نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۴۰، زمستان ۱۳۹۴ / صفحات: ۶۱-۵۱

بررسی تغییرات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی دو گیاه هالوفیت *Climacoptera turcomanica* (Litw.) Botsch. و *Frankenia hirsuta* Desf. تحت تاثیر فصل برداشت در رویشگاه طبیعی صوفیکم استان گلستان

سیده‌هاجر رضایی کنتی[۱]، مه‌لقا قربانلی[*۲]

[۱]کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد واحد گرگان، گرگان

[۲]استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۵ تاریخ پذیرش:۹٤/۱۲/۷

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی تغییرات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو هالوفیت *Climacoptera turcomanica* و *Frankenia hirsuta* در منطقه صوفیکم بود. گونه‌های مورد آزمایش به‌طور تصادفی در دو فصل پاییز و بهار با ٤ تکرار جمع‌آوری شدند. نتایج آماری نشان داد که نوع گونه بر مقدار فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱ درصد و بر مقدار آنتوسیانین کل در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری داشت و اختلاف در فصل برداشت بر تمامی شاخص‌های فیتوشیمیایی مورد مطالعه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل این دو بر مقدار فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱ درصد دارای اثر معنی‌دار و بر مقدار آنتوسیانین کل فاقد اثر معنی‌دار بود. همچنین بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فصل بهار در گونه *F.hirsuta* مشاهده شد. طبق نتایج به‌دست آمده مقایسه بین دو فصل برداشت نشان داد که در گیاه *C. turcomanica* فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فصل پاییز نسبت به فصل بهار بیشتر بود. در هر دو فصل برداشت بیشترین مقدار فنل کل در گونه *Frankenia hirsuta* مشاهده شد. همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل پاییز نسبت به فصل بهار بیشتر بود. مقدار آنتوسیانین کل نیز در فصل بهار در گونه *Frankenia hirsuta* بیشتر بود و در فصل پاییز اختلاف معنی‌داری بین دو گونه مشاهده نشد. همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل پاییز از بالاترین مقدار برخوردار بود. مقدار فلاونوئید کل نیز در فصل پاییز در گونه *Frankenia hirsuta* بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، فلاوونوئیدها فنول‌ها، هالوفیت، DPPH

مقدمه

هالوفیت‌ها گیاهان گلداری هستند که به‌طور طبیعی در زیستگاه‌های شور از قبیل باتلاق‌های ساحلی، و مناطق مسطح نمک و زمین‌های ویران شده با روش‌های نادرست کشاورزی یافت می‌شوند. این گیاهان با استراتژی‌های زیادی زنده مانده‌اند و در شرایط بسیار شور که بسیاری از گیاهان نمی توانند رشد کنند تولید مثل می‌کنند. این استراتژی‌ها، تغییرات در سطح سلولی و مولکولی تا چند سازگاری‌های مورفوآناتومی می‌تواند باشد. هالوفیت‌ها

[*]نویسنده مسئول: mahlaghaghorbanly@gmail.com

با استفاده از ترکیبات ویژه و در شرایط بسیار شور می‌توانند زنده بمانند و بهتر رشد کنند. برخی از این گیاهان مقاوم به نمک و مصارف اقتصادی دارند و می‌توانند نیاز انسان‌ها خصوصاً غذا، علوفه، سوخت و دارو را برآورده کنند (Abdul Hameed and *Climacoptera turcomanica* Ajmalkhan, 2011). متعلق به منطقه ایران و توران و اغلب در شوره زارها می‌روید. این گیاه در ایران آسیای مرکزی و افغانستان پراکنده می‌باشد. پراکندگی در ایران در شمال غرب، مرکز، شمال شرق، جنوب، جنوب شرق می‌باشد. محل‌های رویشی در ایران شامل: گرگان، گمیشان، ۳۳ کیلومتری گمیشان به اینچه برون، آذربایجان، لرستان، اصفهان، یزد، فارس، هرمزگان، بوشهر، خوزستان، کرمان، بلوچستان، سمنان، تهران می‌باشد (اسدی، ۱۳۸۰).

در مطالعاتی که روی دوفراکسیون از اندام هوایی در *Frankenia thymifolia* براساس مقدار فنولیک و فعالیت‌های بیولوژیکی آنها انجام شده است، نتایج به‌دست آمده نشان داد که بخش قطبی حاوی بالاترین پلی فنل، فلاونوئید و تانن است. افزایش مقدار فنولی در بخش قطبی منعکس کننده بهترین ظرفیت کل آنتی اکسیدان است (Megdiche et al., 2011). در دهه گذشته علاقه‌ای جدید به جستجو برای ترکیبات فیتوشیمیایی به‌دست آمده از گیاهان طبیعی و بومی جهت تهیه مواد آرایشی، دارویی و تغذیه‌ای اتفاق افتاده است (Oktay et al., 2003; Wangensteen et al., 2004). با این شناخت که محصولات یا فرآورده‌های به دست آمده از آنها می‌توانند برای حوزه داروسازی مفید باشند (Cragg et al., 1996 ; Borchardt et al., 2008). این امر اساساً به خاطر فعالیت بالای بیولوژیکی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در آنان است (Suhaj, 2006). علاوه بر این از آنتی‌اکسیدان‌ها برای حفظ کیفیت غذا بسیار استفاده می‌کنند چرا که آنها مانع اکسایش در لیپیدها می‌شوند (Akinmoladun et al., 2007). در این میان هالوفیت‌ها یا گزروهالوفیت‌ها می‌توانند جزء کاندیدای خوب به خاطر داشتن اسیدهای چرب اشباع نشده در آنان مثل اسیدهای چرب (امگا ۳ و امگا ٦)، بتا کاروتن و سایر رنگدانه‌ها، استرول‌ها، روغن‌های اساسی و همین‌طور مولکول‌های زیستی فعال به‌طور مثال ترکیبات فنولی و به‌طور خاص‌تر فلوروتانین‌ها، ترپن‌ها و آلکالوئیدها که دارای آنتی‌اکسیدان، آنتی‌میکروبیال، ضدتورم، التهاب و ضدفعالیت‌های توموری باشند (Balasundram et al., 2006, Ksouri et al., 2009). در گیاهان گزروهالوفیت‌ها، سنتز پلی‌فنول و انباشتگی به‌طور آن‌ها در واکنش به استرس و تنش‌های هوازی و غیرهوازی تحریک می‌شود (Naczk and Shahidi, 2004) مثل شوری، (Navarro et al., 2006)، که باعث می‌شود متابولیت‌های ثانویه در استفاده از گونه‌های هالوفیت محدود شود (Ksouri et al., 2007). سوی دیگر فواید فیزیولوژیکی این گیاهان به خاطر نقش احتمالی آنان در بازدارندگی از پراکسیداسیون لیپیدها، تنظیم مسیرهای انتقال سیگنال دهی سلول است (Hou et al., 2004, Tabart et al., 2007). هالوفیت‌ها به خاطر توانایی که در مقاومت نسبت به گونه‌های اکسیژن واکنشگر دارند معروف و شناخته شده هستند چرا که آنها به یک سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی مجهز هستند که شامل ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی می‌شوند (Lee et al., 2011). یکی از بزرگ‌ترین گروه آنتی‌اکسیدان‌ها فلاونوئیدها هستند که عمدتاً در میوه‌ها، برگ‌ها، ریشه‌ها و ساقه سبزیجات، حبوبات و چای یافت می‌شوند. فلاونوئیدها اثر آسکوربات را تقویت کرده و از مواد دیگری که به راحتی اکسید می‌شوند محافظت می‌کنند (Sarma et al., 1997). حدود ۵۰۰۰ فلانوئید گزارش شده است که بدون شک هنوز تعداد زیادی نیز بدون کشف باقی مانده‌اند. فلانوئیدها دارای ساختار پلی‌فنل با توان

حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این ترکیبات به‌دلیل ماهیت آبدوست خود، واکوئل‌ها و بخشی در دیواره سلول قرار دارند یعنی جایی که گروهای اکسیژن واکنشگر (ROS) کمتر به آنجا نفوذ می‌کنند. فلاونوئیدها دارای ارزش تکاملی بسیار مهمی از نظر بیوسنتز و عملکرد هستند. این متابولیت‌های ثانویه، دارای اعمال مختلفی می‌باشند که یکی از آنها فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Sarma et al., 1997). فنول‌ها جزء بسیار مهمی از ترکیبات گیاهی هستند چرا که آنها توانایی پاک کنندگی را در نتیجه تشکیل گروه‌های هیدروکسیل داشته (Hatano et al., 1989) و مستقیماً در واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی شرکت می‌کنند (Duh et al., 1999). مشخص شده است که ترکیبات پلی‌فنولیک اثرات بازدارنده‌ای روی جهش‌ها و مواد سرطان‌زا در انسان دارند (Ningappa et al., 2008). آنتوسیانین‌ها یکی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، بلکه از تولید بیشتر آن‌ها در گیاه جلوگیری می‌کنند. گیاهان با تولید و تجمع آنتوسیانین در لایه‌های اپیدرمی می‌توانند باعث کاهش اثرهای تنش اکسیداتیو شوند (رمضانی ویشکی، ۱۳۹۲). پلی‌فنول‌ها جزء آنتی‌اکسیدان‌های تغذیه‌ای محسوب می‌شوند که در هالوفیت‌ها به خاطر توانایی که در مقاومت نسبت به گونه‌های اکسیژن واکنشگر دارند معروف و شناخته شده هستند چرا که آنها به یک سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی مجهز هستند که شامل ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی می‌شوند (Lee et al., 2011). از آنجایی که علاقمندی قابل توجهی نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های با اصل و منشأ طبیعی حاصل شده است تلاش‌هایی هم در یافتن منابع جایگزین این آنتی‌اکسیدان‌ها صورت گرفته است. بنابراین منطقی است که گیاهانی مثل‌هالوفیت‌ها به خاطر مصرفی که در غذا و مصارف دارویی دارند مورد شناسایی قرار گیرند (Chakraborty et al., 2010). محققان بر روی آنتی‌اکسیدان‌ها و نظیر ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها در سه گونه‌هالوفیت که در لیبی رشد می‌کنند مطالعاتی انجام دادند که نتایج غربال‌گیری نشان داد میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در *Anabasis* و *Mesembry anthemum* در مقایسه با *Limoniastrum* بیشتر است و مقدار قابل توجهی از فلاونول‌ها در عصاره‌های *Anabasis* موجود است. در میان همه عصاره‌های گیاهی *Anabasis* عصاره اتانول و اتیل استات فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را در مقایسه با کل عصاره‌های دیگر نشان داد. از طرفی دیگر سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH نشان داده شده که عصاره *Mesembry anthemum* دارای فعالیت متوسط و عصاره‌های Limoniastrum دارای خاصیت کمتری بود (Hamdoon et al., 2013). مطالعاتی که در دو گونه در رابطه با خواص آنتی‌اکسیدانی *Mesembryanthemum crystallinum* و *Carpobrotus edulis* انجام شد (Bouftira et al., 2012). نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در عصاره دو گیاه بود که از ۷۰ درصد بازدارنده DPPH تجاوز کرد (Bouftira et al., 2012).

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی منطقه: منطقه شکار ممنوع صوفیکم در شمال آق قلا و بین دو مجموعه زیستی مهم تالاب‌های بین‌المللی آلاگل، آلماگل و آجی گل در شرق و تالاب بین‌المللی گمیشان و سواحل شرقی دریای خزر در غرب قرار گرفته است. از شمال به مرز ترکمنستان و از جنوب به سه راهی تقاطع جاده آق‌قلا به اینچه برون با جاده شوسه منتهی به پاسگاه انتظامی صوفیکم و در امتداد آنها به طرف غرب تا عمق ۱۶۰۰ متری و سپس به طرف غرب تا آبریز جنوبی تپه تن باران و در امتداد به‌سمت غرب تا چاه

سنگر تپه، در غرب در امتداد جاده سنگر تپه و شرق نیز از پاسگاه پل غربی به سمت جنوب قرار دارد.

مشخصات جغرافیایی منطقه مورد مطالعه: برابر چرخش عقربه‌های ساعت مشخصات جغرافیایی منطقه مورد مطالعه به شرح زیر است:

۱- جنوب شرقی واقع در سه راهی صوفیکم

$37^{\circ},13',26/59''N\ -54^{\circ},29',10/65''E$

۲- جنوب غربی، تقاطع با جاده آتین تخماق به جاده سنگر تپه

$37^{\circ},12',51/11''N\ -54^{\circ},18',2/20''E$

۳- شمال غربی در محل پاسگاه سنگر تپه

$37^{\circ},18',43/31''N\ -54^{\circ},15',12/16''E$

٤- شمال شرقی در محل پاسگاه پل شرقی

$37^{\circ},24',15/26''N\ -54^{\circ},28',24/87''E$

۵- تقاطع کانال شور با جاده اینچه برون

$37^{\circ},20',52/04''N\ -54^{\circ},33',4/65''E$

٦- در امتداد جنوب تا سه راهی صوفیکم

عملیات صحرایی جمع‌آوری نمونه‌ها در منطقه: مهمترین کار در عملیات صحرایی جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی کامل و بدون آفت است. گیاهان مورد مطالعه از محل مورد نظر جمع‌آوری و درون نایلونی با ذکر فصل برداشت و تاریخ قرار گرفته و برای خشک کردن و فریز کردن به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها به‌صورت تصادفی با چهار تکرار در دو فصل پاییز و بهار جمع‌آوری شده و مطالعات روی اندام هوایی گیاهان انجام گرفت.

سنجش ترکیبات فنلی (Matta et al., 1969): برای سنجش ترکیبات فنلی، ابتدا اندام هوایی و ریشه، از گیاهان مورد مطالعه جدا شد و ۰/۱ گرم وزن تر نمونه‌های مورد مطالعه توزین گردید. سپس نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد قرار داده شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در الکل جوشانده شد. سپس نمونه‌ها در دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد محلول فوقانی جدا و با الکل ۸۰ درصد به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول برداشته شد و ۲/۵ میلی‌لیتر فولن رقیق شده (۱:۳) و ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع به آن اضافه شد. لوله‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند و ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا و جذب در طول موج ٦٤٠ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه خوانده شد. برای یافتن غلظت ترکیبات فنلی از منحنی استاندارد گالیک اسید با غلظت‌های مختلف استفاده شد. مقدار این ترکیبات برحسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم وزن‌تر ($mgGAEg^{-1}FW$) نمونه‌ها محاسبه شد.

سنجش فلاونوئید کل (Chang et al., 2002): جهت عصاره‌گیری ۱ گرم نمونه پودر خشک با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط شد و به‌مدت ٢٤ ساعت روی شیکر قرار داده شد و سپس سانتریفیوژ شد. اندازه‌گیری فلاونوئید کل بر اساس روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکی (متانولی ۸۰ درصد) حاصل در یک لوله آزمایش ریخته شد، سپس به آن ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه گردید، پس از آن ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. پس از گذشت نیم ساعت جذب آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤١٥ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس غلظت‌های ۱۲/۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول کوئرستین رسم شد و میزان فلاونوئید معادل میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و تعیین شد ($mgQUEg^{-1}DW$).

سنجش آنتوسیانین کل (Nougés and Baker, 2000): جهت سنجش آنتوسیانین، ۱ گرم از بافت تر گیاهان توزین شد و بعد از قطعه قطعه شدن در ۱۰

میلی‌لیتر متانول اسیدی (HCl: متانول، ۱: ۹۹ حجمی/ حجمی) قرار گرفت و به‌مدت ٤٨ ساعت در یخچال قرار داده شد. سپس بعد از همگن و سانتریفیوژ نمودن نمونه‌ها، جذب عصاره رویی توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. سپس مقدار آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی و فرمول A=εbc محاسبه شد. که در آن مقدار ε یا ضریب خاموشی معادل $۳۳۰۰۰ cm^2 Mol^{-1}$، A بود. در انتها در جرم مولکولی سیانیدین- ۳- گلوکوزید (٤٨٤/٩ میلی‌گرم بر مول) و ضریب رقت عصاره ضرب و سپس تقسیم بر گرم وزن‌تر شد و براساس میلی‌گرم معادل سیانیدین- ۳- گلوکوزید در گرم وزن تر ($mgCGEg^{-1}FW$) بیان شد.

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (Sun et al., 2007): ابتدا عصاره‌های گیاهی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در متانول ۸۰ درصد تهیه شد. بدین‌صورت که ۱ گرم از بافت تازه هر گیاه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد سائیده و سپس با کاغذ صافی صاف شد. برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها از رادیکال آزاد DPPH (2,2- Diphenyl- Picryl- Hydrazyl) استفاده شد. ابتدا مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (۱۰۰ ml متانول خالص+ ۰/۰۰٤ g پودر DPPH) و عصاره‌های گیاهی تهیه شد. جذب نمونه‌ها بعد از ٤٠ دقیقه در تاریکی و در دمای آزمایشگاه، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد.

$$R\% = [(AD - AS)/AD] \times 100$$

R%= درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

AD= جذب محلول DPPH در ۵۱۷ نانومتر

AS= جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار از هر نمونه انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی و مقایسه میانگین بین گروه‌ها در سطح ۵ درصد با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ رسم شد..

نتایج

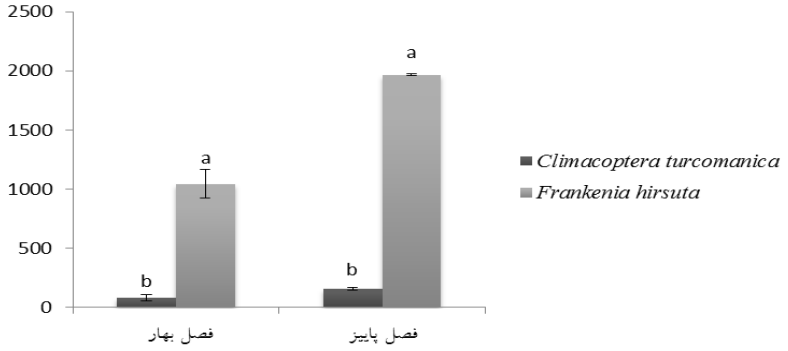
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع گونه بر مقدار فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی در سطح ۱ درصد و بر مقدار آنتوسیانین کل در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری داشت و اختلاف در فصل برداشت بر تمامی شاخص‌های فیتوشیمیایی مورد مطالعه در سطح ۱ درصد دارای اثر معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل این دو بر مقدار فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی در سطح ۱ درصد اثر معنی‌دار داشت و بر مقدار آنتوسیانین کل فاقد اثر معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس شاخص‌های فیتوشیمیایی مورد مطالعه تحت تأثیر اختلاف گونه و فصل برداشت

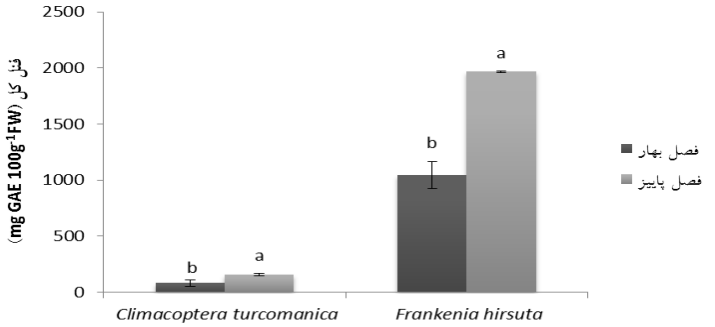
منابع تغییر	درجه آزادی	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی
تکرار	۳	۲۳٤۹۲۹۸/۰٤۳ **	۱٦۲/٦۰۰ **	۹۲/۱۲۲ **	٤۱۲/۸۸۰ **
گونه	۱	۵۷٦۸۵٤۷/۲۰۰ **	۱۳۲/۸۰۱ **	۹/۲۰۵ *	۲۹/۳٤۰ **
فصل برداشت	۱	۷٤٦۹۸۸/۰۳۰ **	۲۹۷/۰۰۸ **	۳۰۸/۵۲٦ **	۱۳/۱٤۹ **
گونه× فصل برداشت	۱	۵۳۲۳۵۸/۹۰۰ **	۵۷/۹۹۲ **	۳/٤۸۸ ns	٤۱٦/٦۵۹ **
خطای آزمایشی	۸	۳۹۰٤/۵۸٦	۱/۹۵۱	۰/۸۵۵	۱۹/۳٤۵
ضریب تغییرات (درصد)	–	۹۸/۷۰۰	٤٦/۱۸۸	۹۸/۷٦٤	۱٤/۹۷۰

علامت‌های **، * و ns به ترتیب به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند

مقدار فنل‌های کل: نتایج نشان داد که هم در فصل بهار و هم در فصل پاییز مقدار فنل کل در گونه *Frankenia hirsuta* نسبت به *Climacoptera turcomanica* به صورت معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۱– الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به‌صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود (شکل ۱–ب).

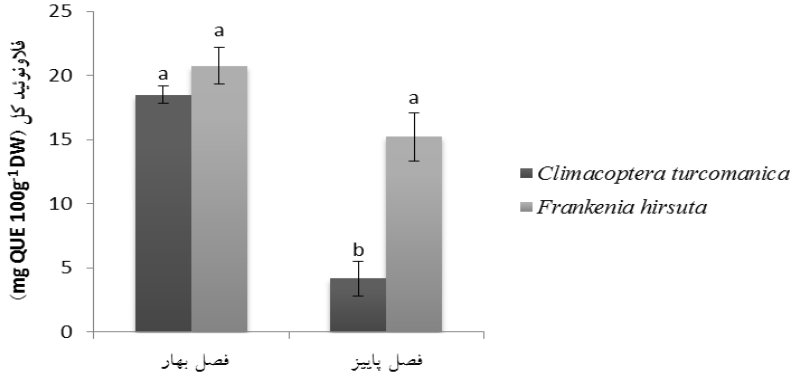


شکل ۱: الف) مقدار فنل کل بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta*

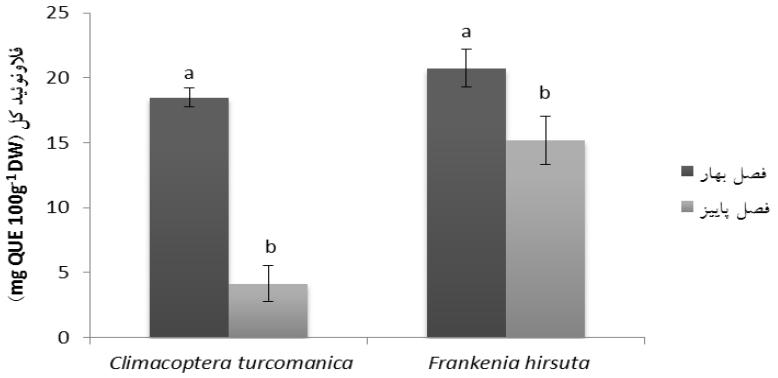


شکل ۱: ب) مقدار فنل کل بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta* تحت تاثیر فصل برداشت

مقدار فلاونوئیدهای کل نتایج نشان داد که مقدار فلاونوئید کل در فصل پاییز در گونه *Frankenia hirsuta* نسبت به *Climacoptera turcomanica* به صورت معنی‌داری بیشتر بود و در فصل بهار اختلاف معنی‌داری بین دو گونه مشاهده نشد (شکل ۲– الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل بهار نسبت به فصل پاییز به صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود (شکل ۲–ب).

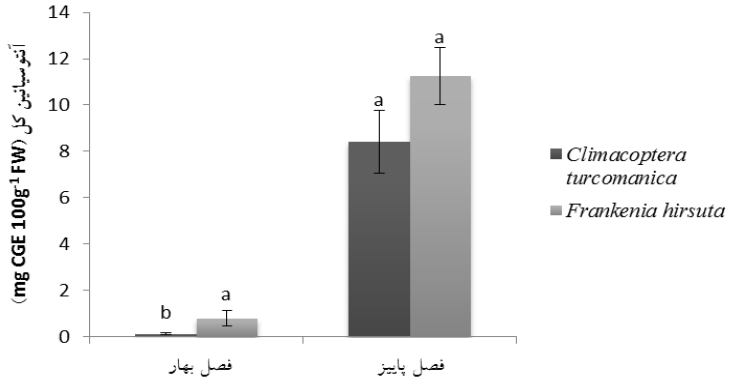


شکل ۲: الف) مقدار فلاونوئید کل بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta*

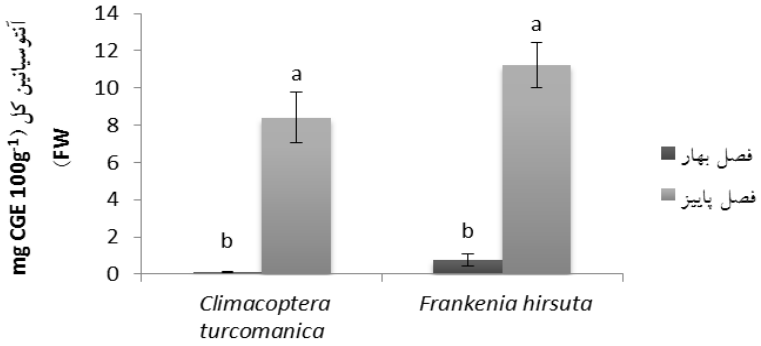


شکل ۲: ب) مقدار فلاونوئید کل بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta* تحت تاثیر فصل برداشت

مقدار آنتوسیانین‌های کل: نتایج نشان داد که مقدار آنتوسیانین کل در فصل بهار در گونه *Frankenia hirsuta* نسبت به *Climacoptera turcomanica* به صورت معنی‌داری بیشتر بود و در فصل پاییز اختلاف معنی‌داری بین دو گونه مشاهده نشد (شکل ۳- الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود (شکل ۳-ب).

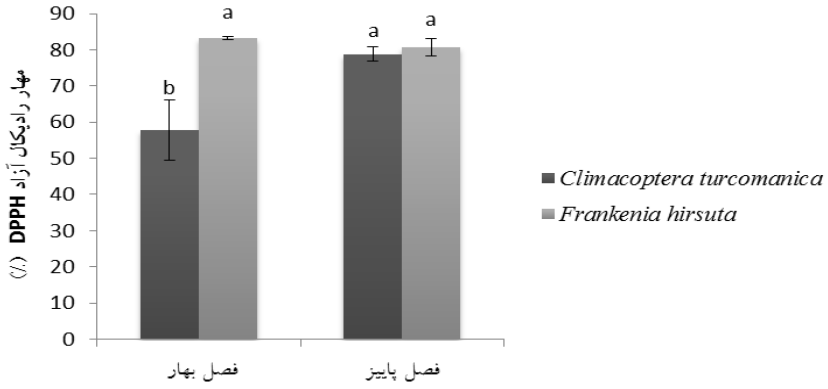


شکل ۳: الف) مقدار آنتوسیانین کل بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta*

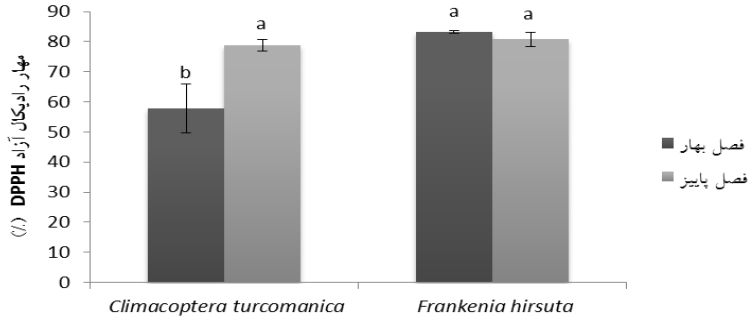


شکل ۳: ب) مقدار آنتوسیانین کل بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta* تحت تاثیر فصل برداشت

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فصل بهار در گونه *F. hirsuta* نسبت به *C. turcomanica* به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود اما در فصل پاییز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ٤- الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در گیاه *C. turcomanica* فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود اما در گیاه *F. hirsuta* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ٤-ب).



شکل ٤: الف) مقدار آنتی‌اکسیدانی بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta*



شکل ٤: ب) مقدار آنتی‌اکسیدانی بین دو گونه *C. turcomanica* و *F. hirsuta* تحت تاثیر فصل برداشت

بحث

نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی در فصل بهار در گونه *F. hirsuta* نسبت به *C. turcomanica* به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود. همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در گیاه *C. turcomanica* فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به‌صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود. میزان بالای فعالیت آنتی‌اکسیدان به خاطر وجود ترکیبات فنولیک بوده است (Gaco et al., 1999). در هر دو فصل برداشت مقدار فنل کل در گونه *Frankenia hirsuta* به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۱- الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به‌صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود (شکل ۱-ب). فنول‌ها جزء بسیار مهمی از ترکیبات گیاهان هستند چرا که آنها توانایی پاک‌کنندگی را در نتیجه تشکیل گروه‌های هیدروکسیل دارند (Hatano et al., 1989). این ترکیبات نقش مستقیمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کنند (Duh et al., 1999). ترکیبات فنولیک گیاهان جزء آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات سینتیک آن‌ها از

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر است (Ningappa et al., 2007) طبق نتایج به‌دست آمده مقدار آنتوسیانین کل در فصل بهار در گونه *Frankenia hirsuta* نسبت به *Climacoptera turcomanica* به صورت معنی-داری بیشتر بود و در فصل پاییز اختلاف معنی‌داری بین دو گونه مشاهده نشد (شکل ۳-الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به‌صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود (شکل ۳-ب). آنتوسیانین هم در برگ‌های بالغ و هم جوان وجود دارد و از نظر ساختمانی وابسته به فلاوونوئید بوده و از ترکیبات فنولی گیاهان می‌باشد (Sarma et al., 1997). مقدار فلاونوئید کل در فصل پاییز در گونه *Frankenia hirsuta* نسبت به *Climacoptera turcomanica* به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود و در فصل بهار اختلاف معنی‌داری بین دو گونه مشاهده نشد (شکل ۲- الف). همچنین با مقایسه بین دو فصل برداشت مشخص شد که در هر دو گیاه مقدار این ترکیب‌ها در فصل بهار نسبت به فصل پاییز به‌صورت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشتر بود (شکل ۲-ب). نتایج آنها نشان می‌دهد که *Cressacretica* نیروی محافظت موثرتری را در برابر رادیکال‌های آزاد دارد و تأیید می‌کنند که *C.cretica* یک منبع مهم از فلاونوئیدها در گیاهان می‌باشند. آنها در تمام بخش‌های گیاهان نظیر برگ، میوه، دانه، ریشه و تنه وجود دارند (Mathew and Abraham., 2006). *Frankenia* یک گونه بومی و جزء xero– هالوفیت در مناطق شور و *thymifolia* خشک تونس است. در مطالعاتی که روی دو بخش‌های جوانه در *Frankenia thymifolia* براساس مقدار فنولیک و فعالیت‌های بیولوژیکی آنها انجام شده است، نشان داد که بخش قطبی حاوی بالاترین پلی فنل، فلاونوئید و تانن است. افزایش مقدار فنولی در بخش قطبی منعکس‌کننده بهترین ظرفیت کل آنتی‌اکسیدان است (Megdiche et al., 2011). در گیاهان گزروهالوفیت‌ها، سنتز پلی‌فنول و انباشتگی به‌طور کلی در واکنش به استرس‌ها و تنش‌های هوازی و غیر هوازی تحریک می‌شود (Naczk and Shahidi, 2004; Hou et al., 2004 ; Tabart et al., 2007). واکنش‌های اکسایشی به وجود امده از طریق ROS می‌توانند بر مولکول‌های زیستی تأثیر گذار باشند مثل لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها. هالوفیت‌ها به خاطر توانایی که در مقاومت نسبت به گونه‌های اکسیژن واکنشی دارند معروف و شناخته شده هستند چرا که آنها به یک سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی مجهز هستند که شامل ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی می‌شوند (Lee et al., 2011).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو گیاه *C. turcomanica* و *F. hirsuta* در دو فصل بهار و پاییز متفاوت بود. در گیاه گونه *C. turcomanica* بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره برگ فصل پاییز و در *F. hirsuta* در فصل بهار مشاهده شد. همچنین ترکیبات فنلی و آنتوسیانین و عصاره دو گیاه مورد مطالعه در فصل پاییز بیش از بهار بود.

منابع

اسدی، م. (۱۳۸۰). فلور ایران. انتشارات موسسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. تهران. شماره ۳۸.

رمضانی ویشکی، ف. (۱۳۹۲). تنش اکسیداتیو و واکنش گیاهان به آن. مجله رشد آموزش زیست شناسی. دوره ۲۶. شماره ٤. صفحه ۲۱-۱۲.

Abdul, H. and Ajmal Khan, M. (2011). Halophytes: biology and economic potentials. Institute of Sustainable Halophyte

Utilization (ISHU), University of Karachi, Karachi-75270, Pakistan.

Akinmoladun, AC., Ibukun, EO., Afor, E., Akinrinlola, B.L., Onibon, T.R., Akinboboye, A.O., Obuotor, E.M. and Farombi, E.O. (2007). Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia boonei*. African Journal Biotechnology. 6(10): 1197-1201.

Balasundram, N., Sundram, K. and Sammar, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 1: 191-203.

Borchardt, J.R., Wyse, D.L., Sheaffer, C.C., Kauppi, K.L., Fulcher, R.G., Ehlke, N.J., Biesboer, D.D. and Bey, R.F. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. Journal of Medicinal Plants Research. 2(4): 081-093.

Bouftira, I., Chedly, A. and Souad, S.(2012). Antioxidant and antibacterial properties of *Mesembryanthemum crystallinum* and *Carpobrotus edulis* extracts. Advances in Chemical Engineering and Science.2:359-365.

Chakraborty, K. and Paulraj, R. (2010). With free radical scavenging properties from marine macroalga *Ulva fasciata* Delile, . Food Chemistry. 122:31-41.

Chakraborty, K. and Paulraj, R. (2010). With free radical scavenging properties from marine macroalga *Ulva fasciata* Delile. Food Chemistry. 122:31-41.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.Ch. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two comple mentary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10(3): 178-182.

Cragg, G.M., Simon, J.E., Jato, J.G. and Snader, K.M. (1996). Drug discovery and development at the National Cancer Institute: Potential for New Pharmaceutical Crops. In Janick J (eds) Progress in New Crops, ASHS Press, Arlington, VA., pp. 554-560.

Duh, Y., Tu, Y. and Yen, G.C. (1999) .Antioxidant activity of the aqueous axtract of *Harn Jyur* (Chrysanthemum morifolium Ramat). Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie. 32: 269-277.

Gaco, K.I. and Nukina, M. (1999). Radical scavenging activity of phenylpropanoid glycosides in *Caryopteris incana*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 63(6): 983-988.

Hamdoon, A.M., Salmin, K.A. and Awad, G. (2013). Abdellatif antioxidant and quantitative estimation of phenolic and flavonoids of three halophytic plants growing in Libya. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.12: 89-94.

Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A. and Fujita Y. (1989). Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI: effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 37:2016–2021.

Hou, Z., Lambert, J.D., Chin, K.V. and Yang, C.S. (2004). Effects of tea polyphenols on signal transduction pathways related to cancer chemoprevention. Mutation Research. 555: 3-19.

Jithesh, M.N., Prashanth, S.R., Sivaprakash, K.R. and Parida, A.K. (2006). Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. Journal Genetic. 85:237-254.

Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C. and Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. Food and Chemical Toxicology. 47: 2083- 2091.

Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C. and Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. Food and Chemical Toxicology. 47: 2083-2091.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C. and Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiology and Biochemistry. 45: 244-249.

Lee, J.I., Kong, C., Jung, M.E., Hong, J.W., Lim S.Y. and Seo, Y. (2011), Antioxidant activity of the halophyte *Limonium tetragonum* and its major active components. Biotechnology and Bioprocess Engineering. 16:992–999.

Mathew, T.E. (2006). Abraham, In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology. 44:198-206.

Matta, A., Gentile, I. and Giai, I. (1969). Accumulation of phenol in tomato plants infected by different forms of *Fusarium oxysporum*. Phytopathology. 59: 512-513.

Navarro JM, Flores P, Garrido, C. and Martinez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidants compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Food Chemistry. 96: 66-73.

Ningappa M.B., Dinesha, R. and Srinivas, L. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of polyphenol-enriched curry leaf (*Murraya koenigii* L.) extracts. Food Chemistry. 106:720–728.

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

Oktay, M., Gülçin, I. and Küfrevioglu, O.I. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. LWT, 36: 263-271.

Sarma, A.D., Sreelakshmi, Y., Sharma, R. (1997). Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation. Phytochemistry. 45:671-674.

Shahidi, F. and Naczk, M. (2004). Antioxidant properties of food phenolics. In phenolics in food and neutraceuticals; CRC Press: Boca Raton, FL. Soares JR, Dinis TCP, Cunha AP, Almeida LM (1997). Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. Free Radical Research. 26: 469- 478.

Sreelakshmi, Y. and Sharma, R. (1997). Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation. Phytochemistry. 45:671-674.

Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. Journal of Food Composition and Analysis. 19: 531-537.

Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W. and No, H.K. (2007). Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Caspicum annuum* L.). Food Science. 72: 98-102.

Sunita, P., Jha, S. and Pattanayak, S.P. (2011). Anti-inflammatory and *In-vivo* antioxidant activities of *Cressa cretica* Linn. A halophytic plant. Middle- East Journal of Scientific Research. 8(1): 129-140.

Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J.O. and Dommes, J. (2007). Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. Food Chemistry. 105: 1268-1275.

Wangensteen, H., Samuelsen, AB. and Malterud, KE. (2004). Antioxidant activity in extracts from coriander. Food Chemistry. 88: 293-297.