

Tripathi, D.K., Singh, V.P., Prasad, S.M., Chauhan, D.K., and Dubey, N.K. (2015) Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in Pisum sativum (L.) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry.96:189-198.

Pál, M. Horváth, E. Janda, T. Páldi, E. Szalai, G. (2006) Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 169(2):239-246.

Farhangi-Abriz, S. Torabian, S.H. (2018) Nano-silicon alters antioxidant activities of soybean seedlings under salt toxicity. Protoplasma. 255 (3):953–962

Ci, D. Jiang, D. Wollenweber, B. Dai. T. Jing, Q. Cao, W. (2010) Cadmium stress in wheat seedlings: growth, cadmium accumulation and photosynthesis. Acta physiologiae plantarum. 32:365–373.

## Effect of $Fe_3o_4$ nanoparticles on antioxidant activity in tomato plant under cadmium stress

**Razieh Rahmati Zadeh[*1], Mohammad Javad Arvin[2] , Rashid Jamei**
*Corresponding Author's E-mail:* * Razieh_Rahmaty@yahoo.com
[1]*Biology Department, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran;* [2]*Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman*

**Abstract**

Nanotechnology has applications in all aspects of modern life, especially agriculture. The role of iron in reducing non-biological stresses has not been widely evaluated despite the fact that it is considered an essential element for plant growth. Therefore, in this study, it was attempted to assess the impact of four concentrations of $Fe_3o_4$ magnetic nanoparticles (0, 20, 50 and 100 mg/L) as well as three $CdCl_2$ concentrations (0, 100 and 200 µM) on tomato plant. Cadmium increased electrolyte leakage and oxidative Stress; however, 20 mg/L concentration of $Fe_3O_4$ nanoparticles improved cadmium toxicity. Overall, 20 mg/L concentration of $Fe_3O_4$ nanoparticles is potentially advantageous for plant growth and may stimulate various defense mechanisms of plants in response to cadmium.

**Keywords:** Antioxidant activity, Nanotechnology, Oxidative Stress, Heavy Metal.

# تأثیر سولفات روی و تلقیح قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مرحله جوانه‌زنی گندم

**فاطمه تقوی قاسمخیلی[۱*]، مریم جنابیان[۲]، همت‌اله پیردشتی[۳]، محمدعلی تاجیک قنبری[٤]، سید مصطفی عمادی[٥]، یاسر یعقوبیان[٦]**

[۱ و ۲] دانش‌آموخته دکتری رشته زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[۳] استاد، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[٤] دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[٥] استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[٦] دانش‌آموخته دکتری رشته زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

پست الکترونیک نویسنده مسئول: taghavi_mahsa@yahoo.com

## چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف سولفات روی بر میزان پروتئین، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین و آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در جوانه گندم آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شش سطح عنصر روی (صفر، ۰/٦، ٦، ٦٠، ۳۰۰ و ٦۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار تیمار قارچی (عدم تلقیح، *Trichoderma harzianum*، *Trichoderma longibrachiatum* و *Aspergillus niger*) بود. بر اساس نتایج، گیاهان تلقیح شده با *A. niger* در تمامی سطوح عنصر روی نسبت به سایر تیمارهای قارچی از کمترین میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) برخوردار بودند. همچنین گیاهان تلقیح شده با *T .harzianum* و *A. niger* در بالاترین سطح عنصر روی توانستند تأثیر بسیار معنی‌داری در افزایش میزان پرولین جوانه گندم (به ترتیب ۲/۹۷ و ۳/۳٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) نسبت به سایر تیمارها داشته باشند. از طرفی تیمارهای قارچی باعث افزایش قابل‌ملاحظه‌ی در فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی SOD در جوانه گندم شدند. در مجموع، نتایج بیانگر نقش مثبت قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* نسبت به عدم کاربرد قارچ در سطوح مختلف روی بر میزان آنزیم آنتی اکسیدان گندم بود.

**کلمات کلیدی**: آنتی اکسیدان، قارچ، گندم، مالون دی آلدهید

## مقدمه

عنصر روی (Zn) از جمله عناصری است که برای رشد طبیعی گیاه لازم بوده و جزء ساختمان حیاتی بسیاری از آنزیم‌ها و پروتئین‌ها است. این در حالی‌است که کمبود و یا بیش‌بود آن می‌تواند در گیاهان زراعی اثرات نامطلوبی از خود به‌جای گذارد (زینلی‌نژاد و فرزامی‌سپهر، ۱۳۹٤). از آسیب‌های مهم بافتی گیاهان به‌عنوان پاسخ اولیه در برابر سطوح بالای فلزات، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد. ROS ها مولکول‌های کوچک، ناپایدار و بسیار واکنش پذیری هستند که توانایی اکسید کردن پروتئین‌ها، لیپیدها و در نهایت تخریب DNA و مرگ سلولی را دارا می‌باشند (Romero-Puertas *et al.*, 2007). در بافت‌های گیاهی تخریب اکسیداتیو حاصل از تنش‌های زیستی و غیرزیستی معمولاً به‌وسیله سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی

آنزیمی و غیرآنزیمی خنثی می‌گردد (Sanita di Topp and Gabbrielli, 1999). از طرفی بهره‌برداری از همزیستی و همراهی بین گیاهان و ریزجانداران از مهم‌ترین راه‌های کاهش اثرات نامطلوب فلزات سنگین بر بافت‌های گیاهان زراعی می‌باشد (آرپادیجان و همکاران، ۲۰۰۸). لذا استفاده از پتانسیل‌های زیستی همچون قارچ‌های میکروبی می‌تواند در کاهش اثرات سمی عناصر و افزایش تحمل گیاهان تحت تنش محیطی مفید واقع شوند (جنابیان و همکاران، ۱۳۹۷). به این‌منظور آزمایشی جهت بررسی پتانسیل‌های همزیستی و همراهی قارچ‌های تریکودرما و آسپرژیلوس تحت تیمارهای مختلف عنصر روی بر پارامترهای بیوشیمیایی جوانه گندم انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

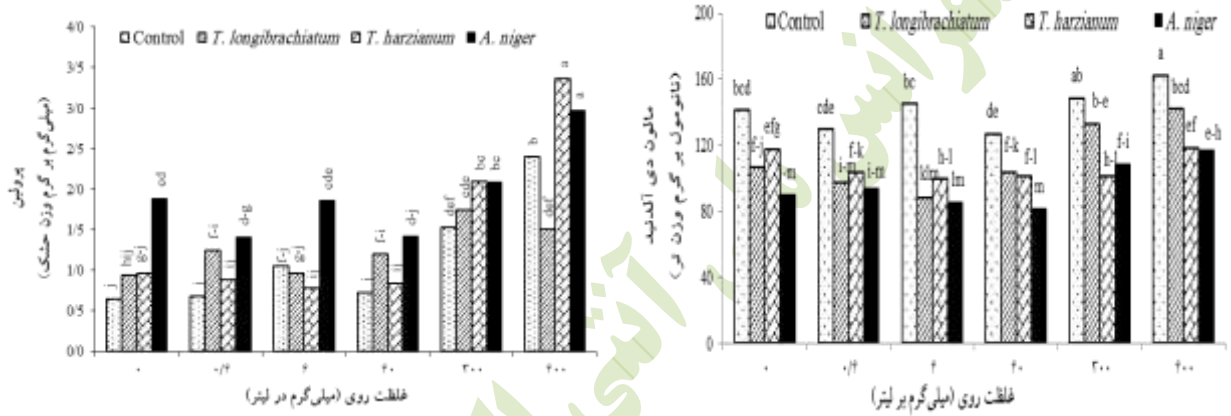
این پژوهش در پاییز ۱۳۹۹ در آزمایشگاه تنش‌های محیطی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو تیمار شامل چهار سطح از قارچ‌های میکروبی (بدون تلقیح، تلقیح با قارچ‌های *Trichoderma longibragiatum*، *Trichoderma harzianum* و *Aspergillus niger*) و شش سطح عنصر روی، (صفر، ۰/٦، ٦، ٦٠، ۳۰۰ و ٦۰۰ میلی‌گرم در لیتر) از منبع سولفات روی بود. تعداد 50 عدد بذرگندم (رقم احسان) تلقیح شده با قارچ در هر پتری‌دیش قرار داده شد. سپس به مقدار 10 میلی‌لیتر از محلول سولفات روی با غلظت‌های مشخص برای هر تیمار در داخل هر پتری‌دیش ریخته و برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. پس از نگهداری پتری‌ها به مدت یک هفته در ژرمیناتور با دمای ثابت 25 ℃نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (گیانوپولیتیس و رایس، ۱۹۷۷)، پرولین (بیتس و همکاران، ۱۹۷۳)، مالون دی‌آلدهید (اشرف و همکاران، ۲۰۱۷) و پروتئین محلول (Bradford, 1976) از جوانه‌های گندم انجام شد. درنهایت، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شدند. میانگین‌ها نیز براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد همراهی تیمارهای قارچی و سطوح مختلف سولفات روی بر تمامی صفات مورد مطالعه در این پژوهش اثر بسیار معنی‌داری داشت (داده‌ها نشان داده نشد). با توجه به شکل ۱ (الف)، کمترین میزان MDA در تیمار کاربرد قارچ *A. niger* با سطح ٦۰ میلی‌گرم در لیتر روی مشاهده شد که نسبت به تیمار عدم کاربرد قارچ حدود ۳٦ درصد کمتر بود. در زمینه تأثیر قارچ آسپرژیلوس بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته است لذا با توجه به نتایج، کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند نشان دهندهٔ کاهش آسیب بافتی و مهار تقریبی اثرات تنش، بهبود سیستم دفاعی و آنتی‌اکسیدانی گیاه در اثر همراهی با قارچ و افزایش آن در سایر تیمارها، بیانگر تنش اکسیداتیو و آسیب به لیپیدهای غشایی باشد (امینی و حداد، ۱۳۹۲). همچنین در پژوهشی مشخص شد در غلظت‌های بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر عنصر روی سمیت در گیاه ایجاد می‌شود (استراتو و همکاران، ۲۰۱٤). نتایج نشان داد گیاهان تلقیح شده با قارچ *T. harzianum* در بالاترین سطح عنصر روی از بیشترین میزان پرولین (افزایش چهار برابری نسبت به شاهد) برخوردار بود؛ در حالیکه با تیمار *A. niger* از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. این درحالی‌است که در سایر سطوح عنصر روی، حضور *A. niger* توانسته تأثیر بسیار معنی‌داری در افزایش

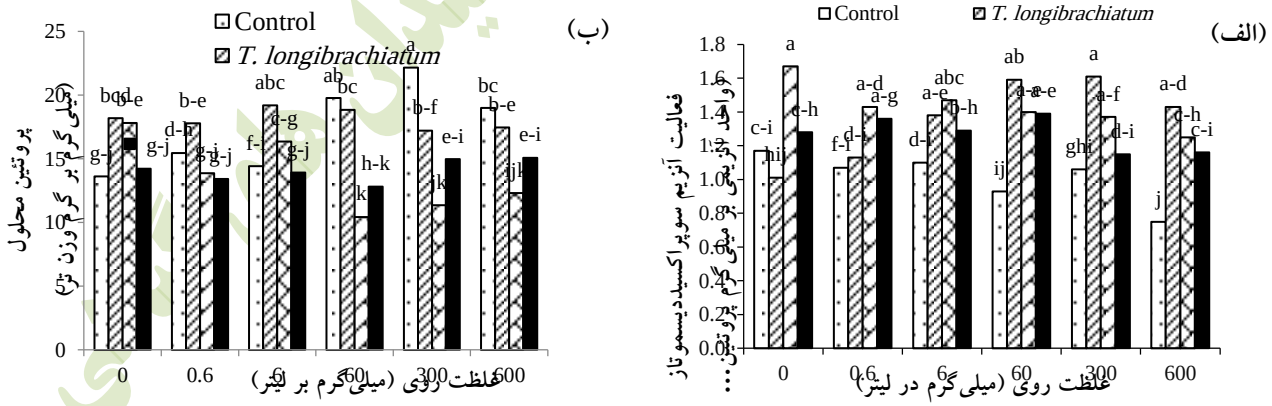
میزان پرولین جوانه گندم نسبت به سایر تیمارهای قارچی داشته باشد (شکل ۱، ب). با توجه به شکل ۲ (الف)، نتایج حاکی از فعالیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما نسبت به تیمار شاهد و قارچ *A. niger* بود. بر این اساس در سطح صفر تا ۶۰ میلی‌گرم در لیتر روی، تیمار *T. harzianum* از بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD در جوانه گندم برخوردار بود. همچنین در سطوح بالاتر تا سطح ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر، حضور قارچ *T. longibrachiatum* توانسته تأثیر بسیار معنی‌داری در افزایش میزان آنزیم مذکور نسبت به سایر تیمارهای قارچی داشته باشد. بیشترین میزان پروتئین محلول در جوانه گندم در تیمار عدم حضور قارچ و سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر روی (۶۲ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد) مشاهده شد؛ که با سطح ۶۰ میلی‌گرم در لیتر عنصر روی در یک گروه آماری قرار داشتند (شکل ۲ ب). علت افزایش پروتئین محلول در گیاه را می‌توان ناشی از شروع سنتز پروتئین‌های دفاعی

(ب) (الف)




شکل ۱- برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و تیمارهای قارچی بر میزان مالون دی‌آلدهید (الف) و پرولین (ب) در جوانه گندم

(ب) (الف)




شکل ۲- برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و تیمارهای قارچی بر میزان (الف) فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و (ب) پروتئین در جوانه گندم

در جهت مقابله با تنش در گیاهان دانست که بر متابولیت‌ها و آنزیم‌های موجود موثر می‌باشد (کوبت و گلدسبرگ، ۲۰۰۲). در مجموع، نتایج حاصل از این پژوهش، بیانگر اثر مثبت قارچ‌ها با افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD، میزان پرولین و کاهش

پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و در نتیجه کاهش آسیب به سلول‌های گیاهی جوانه گندم در برابر غلظت‌های مختلف عنصر روی می‌باشد.

**سپاسگزاری**

این مقاله برگرفته از طرح مصوب پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان با شماره ۹۸/٤٨٤/پ است که به این وسیله به خاطر حمایت‌های مالی در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

**فهرست منابع**

امینی، ز. و حداد، ر. (۱۳۹۲). نقش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقابل تنش اکسیداتیو. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۲٦: ۲٦۵-۲۵۱.

جنابیان، م.، پیردشتی، ه.، تاجیک قنبری، م.ع. و صادق‌زاده، ف. (۱۳۹۷). ارزیابی اثر قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma longibrachiatum* بر بهبود تحمل گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در خاک آلوده به کادمیوم. پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. کرج.۱۳-۱۵ شهریور. ۱۳۹۷.

زینلی‌نژاد، م. و فرزامی‌سپهر، م. (۱۳۹٤). مطالعه موردی معدن مس میدوک با تکیه بر تراکم عناصر سنگین در خاک و گیاهان منطقه. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی. ۱۰ (۳۸): ٦۸-۲٤.

Arpadjan S., Celik G., Taskesen S. and Gucer S. (2008). Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation. Food and Cheminal Toxicology. 46:2871-2875.

Ashraf U., Hussain S., Anjum S.A., Abbas F., Tanveer M., Noor M.A. and Tang X. (2017). Alterations in growth, oxidative damage, and metal uptake of five aromatic rice cultivars under lead toxicity. Plant Physiology and Biochemistry. 115: 461-471.

Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.

Btes L.S., Waldren R.P. and Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39 (1): 205-207.

Cobbett C. and Goldsbrough P. (2002). Phytochelatins and metalothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. Annual Review of Plant Biology. 53: 159- 182.

Giannopolitis C. and Ries S. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plant. Plant physiology. 59: 309-314.

Lambrechts T.G., Lequeue G. Lobet B., Godin Bielders C.L. and Lutts S. (2013). Comparative analysis of Cd and Zn impacts on root distribution and morphology of *Lolium perenne* and *Trifolium repens*: Implications for phytostabilization. Plant and Soil. 376 (1-2): 229-244.

Romero-Puertas M.C., Corpas F.J., Rodriguez-Serrano M., Gomez M., Del Río L.A. and Sandalio L.M. (2007). Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. Journal of Plant Physiology. 164: 1346–1357.

Sanita di Toppi L. and Gabbrielli R. (1999). Response to cadmium in higher plants- review. Environmental and Experimental Plant Botany. 41: 105-130.

Stratu A., Codita R., Costica N. and Lobiuc A. (2014). The influence of Zinc on seed germination and seedling growth of *Salvia coccinea* buchoz ex etl. Biologie Vegetală. 60: (1): 52-59.

# The effect of zinc sulfate and inoculation of Trichoderma and Aspergillus on antioxidant enzymes activity in wheat seedlings

**Fatemeh Taghavi Ghasem Kheili [1], Maryam Janabiyan [2], Hemmatollah Pirdashti [3], Mohammad Ali Tajick Ghanbari[4], Mostafa Emadi[5], Yasser Yyaghoubian[6]**

[1, 2] Ph.D. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[3] Professor, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[4] Associate Professor, Department of Plant Phytopathology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[5] Associate Professor, Department of Soil Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[6] Ph.D. of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
*Correspondence: taghavi_mahsa@yahoo.com

**Abstract**

In order to investigate the effect of different amounts of zinc sulfate ($ZnSO_4$) on the amount of protein, malondialdehyde (MDA), proline and antioxidant enzyme-superoxide dismutase (SOD) in wheat seedlings, an experiment was performed as a factorial based on completely randomized design with three replications. Experimental treatments included six levels of Zn (0, 0.6, 6, 60, 300 and 600 mg/l) and four fungal treatments (no inoculation, inoculation with *Trichoderma harzianum, Trichoderma longibrachiatum* and *Aspergillus niger*). According to the results, *A. niger* had the lowest amount of MDA in all levels of Zn as compared to other fungal treatments. Also, plants inoculated with either *T. harzianum* or *A. niger* at the highest levels of Zn showed a significant increase in the proline content as compared to other treatments. In general, fungal treatments effectively increased the activity of SOD antioxidant enzyme in wheat seedlings at higher levels of Zn.

**Keywords**: Antioxidant, Fungi, Wheat, Malondialdehyde

# مطالعه خواص فنولی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی گل اروانه اورامانی (*Hymenocrater longiflorus*Benth.) در ایران

*بصیره فتاح پور، محمد فتاحی**، عباس حسنی*

*: دپارتمان علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران*

., b_fatahpour@yahoo.com*mohamadfattahi@yahoo.com

**چکیده**

گیاه دارویی گل اروانه اورامانی با نام علمی *Hymenocrater longiflorus* Benth. بومی فلات ایران می‌باشد که در رشته کوه زاگرس می‌روید. در این مطالعه ویژگی‌های آنتی اکسیدانی این گیاه مانند فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین مقدار فنول و فلاونوئید در منطقه پاوه(برگ) به میزان (mg GAE/g DW) ۱۰۷,۱۸ و (mg QUE/g DW) ۱٤۳,٤٦به ترتیب حاصل شد. بیشترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی ۰,٦٥ µg/mL در منطقه پاوه (برگ) مشاهده شد.طبق نتایج به دست آمده بهترین گزینه برای خاصیت آنتی اکسیدانی منطقه پاوه و در برگ آن می باشد.

**کلمات کلیدی**:فعالیت آنتی اکسیدانی، فلاونوئید، فنول، *H.longiflorus*

**مقدمه:**

خانواده نعناع یکی از بزرگ‌ترین و خاص‌ترین خانواده گیاهان معطر می باشد که شامل ۲۲۰ جنس و در حدود ٤۰۰۰ گونه در دنیا می‌باشد. این خانواده منبعی عظیم از اسانس‌ها و ترپن‌ها با عملکرد سمی، دافع، ضد خورده شدن و ضد رشد برعلیه حشرات می باشد(Giatropoulos *et al*., 2018) . جنس *Hymenocrater Fisch*. & C.A. Mey متعلق به خانواده نعناع می باشد و حاوی دوازده گیاه چند ساله و بوته ای و پنج گیاه اندمیک در ایران می باشد (Jamzad *et al*., 2015).

گیاه دارویی گل اروانه اورامانی با نام علمی *Hymenocrater longiflorus* Benth. گیاهی اندمیک ایران و بومی فلات ایران می باشد که در رشته کوه زاگرس و کوه شاهو می روید. این گیاه بوته‌ای با رایحه‌ای قوی، برگ‌هایی سبز تا سبز تیره و گل‌هایی به رنگ بنفش روشن می باشد. بخش‌های هوایی گیاه چه به صورت خام یا به صورت پخته به عنوان ضد ورم، ضد نیش حشرات و دور کننده حشرات استفاده می‌شده است. این گیاه همچنین دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی می باشد. (Ahmadi *et al*, 2010)

**مواد و روش‌ها**

تهیه عصاره: به منظور تعیین خواص آنتی اکسیدانی گیاه *H. longiflorus* بخش‌های هوایی این گیاه در ماه‌های خرداد در مرحله گلدهی کامل جمع آوری شد. برای این کار در هشت منطقه برداشت انجام شد. این هشت منطقه شامل مناطق شه‌مشی، دالانی، قوری قلعه، گولی، ژالانه، پاوه، شمشیر و دزلی می‌باشند. سپس عصاره متانولی از برگ و گل آن تهیه شد. (Ebrahimzadeh *et al*., 2008)

تعیین میزان فنول کل: برای اندازه گیری مقدار فنول کل (TPC) برای هر عصاره از روش فولین سیوکالتیو استفاده شد. بدین منظور به ۱۰ میکرولیتر عصاره، ۱۲۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو (۱۰٪) و ۹۶۰ میکرولیتر سدیم کربنات (۷٪) و سپس به آن ۱۸۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار داده شد. سپس مقدار آن را در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد.

تعیین میزان فلاونوئید کل: روش آلومینیوم کلراید برای تعیین فلاونوئید کل استفاده شده است. برای تعیین مقدار فلاونوئید ۱۵ میکرولیتر از عصاره را درون لوله آزمایش ریخته و ۱۵۰ میکرولیتر نیترات سدیم ($NaNO_2$) به آن اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ($AlCl_3$) ۱۰٪ و سود (NaOH) یک مولار به آن اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس در طول موج ۳۸۰ نانومتر قرائت گردید. (Zhang *et al*., 2015)

تعیین آنتی اکسیدان: برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاه مورد نظر از روش جاروب کنندگی رادیکال DPPH روش Ang و همکاران (۲۰۱۵) با کمی تغییرات استفاده شد. برای اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه *H. longiflorus* از روش $IC_{50}$ استفاده شد. بدین منظور از عصاره‌های متانولی به میزان های ۲، ۵ و ۱۰ میکرولیتر درون لوله آزمایش ریخته و دو میلی لیتر محلول DPPH ۸۰٪ به آن اضافه میشود. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه بعد به وسیله اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانو متر خوانده شدند. برای مقایسه میزان خنثی کنندگی عصاره‌ها، عصاره متانولی آسکوربیک اسید (۲/۵ و ۱۰ میکرولیتر) نیز ساخته شد. و از فرمول زیر برای محاسبه آن استفاده شد.

$$\text{Inhibition\%} = \frac{A_B - A_A}{A_B} \times 100$$

از عصاره متانول ۸۰ ٪ برای بلنک و از DPPH بدون عصاره به عنوان شاهد استفاده شد. در اینجا $A_A$ DPPH همراه با عصاره می-باشد و $A_B$ DPPH بدون عصاره می‌باشد.

**نتایج و بحث:**

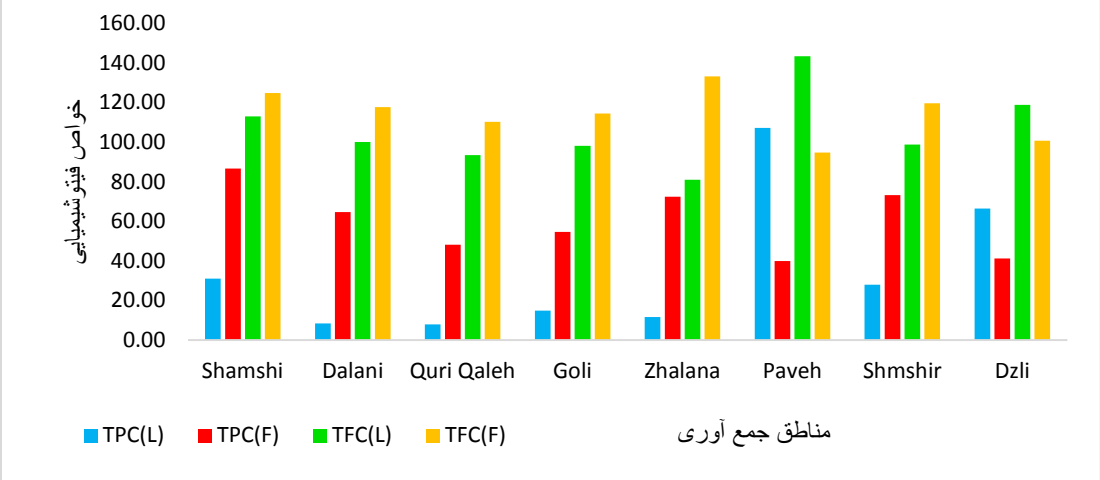
مطالعه حاضر نشان دادند که بیشترین میزان فنول در برگ (mg GAE/g DW) ۱۰۷/۱۸ در منطقه پاوه و کمترین میزان آن (mg GAE/g DW) ۷/۸۹ در منطقه قوری قلعه می‌باشد. همچنین بیشترین میزان فنول کل در گل در منطقه شه‌مشی (mg GAE/g DW) ۸۸/٦۲ و کمترین میزان آن در منطقه پاوه (mg GAE/g DW) ۳۹/۹۸ می‌باشد.

بیشترین میزان فلاونوئید کل در برگ در منطقه پاوه و به میزان (mg QUE/g DW) ۱٤۳/٤٦ و کمترین میزان (mg QUE/g DW) ۸۱/۰٤ در منطقه ژالانه می‌باشد. بیشترین مقدار فلاونوئید در گل در حدود (mg QUE/g DW) ۱۳۳/۲٦ در منطقه ژالانه می‌باشد. همچنین کمترین مقدار فلاونوئید در منطقه پاوه و به میزان (mg QUE/g DW) ۹۲/۸۲ می‌باشد. مقادیر فنول و فلاونوئید در نمودار ۱ قابل مشاهده می باشد.

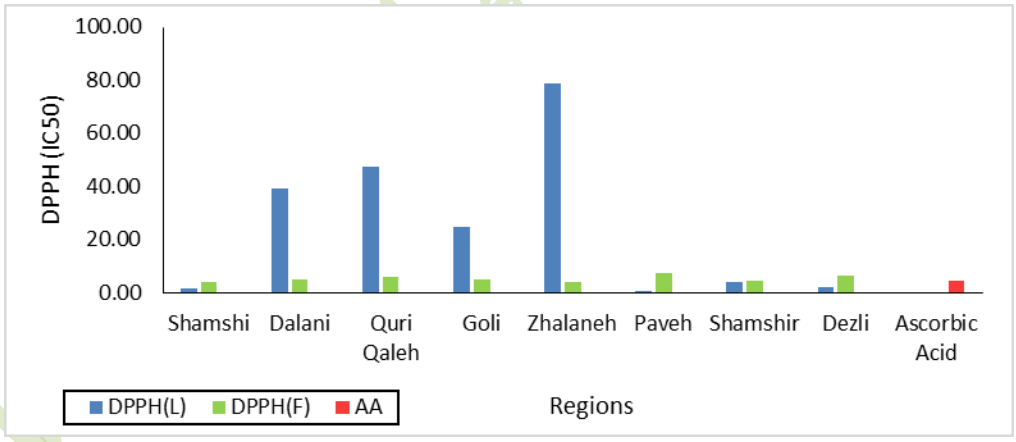
بیشترین خاصیت خنثی کنندگی رادیکال آزاد در برگ مربوط به منطقه پاوه و به میزان µg/mL ۰/٦۵ می‌باشد. بیشترین میزان فعالیت $IC_{50}$ در گل در منطقه شه‌مشی و به مقدار µg/mL ٤/۳۹ حاصل شد. کمترین مقدار $IC_{50}$ در برگ µg/mL ۷۸/۷٤ و در منطقه ژالانه و کمترین میزان آن در گل در منطقه پاوه µg/mL ۷/۷۱ مشاهده شد. مقادیر به دست آمده در نمودار۲ قابل مشاهده است.

## نتیجه گیری

بر طبق آنالیزهای همبستگی هرچه میزان TPC(F) و TFC(F) بیشتر باشد خاصیت آنتی اکسیدانی گل کمتر می‌شود. در این رابطه میزان فنول و فلاونوئید در گل رابطه عکسی با خاصیت خنثی کنندگی DPPH در گل دارد. و هر چه مقادیر TPC(L) و DPPH(L) بیشتر شود، خاصیت آنتی اکسیدانی برگ بیشتر می‌شود. در برگ خاصیت آنتی اکسیدانی رابطه مستقیمی با مقادیر فنول و فلاونوئید دارد.




**نمودار ۱ مقادیر فنول و فلاونوئید در گل و برگ گیاه *H. longiflorus***




**نمودار ۲ مقادیر DPPH در برگ وگل در گیاه *H. longiflorus***

## فهرست منابع:

Ahmadi/ F., Sadeghi/ S., Modarresi/ M., Abiri/ R. and Mikaeli A. (2010) Chemical composition, in vitro anti-microbial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus*Benth., of Iran. Food and Chemical Toxicology. 48(5): 1137-1144.

Ang/ L. Z. P., Hashim/ R., Sulaiman/ S. F., Coulibaly/ A. Y., Sulaiman/ O., Kawamura/ F. and Salleh/ K. M. (2015) *In vitro* antioxidant and antidiabetic activities of Glutatorquata. Industrial Crops and Products. 76: 755–760.

Ebrahimzadeh/ M.A., Hosseinimehr/ S.J., Hamidinia/ A. and Jafari/ M. (2008) Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacologyonline. 1(1): 7-14.

Giatropoulos/ A., Kimbaris/ A., Michaelakis/ A., Papachristos/ D.P., Polissiou/ M.G. and Emmanouel/ N. (2018) Chemical composition and assessment of larvicidal and repellent capacity of 14 Lamiaceae essential oils against *Aedesal bopictus*. Parasitology research. 117(6): 1953-1964.

Jamzad/ M., Ghorbanalipoor/ B., Taghva/ P.H., Jamzad/ Z. and Yari/ M. (2015) Chemical Composition of *Hymnocratere legans* Bunge. and *Lagochillus aucheri* Boiss. Two Labiateae Species from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 18(4):833-839.

Zhang/ D.Y., Yao/ X.H., Duan/ M.H., Wei/ F.Y., Wu/G.H. and Li/ L. (2015) Variation of essential oil content and antioxidant activity of *Lonicera species* in different sites of China. Industrial Crops and Products. 77:772-779.

# The study of Phenolic, flavonoid characteristic and antioxidant activity of Gole Arvaneh Avramani (*Hymenocrater longiflorus* Benth.) in Iran

***Authors:* Basireh Fatahpour, Mohammad Fattahi, Abbas Hassani**
*Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran*

**Abstract:**
Gole Arvaneh Avramani (*Hymenocrater longiflorus*Benth.) is a medicinal plant which is endemic to mountain range of Zagros of Iran. In this study antioxidant materials like phenol, flavonoid and antioxidant activity were determined. The highest amount of phenol and flavonoid in Paveh (leaf) was 107.18 (mg GAE/g DW) and 143.46 (mg QUE/g DW) respectively. As well as, the highest amount of radical scavenging of DPPH was 0.65 µg/mL in Paveh (leaf) population. According to results, the best suggestion for antioxidant activity is in leaf of Paveh region.

**Keywords:** Antioxidant activity, *H. longiflorus*, Flavonoid, Phenol

# تأثیر قارچ مایکوریزا و ورمی‌کمپوست بر محتوای فنولی گیاه گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) در شرایط تنش خشکی

الناز محمدی، محمد فتاحی *، محسن برین، ساناز اشرفی سعیدلو
آدرس: گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
*mohamadfattahi@yahoo.com ,elnaz.mohamadi.student@gmail.com.,

## چکیده

با توجه به اهمیت فراوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در سلامت انسان، به کارگیری روش‌هایی جهت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، بسیار حائز اهیت می‌باشد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر استفاده از ورمی‌کمپوست و قارچ میکوریزا بر محتوای فنلی گندم سیاه (*Fagopyrum esculenton*) در شرایط تنش خشکی، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. تیمارها شامل سه سطح تنش خشکی S0 (۱۰۰٪ FC)، S1 (۷۵٪ FC) و S2 (۵۰٪ FC)، دو سطح تلقیح میکوریزی M0 (بدون تلقیح میکوریزی) و M1 (با تلقیح میکوریزی) و دو سطح ورمی‌کمپوست V0 (بدون ورمی‌کمپوست) و V1 (با ورمی‌کمپوست) می‌باشد. نتایج نشان داد که قارچ مایکوریزا و تنش خشکی به طور مثبت و معنی‌داری، محتوای فنلی گیاه را تحت تأثیر قرار داد، اما ورمی‌کمپوست تأثیر معنی‌داری بر محتوای فنلی نداشت.

کلمات کلیدی: گندم سیاه، فلاونوئید، روتین، تنش کم‌آبی.

## مقدمه

گندم سیاه (*F. esculentum*)، گیاهی علفی و یکساله است. این گیاه متعلق به تیره‌ی علف هفت بند (*Polygonaceae*) بوده و منشا آن شمال چین گزارش شده است. این گیاه دارویی سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند فنول و فلاونوئید، به ویژه روتین می باشد که دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و محافظتی می‌باشد. گندم سیاه هم یک غله‌ی مغذی و هم گیاهی دارویی پر - ارزش می‌باشد (Zhang *et al*., 2010)، تنش خشکی یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی می‌باشد که تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان را با مشکل جدی رو به رو ساخته است. با این وجود تنش خشکی سنتز متابولیت‌های ثانویه همانند فنول و فلاونوئیدها را در گیاهان افزایش می‌دهند. این مواد دارای خواص ضد التهابی، ضد تورمی، ضد میکروبی، ضد آلرژی، ضد تومور، ضد آسم و آنتی اکسیدان هستند و توانایی درمان بسیاری از بیماری‌های انسانی را دارند (Kalinova *et al*., 2018).

از طرف دیگر استفاده از کودهای آلی همانند ورمی‌کمپوست که محصول فعالیت گروهی کرم‌های خاکی می‌باشند، به دلیل داشتن ساختار متخلخل، ظرفیت نگهداری بالای آب، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و عناصر مغذی فراوان، گزارش شده است که تاثیر مثبتی، بر افزایش متابوایت‌های ثانویه مانند فنول و فلاونوئید در گیاهان دارد (Hosseinzadeh *et al*., 2018). به علاوه محققان بر این باورند که استفاده از میکروارگانیسم‌هایی همانند قارچ مایکوریزا به سبب تأثیر مثبتی که بر جذب مؤثر آب و مواد مغذی، بهینه سازی سیستم ریشه‌ای، افزایش ظرفیت تنظیم اسمزی، تحریک رشد گیاه میزبان و بهبود ساختار خاک دارد می‌توانند سیستم دفاعی

آنتی‌اکسیدانی گیاهان را تقویت نمایند (Pavithra and Yapa, 2018). لذا در پژوهش حاضر اثرات قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست بر محتوای فنولی گیاه گندم سیاه، در شرایط تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

تهیه‌ی عصاره و آماده سازی نمونه‌ها: برای تهیه‌ی عصاره‌ی الکلی، مقدار ۰/۵ گرم از بافت خشک برگ توزین و در هاون چینی به طور کامل پودر گردید سپس داخل فالکون ۵۰ ریخته شد و ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ به آن اضافه گردید و پس از عمل ورتکس، به مدت ٤٥ دقیقه و در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد داخل دستگاه التراسونیک قرار گرفت. سپس نمونه‌ها از دستگاه خارج و با استفاده از کاغذ صافی و قیف عصاره‌ی شفاف به دست آمد (Pourmorad *et al.*, 2006).

فنول، فلاونوئید و روتین: فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو تعیین شد. منحنی استاندارد بر حسب گالیک‌اسید با غلظت‌های مختلف ترسیم و مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره معادل اسیدگالیک بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیان گردید (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008). میزان فلاونوئید با روش رنگ سنجی آلومینیم‌کلراید سنجش شد. میزان کل فلاونوئید در عصاره به صورت میلی‌گرم معادل کوئرسیتین بیان شد (Pourmorad *et al.*, 2006). برای اندازه روتین از روش Atanassova و Bagdassarian (۲۰۰۹) با اندکی تغییر استفاده گردید. برای تهیه‌ی استاندارد روتین از روتین خالص استفاده گردید.

## نتایج و بحث

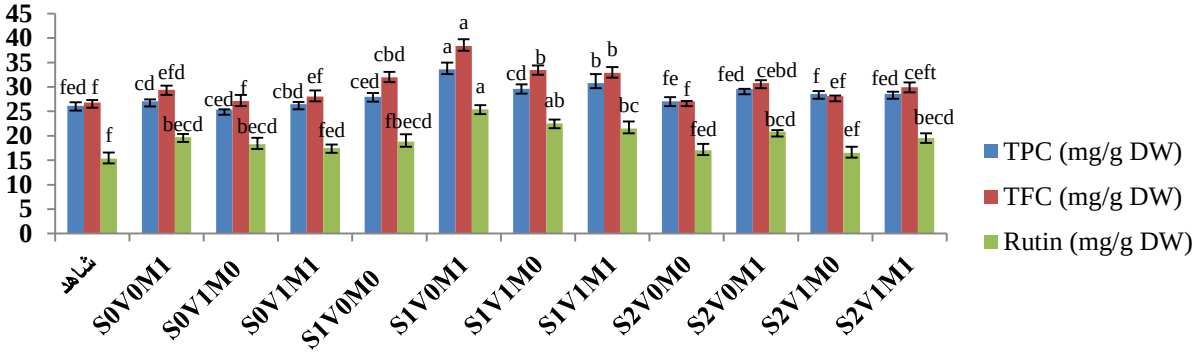
فنول، فلاونوئید و روتین: نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشان داد قارچ مایکوریزا و تنش خشکی میزان فنول، فلاونوئید و روتین گیاه گندم سیاه را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. اما ورمی‌کمپوست تأثیر معنی‌داری بر این پارامترها نداشت. بیشترین میزان فنل (۳۳/٦۲ mg/g DW)، فلاونوئید (۳۸/۳۷ mg/g DW) و روتین (۲۵/٤٤ mg/g DW) در تیمار سطح تنشی ملایم (۷۵٪ ظرفیت مزرعه) همراه با تلقیح میکوریزی و بدون کاربرد ورمی‌کمپوست به دست آمد که هر سه دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد می‌باشند. کم‌ترین میزان فلاونوئید (۲٦/۷٦ mg/g DW) و روتین (۱۵/۳۳ mg/g DW) در تیمار شاهد به دست آمد. کم‌ترین میزان فنل (۲۵/۳۳ mg/g DW) نیز در تیمار بدون تنش خشکی، همراه با کاربرد ورمی‌کمپوست و بدون تلقیح میکوریزی به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (شکل ۱).

در تحقیق حاضر قارچ مایکوریزا و تنش خشکی، تأثیر مثبتی بر تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند فنل، فلاونوئید و روتین در پیکره گیاه داشت. تنش خشکی سبب افزایش استرس اکسیداتیو، با تولید بیش از حد ROSها می‌شود که اثرات مخربی بر سلول‌ها دارد گیاهان جهت مقابله با اثرات مضر ROSها، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی (متابولیت‌های ثانویه مانند فنل فلاونوئید و روتین و ...) خود را افزایش می‌دهند (Naderi *et al.*, 2020). تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در پاسخ به همزیستی با قارچ مایکوریزا ممکن است به دلیل بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه میزبان، فعال سازی مسیرهای متابولیکی مربوط به این ترکیبات، افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی برای تولید این ترکیبات مانند فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و چالکون سنتاز (Chs) باشد ( Zhang *et al.*, 2013). در پژوهش حاضر ورمی‌کمپوست نیز سبب بهبود محتوای فنلی گیاه گردید (در مقایسه با شاهد) اما در مقایسه با قارچ مایکوریزا تأثیر اندکی داشت. محققان بر این باورند ورمی‌کمپوست در بیوسنتز ترکیباتی که تولید اسید شیکیمیک بیشتری را

**جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست بر محتوای فنلی گیاه گندم سیاه در شرایط تنش خشکی**

| | | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | DF | فنول | فلاونوئید | روتین |
| خشکی (s) | ۲ | ۵۴/۲۴ ** | ۱۳۷/۲۲۸** | ۶۴/۶۸ ** |
| ورمی‌کمپوست (v) | ۱ | ۱/۶ ns | ۴/۶۵۸ ns | ۰/۳۶۶ ns |
| مایکوریزا (m) | ۱ | ۳۴/۱۶۴ ** | ۵۲/۱۵۲ ** | ۶۴/۲۴ ** |
| s×v | ۲ | ۰/۵۴۶ ns | ۳/۶۴۷ ns | ۱/۲۳۳ ns |
| s×m | ۲ | ۴/۸۳۸** | ۱/۶۶۸ ns | ۱/۹۲۶ ns |
| m×v | ۱ | ۹/۶۴۱** | ۲۸/۹۲** | ۶۴/۴۸۹ ** |
| s×v×m | ۲ | ۴/۱۵۶** | ۶/۶۰۹ * | ۹/۲۰۷ * |
| خطا | ۲۲ | ۰/۷۵ | ۱/۶۶ | ۲/۵۴ |
| ضریب تغییرات | – | ۳/۰۰۶ | ۴/۲۵ | ۸/۰۶۴ |

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشد.




**شکل ۱- نتایج مقایسه‌ی میانگین تأثیر متقابل تنش خشکی، ورمی‌کمپوست و قارچ ماکوریزا بر میزان فنل کل (TPC)، فلاونوئید کل (TFC) و روتین گندم سیاه**

القا می‌کنند و منجر به تولید بیشتر فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی می گردند، نقش دارد (Naguib *et al.*, 2012).

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، توصیه می‌گردد جهت افزایش محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گندم سیاه، از تلقیح میکوریزی در شرایط سطح تنشی ملایم (۷۵٪ ظرفیت مزرعه)، بدون کاربرد ورمی‌کمپوست، استفاده گردد. با توجه به اینکه گندم سیاه از ریشه‌های سطحی برخوردار بوده و نسبت به کم‌آبی حساس می‌باشد، استفاده از سطح تنشی شدید (۵۰ ٪ ظرفیت مزرعه) توصیه نمی‌گردد.

## فهرست منابع

Hosseinzadeh, S., Amiry, H. and Ismailli, A. (2018). Evaluation of photosynthesis, physiological, and biochemical responses of chickpea (*Cicer arietinum* L. *cv*. Pirouz) under water deficit stress and use of vermicompost fertilizer. Journal of Integrative Agriculture. 17: 2426-2437.

Kalinová, J. P., Vrchotová, N. and Tříska, J. (2018). Contribution to the study of rutin stability in the achenes of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). Food Chemistry. 258: 314–320.

Pavithra, D. and Yapa, N. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation enhances drought stress tolerance of plants. Groundwater for Sustainable Development. 7:490-494.

Zhang, M., Chen, H., Li, J., Pei, Y., and Liang, Y. (2010). Antioxidant properties of Tartary buckwheat extract as affected by different thermal processing methods. LWT-Food Science and Technology. 43(1): 181–185.

Naderi, S., Fakheri, B. A., Maali-Amiri, R. and Mahdinezhad, N. (2020). Tolerance responses in wheat landrace Bolani are related to enhanced metabolic adjustments under drought stress. Plant Physiology and Biochemistry.3:123-230.

Atanassova, M. and Bagdassarian, V. (2009). Rutin content in plant products. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. 44(2):201-203.

Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. and Jafari, M. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Planta Journal. 1(1): 7-14.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, SJ. and Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 5(11):1142-1145.

Zhang, R. Q., Zhu, H. H., Zhao, H. Q. and Yao, Q. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. Journal of Plant Physiology. 170(1):74-79.

Naguib, A. E. M. M., El-Baz, F. K., Salama, Z. A. and Hanaa, H. A. E. B. (2012). Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of Broccoli (*Brassica olaracea*, var. Italica) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 11(2):135-142.

# Effect of mycorrhiza and vermicompost on phenolic content of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) under drought stress conditions

***Elnaz Mohamadi*, Mohammad Fattahi, mohsen Barin, Sanaz Asrafi**

Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

**Abstract***:*
Due to the great importance of natural antioxidants in human health, the use of methods to increase the antioxidant activity of plants is very important. The present study was conducted to investigate the effect of using vermicompost and mycorrhizal fungus on the phenolic content of buckwheat (*Fagopyrum esculenton*) under drought stress conditions, in the research greenhouse of Urmia University. Treatments included three levels of drought stress S0 (100% FC), S1 (75% FC) and S2 (50% FC), two levels of mycorrhizal inoculation M0 (without mycorrhizal inoculation) and M1 (with mycorrhizal inoculation) and two levels of vermicompost V0 (Without vermicompost) and V1 (with vermicompost). The results showed that mycorrhiza and drought stress positively and significantly affected the phenolic content of the plant. But vermicompost had no significant effect on phenolic content.

**Keywords:** Buckwheat, Flavonoid, Rutin, Drought stress.