بررسی تاثیر تنش خشکی بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاه یونجه رقم یزدی (*Medicago sativa* L., cv. Yazdi)

سید افشین حسینی بلداجی[۱]، بابک باباخانی[۲]، ساسان فرهنگیان کاشانی[۳] و کامران پروانک بروجنی[۴]

چکیده

برای پی‌بردن به پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه یونجه به تنش خشکی، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. بر اساس محتوای آب خاک، تیمارهای ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) تهیه و تاثیر سطوح خشکی بر میزان آنتوسیانین، بتاکاروتن، لیکوپن و مشتقات سیناپوئیل بررسی گردید. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان آنتوسیانین، مشتقات سیناپوئیل، بتاکاروتن و لیکوپن در سطح ۱٪ در مقایسه با شاهد در گیاه یونجه گردید. در سطوح خشکی ۲۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، میزان آنتوسیانین و مشتقات سیناپوئیل به ترتیب تا ۱۴/۰۲ و ۵/۷۲ برابر و مقدار مشتقات سیناپوئیل تا ۱/۸۳ و ۱/۶۹ برابر افزایش یافت. به طور مشابهی میزان بتاکاروتن در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد، هر چند میزان بتاکاروتن بین این سطوح تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشت. در مورد لیکوپن نیز تمامی سطوح خشکی به غیر از تیمار ۲۵ درصد تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان نداد. تنش خشکی باعث ایجاد صدمات اکسیداتیو شده که غشاهای سلولی را هدف قرار می‌دهد. بنابراین ترکیبات آنتی‌اکسیدان همانند آنتوسیانین، مشتقات سیناپوئیل، لیکوپن و بتاکاروتن برای بقاء گیاه در شرایط تنش خشکی مفید هستند.

کلمات کلیدی: *آنتوسیانین، تنش خشکی، لیکوپن، یونجه.*

Archive of SID

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۰

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، گروه زیست شناسی، شهر ری، ایران (نویسنده مسئول).

E- mail: Afshin.h.b@gmail.com

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه زیست شناسی، تنکابن، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، کارشناس ارشد اصلاح نباتات، شهر ری، ایران.

۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، گروه خاکشناسی، شهر ری، ایران.

www.SID.ir

مقدمه و بررسی منابع علمی

گیاهان تا حد زیادی تحت تاثیر تنش‌های محیطی قرار گرفته و یافتن نواحی عاری از تنش که در آنجا بتوان به عملکرد بالقوه دست یافت بسیار مشکل می‌باشد. پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در سطوح مورفولوژی، آناتومی، سلولی و مولکولی متفاوت است (Hamidi and Safarnejad, 2003; Yordanov and Tsoev, 2000). گیاهان در شرایط تنش به دو شکل، اجتناب از تنش یا تحمل تنش، نسبت به تنش مقاومت نشان می‌دهند (Ingram and Bartles, 1996). تنش خشکی از طریق کاهش آب و پلاسمولیز باعث بسته شدن روزنه‌ها می‌گردد، در چنین شرایطی تولید گونه‌های فعال اکسیژن[1] به ویژه در کلروپلاست‌ها افزایش می‌یابد (Asada, 1999). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند به غشاها، پروتئین‌ها، اسیدهای‌نوکلئیک حمله کنند و باعث پراکسیداسیون غشاها، غیر طبیعی شدن پروتئین‌ها و جهش DNA گردند (Niyogi, 1999).

ترکیبت فنلی و کاروتنوئیدها از جمله ترکیبات آنتی اکسیدان غیر آنزیمی بوده که در کاهش اثرات صدمات گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان نقش دارند. کاروتنوئیدها رنگیزه‌هایی هستند که به طور عمده در پلاستیدهای اندام‌های مختلف گیاهان ذخیره می‌شوند، این رنگیزه‌ها نقش مهمی را در کلروپلاست‌ها ایفا می‌کنند. کاروتنوئیدها در واقع جزء رنگیزه‌های کمکی گیاهی محسوب شده که در بدام انداختن نور در فرایند فتوسنتز نقش دارند. این رنگیزه‌ها هم چنین به علت توانائی‌شان در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن از اهمیت فراوانی برخوردارند (Young, 1991). ترکیبات فنلی جزء ترکیباتی هستند که از پراکنش وسیعی در اندام‌های رویشی، میوه‌ها و بذر گیاهان برخوردارند. این ترکیبات گروه مهمی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی را تشکیل می‌دهند و در حفاظت از بافت‌ها در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن و سایر گونه‌های فعال نقش ایفا می‌کنند، به طوری‌که از بروز بیماری‌های گوناگون مانند بیماری‌های التهابی، سرطان، دیابت، سکته قلبی، آلزایمر و پارکینسون جلوگیری می‌کنند (Ames et al., 1993).

یونجه (*Medicago sativa* L.) در میان نباتات با تولید علوفه کافی، قابلیت هضم مناسب، طول عمر بالا، ایجاد پوشش سریع و مجدد پس از برداشت، توانایی تثبیت نیتروژن، افزایش ماده آلی خاک و تحمل شرایط دشوار به‌عنوان مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای معرفی شده است (Hanson et al., 1988). یونجه هم چنین به علت میزان پروتئین بالا، خوش خوراکی و سازگاری آن در شرایط مختلف محیطی به عنوان ملکه گیاهان لقب گرفته است. یونجه از گیاهان علوفه‌ای و بومی ایران بوده که ۳۴ گونه یک‌ساله دارد (Karimi, 1990). در شرایط متنوع آب و هوایی کشور اکوتیپ‌های مختلفی از این گیاه کشت و کار می‌شود که مبین سازگاری بالای این گیاه زراعی به شرایط کشور است (Bohrani, 1989). به دلیل قرار گرفتن کشورمان در منطقه خشک و نیمه خشک و دارا

1- Reactive oxygen species (ROS)

Archive of SID

www.SID.ir

بودن میانگین بارندگی کم (در حدود یک سوم میانگین جهانی) کشور پیوسته دچار تنش کم آبی و خشکسالی‌های مداوم و متناوب بوده است. اهمیت اقتصادی آب در مناطق خشک از یک سو و نیاز آبی بالای یونجه از سویی دیگر ضرورت مطالعه عکس‌العمل اکوتیپ‌های مختلف این گیاه به تنش کم آبی را دو چندان می‌نماید (Ehsanpour and Razavizadeh, 2005). با توجه به کشت وسیع یونجه در سطح کشور، بررسی ویژگی‌های آن به ویژه شناخت نحوه پاسخ گونه‌های مقاوم و نیز مکانیسم‌های مقاومت به خشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر تنش خشکی بر میزان برخی ترکیبات آنتی اکسیدان به عنوان بخشی از پاسخ‌های دفاعی، در گیاه یونجه رقم مقاوم یزدی است که در مطالعات بعدی بتوان از برخی ویژگی‌های منحصر به فرد یونجه در افزایش مقاومت ارقام حساس یونجه و گیاهان دیگر استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر: با توجه به نتایج بدست آمده از آزمون جوانه‌زنی ارقام مختلف گیاه یونجه در مطالعات قبل، رقم یزدی به عنوان رقم مقاوم به خشکی انتخاب شد، لذا به منظور انجام این تحقیق بذر گیاه یونجه رقم زراعی یزدی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد تهیه گردید.

کاشت گیاه و تیمار دهی: به منظور بررسی اثرات تنش خشکی بر میزان برخی ترکیبات آنتی اکسیدان ابتدا ۱۶ عدد گلدان پلاستیکی با ۱۵۰۰ گرم خاک به نسبت ۱:۲ خاک زراعی- ماسه پر شده و هر گلدان با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر آبیاری شده و بر روی میزهای موجود در سالن آزمایشگاه زیست شناسی[1] (دانشگاه آزاد شهرری) قرار گرفتند. طرز قرارگیری گلدان‌ها به طریقی بود که به یک نسبت از شرایط دمایی، روشنایی و انرژی تابشی خورشید برخوردار شوند. حدود تقریبی دما در فضای سالن در طول مدت رویشی گیاهان ۲۵ درجه سانتی‌گراد مد نظر گرفته شد. گلدان‌ها با چهار تکرار در ۴ سطح خشکی در نظر گرفته شدند و در هر گلدان ۱۰ عدد بذر در عمق یک سانتی‌متری خاک کاشته شد و پس از استقرار گیاهچه‌ها عملیات تنک‌کاری انجام شد. گیاهچه‌ها تا مرحله ده برگی در شرایط کنترل نگه‌داری شدند با بزرگتر شدن گیاهچه‌ها و توسعه ریشه و به منظور تامین ترکیبات معدنی مورد نیاز گیاه، گلدان‌ها با استفاده از محلول‌های غذایی طی دو نوبت با فواصل ۱۰ روز یکبار تغذیه شده و سپس تیماردهی انجام شد. بدین منظور بر حسب ظرفیت زراعی خاک که قبلا اندازه‌گیری شده بود، وزن گلدان و خاک مرطوب برای تیمارهای ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، ۵۰ درصد و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی محاسبه گردید و گلدان‌ها هر روز در زمان مشخص وزن شده و وزن گلدان و خاک مرطوب با اضافه کردن آب در مقادیر محاسبه شده در مرحله قبل تنظیم شد. تیمار دهی تا ۱۵ روز ادامه یافته و بعد از آن از

Archive of SID

www.SID.ir

اندام‌های هوایی گیاهان جهت اندازه‌گیری ترکیبات آنتی اکسیدان استفاده شد.

اندازه‌گیری آنتوسیانین، مشتقات سیناپوئیل و کاروتنوئیدها: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین و مشتقات سیناپوئیل از روش گیتز و همکاران استفاده شد (Gitz et al., 1998). بدین منظور برگ گیاهان در درون مخلوطی از متانول، آب مقطر و اسیدکلریدریک ۱٪ با نسبت ۵۰:۵۰: ۱ (w/v/v) هموژن گردید. محلول هموژنه به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و محلول‌رویی جمع‌آوری گردید. مقدار آنتوسیانین با اندازه‌گیری جذب در ۵۲۵ نانومتر و با استفاده از سیانیدین ۳- گلوکوزید با ضریب خاموشی ۳۰ $mM^{-1}Cm^{-1}$ به عنوان استاندارد و مشتقات سیناپویل نیز با اندازه‌گیری جذب در ۳۲۸ نانومتر (اسپکتروفتومتر، GENWAY, model Genova) با استفاده از کلروژنیک اسید با ضریب خاموشی ۱۹ $mM^{-1}Cm^{-1}$ به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کاروتنوئیدها ابتدا نمونه‌ها در درون نیتروژن مایع فریز شده و در درون هاون پودر گردید. ۱۶ میلی‌لیتر حلال استن-هگزان با نسبت ۴ به ۶ به هر گرم پودر اضافه شده و بعد از هموژن سازی به درون لوله آزمایش منتقل شده و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. فاز بالایی را جدا نموده و جذب آن در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۵۰۵ نانومتر قرائت گردید (اسپکتروفتومتر، GENWAY, model Genova). اندازه‌گیری مقدار لیکوپن و بتا-کاروتن بر اساس معادلات ناگاتا و یاماشیتا انجام گرفت (Nagata and Yamashita, 1992).

تجزیه آماری: این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار سطح مختلف آب خاک با چهار تکرار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با روش دانکن توسط نرم‌افزار SAS انجام گرفت ($p\leq0.05$). نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید و داده‌ها بر اساس میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد (Mean ± SE) نشان داده شده است.

نتایج

افزایش میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلف تحت تاثیر تنش خشکی در سطح آماری ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

آنتوسیانین: کاهش محتوای آب خاک در سطوح مختلف باعث افزایش میزان آنتوسیانین گردید (شکل ۱). افزایش میزان آنتوسیانین در سطح ۷۵٪ ظرفیت زراعی در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبود در حالی‌که در سطوح بالاتر خشکی (۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) افزایش در میزان آنتوسیانین در مقایسه با گروه شاهد در سطح ۹۵٪ معنی‌دار بود، در ضمن میزان آنتوسیانین در تیمارهای ۵۰ و ۲۵ درصد نیز تفاوت معنی‌داری نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده میزان آنتوسیانین در تیمار ۷۵٪ حدود ۱/۷۲ برابر گروه شاهد بوده در حالی که در تیمارهای ۵۰٪ و ۲۵٪

Archive of SID

www.SID.ir

این میزان به ترتیب ۵/۷۲ و ۱۴/۰۲ برابر گروه شاهد بود.

لیکوپن: تغییرات میزان لیکوپن در پاسخ به سطوح مختلف خشکی در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار لیکوپن در تیمارهای ۷۵٪ و ۵۰٪ در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در بالاترین سطح خشکی (۲۵٪ ظرفیت زراعی) مقدار لیکوپن در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد. بطور دقیق‌تر، میزان لیکوپن در تیمارهای ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی به ترتیب ۱/۰۰۶، ۱/۰۶۸ و ۱/۲۴۲ برابر گروه شاهد بود.

مشتقات سیناپوئیل: همانند سایر ترکیبات، تنش خشکی باعث افزایش میزان مشتقات سیناپوئیل شد (شکل ۳). میزان مشتقات سیناپوئیل در تیمار ۷۵٪ ظرفیت زراعی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد در حالی‌که در سطوح خشکی بالاتر (۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) میزان این ترکیبات در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد. تفاوت میزان این ترکیبات بین گروه‌های ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی معنی‌دار نبود. مقایسه عددی میزان این ترکیبات بین گروه‌های مختلف نشان داد مقدار این ترکیبات در تیمارهای ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی به ترتیب ۱/۰۶، ۱/۶۹و ۱/۸۳ برابر گروه شاهد می‌باشد.

بتاکاروتن: تنش خشکی باعث افزایش میزان بتاکاروتن در گیاه یونجه شد (شکل ۴). میزان بتاکاروتن در تیمارهای ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داد. تفاوت میزان بتاکاروتن بین سه تیمار ذکر شده معنی‌دار نبود هر چند در بالاترین سطح خشکی (۲۵٪ ظرفیت زراعی) میزان بتاکاروتن از تیمار ۵۰٪ ظرفیت زراعی کمتر بود. میزان بتاکاروتن در تیمارهای ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی به ترتیب ۱/۸۶، ۲/۰۷ و ۱/۷۸ برابر گروه شاهد بود.

بحث

تنش‌های محیطی مانند خشکی، درجه حرارت بالا، شدت نور بالا، شوری تنش بی‌هوازی، علف‌کش پاراکوات و پاتوژن‌ها می‌تواند منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن برانگیخته سینگلت گردد (Wang et al., 2005). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند طیف وسیعی از مولکول‌های زیستی را تحت تاثیر قرار داده و منجر به صدمات شدید سلولی، ممانعت فتوسنتزی و در نتیجه کاهش تولید محصول گردند. صدمات ایجاد شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن تحت عنوان تنش اکسیداتیو نامیده می‌شود (Fridovich, 1975). در شرایط طبیعی تولید و تخریب این رادیکال‌ها توسط متابولیسم سلول تنظیم می‌شود. برای جلوگیری از صدمه رساندن گونه‌های فعال اکسیژن به اجزای سلول، ارگانیسم‌ها مکانیسم‌های سم زدایی مختلفی در خود ایجاد کرده‌اند. این مکانیسم‌ها شامل تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان محلول در چربی مانند

Archive of SID

www.SID.ir

کاروتنوئیدها و گلوتاتیون، آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب همانند آسکوربیک اسید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دسموتاز[1]، آسکوربات پراکسیداز[2]، پراکسیداز[3] و کاتالاز[4] می‌باشند (Scandolios, 1993). پاسخ‌های اولیه گیاهان به تنش خشکی معمولا به گیاهان کمک کرده تا مدتی زنده بمانند اما سازگاری گیاهان به چنین شرایطی با تجمع متابولیت‌های ویژه همراه با توانائی‌های ساختاری برای بهبود عملکرد در شرایط خشکی همراه است (Pinhero et al., 2001).

در زمینه تاثیر تنش‌های گوناگون بر میزان کاروتنوئیدها عنوان شده که کاروتنوئیدها به عنوان مولکول‌های سیگنال عمل کرده و پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی را میانجی‌گری می‌کنند (Li et al., 2008). گیاهان قادرند انرژی اضافی کسب شده در شرایط تنش‌های محیطی را از طریق پراکنده‌سازی گرمایی و توسط رنگیزه‌های کاروتنوئیدی مانند گزانتوفیل، آنتراگزانتین و در حضور ویولاگزانتین از دست دهند (Alonso et al., 2001). سیکل زانتوفیل هم‌چنین ممکن است در کاهش تشکیل کلروفیل برانگیخته حالت تریپلت از طریق خاموش سازی شفعه‌ای کلروفیل برانگیخته حالت سینگلت شرکت کند (Rontein et al., 2002). سایر رنگیزه‌های خانواده کاروتنوئیدها مانند آلفاتوکوفرول که در قسمت‌های سبز گیاهان یافت می‌شوند نیز رادیکال‌های لیپیدپروکسی ایجاد شده بر اثر پراکسیداسیون غشاها را به کمک سایر رنگیزه‌ها از بین می‌برند (Munne-Bosch and Alegre, 2002). توکوفرول‌ها هم چنین چربی‌ها و سایر اجزای غشا را با خاموش سازی فیزیکی و واکنش شیمیایی با سوپراکسید در کلروپلاست‌ها حمایت می‌کنند (Trebst et al., 2002). غشاهای تیلاکوئیدی که دارای مقادیر زیادی لیپیدهای غیر اشباع می‌باشند یکی از اهداف اصلی گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند. افزایش در میزان آلفاتوکوفرول باعث خاموش سازی این گونه‌های فعال اکسیژن و اتمام واکنش‌های زنجیره‌ای شده که باعث صدمات اکسیداتیو می‌گردند (Abdul Jaleel et al., 2007). در ارتباط با تاثیر تنش‌های محیطی بر میزان کاروتنوئیدها، مون- بوش و همکاران بیان نمودند تنش خشکی باعث افزایش حدود ۲۶ درصدی در میزان کاروتنوئیدها در گیاه رزماری می‌گردد (Munne-Bosch et al., 1999). گروه دیگری از محققین نیز عنوان نمودند تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های اسمزی باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها در گوجه فرنگی می‌گردد (Petersen et al., 1998; Depascale et al., 2001). در سال ۲۰۰۷ نیز عبدالجلیل و همکاران با بررسی اثر تنش خشکی در Catharanthus roseus عنوان نمودند گیاهانی که تحت تنش خشکی قرار گرفته‌اند میزان کاروتنوئیدها به ویژه آلفاتوکوفرول بیشتر از گیاهان کنترل می‌باشد (Abdul Jaleel et al., 2007).

در ارتباط با تاثیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی بر میزان ترکیبات فنلی مشخص شده،

1- Superoxid dismutase
2- Ascorbate peroxidase
3- Peroxidase
4- Catalase

Archive of SID

www.SID.ir

گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی به عنوان مولکول‌های انتقال سیگنال عمل کرده و باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی می‌گردد (Janas et al., 2009) ترکیبات فلاونوئیدی توسط پراکسیداز اکسید شده و در جاروکردن پراکسید هیدروژن از طریق سیستم ترکیب فنلی/آسکوربیک اسید/پراکسیداز شرکت می‌کنند (Michalak et al., 2006). هم‌چنین گروه‌های هیدروکسیل و کربونیل ترکیبات فلاونوئیدی مانند آنتوسیانین و مشتقات سیناپوئیل نیز از طریق برقراری پیوند با یون های آهن و مس از ایجاد رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند (Lopes et al., 1999). ترکیبات فنلی هم‌چنین یک نقش حیاتی در جذب رادیکال‌های آزاد و خاموش‌سازی سوپراکسید و تجزیه پراکسیدها دارند (Lois and Buchanan, 1994). میزان ترکیبات فنلی مانند آنتوسیانین و مشتقات سیناپوئیل در گیاهانی که در شرایط تنش اکسیداتیو رشد می‌کنند افزایش یافته و باعث محافظت از گیاهان در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند (Tsai et al., 2002). در سال ۱۹۹۸ گیتز و همکاران با بررسی تاثیر اشعه فرابنفش بر گیاه کلم بیان نمودند ترکیبات آنتوسیانین مانند سیانیدین-گلوکوزید و ترکیبات فنلی همانند استرهای سیناپوئیل باعث محافظت گیاه کلم در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از اشعه فرابنفش می‌گردد (Gitz et al., 1998). افزایش سطوح آنتوسیانین و مشتقات سیناپوئیل در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از عوامل محیطی مختلف در گونه‌های Hibiscus sabdariffa (Tsai et al., 2002)، توت فرنگی، تمشک و شاه توت (Wang and Lin, 2000) و کلم قرمز (Posmyk et al., 2007) نیز بیان گردیده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از سرکار خانم مهندس اعتمادی کارشناس آزمایشگاه زیست شناسی، مهندس احمدی ریاست محترم اداره آزمایشگاه‌ها به خاطر همکاری صمیمانه و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری به خاطر تامین اعتبار انجام این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

Archive of SID

www.SID.ir

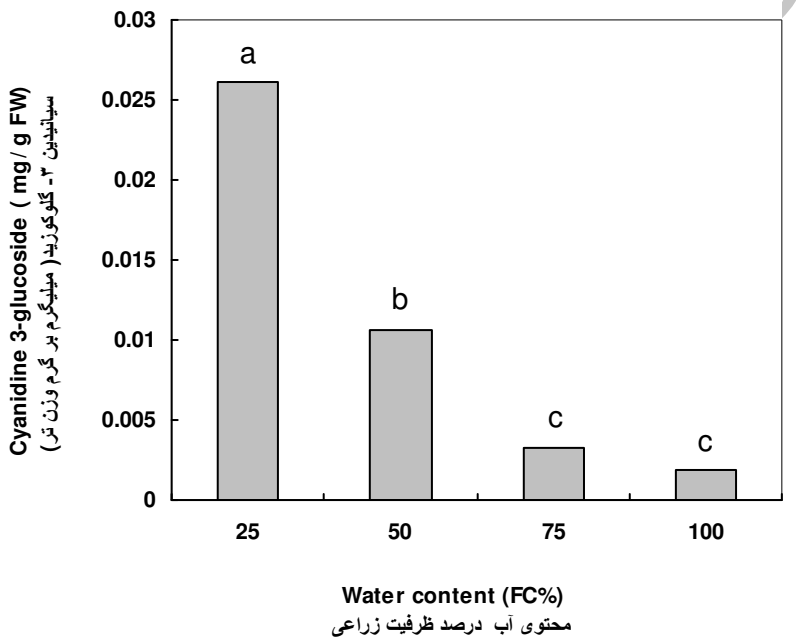
جدول ۱- آنالیز واریانس تاثیر خشکی بر میزان آنتوسیانین، سیناپوئیل، لیکوپن و بتاکاروتن

Table 1- Variation analysis of drought effects on Anthocyanine, Sinapoyl, Lycopene and β-carotene contents

منبع تغییرات Source	درجه آزادی Degree of Freedom	مجموع مربعات Sum of Square			
		آنتوسیانین Anthocyanine	سیناپوئیل Synapoyl	لیکوپن Lycopene	بتاکاروتن Beta carotene
تیمار Treatment	3	0.001488**	3.104487**	0.001349**	0.0613368**
خطا Error	12	0.00002	0.296571	0.000623	0.014835
کل Total	15	0.001509	3.401059	0.001973	0.076172
C.V	-	15.23	9.39	7.07	13.76

** دارای تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد

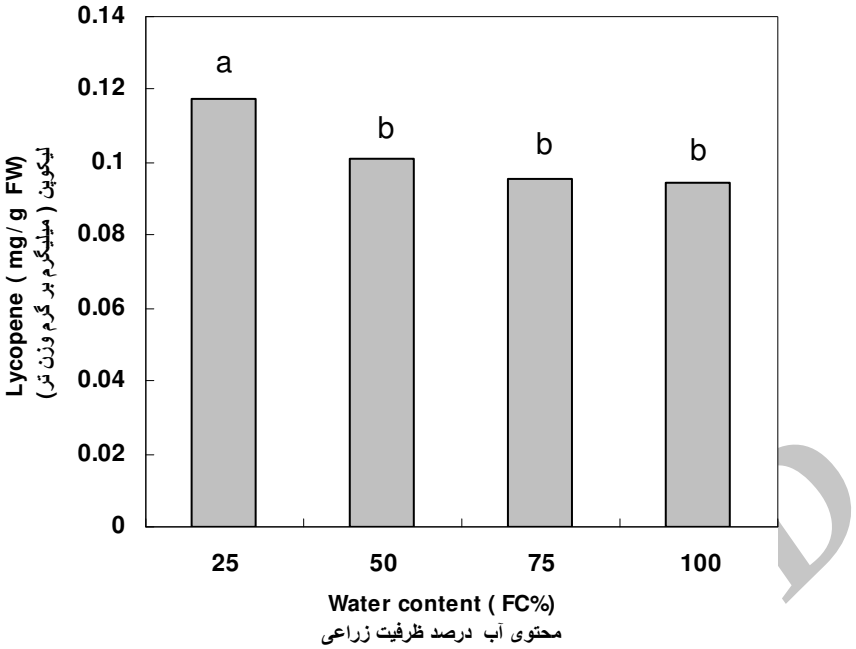
** Significantly differed at p≤0.01



شکل ۱- تاثیر خشکی بر میزان آنتوسیانین یونجه، ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند

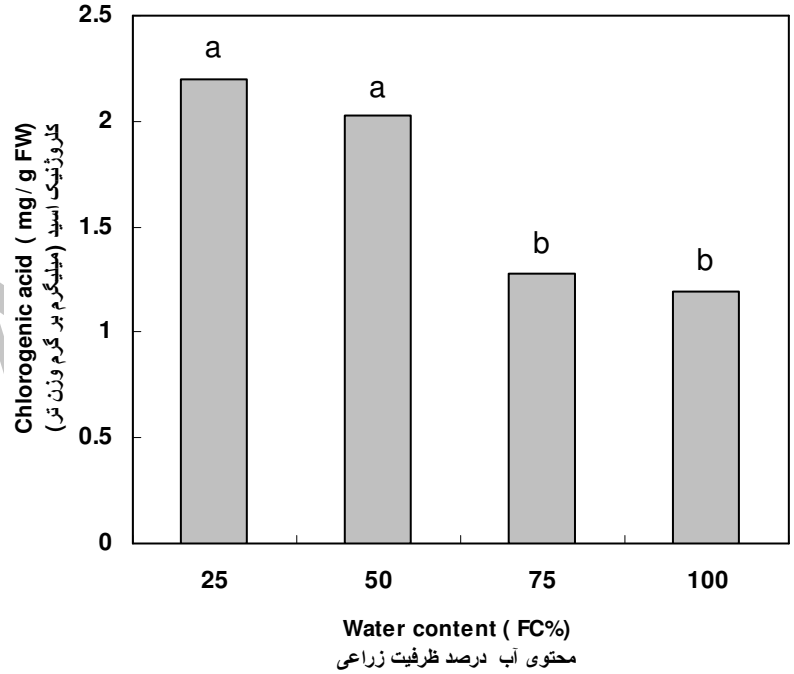
Fig 1- Drought effects on anthocyanine content in alfalfa, Bars with at least one same letter has no significant differences at 5% confidence according Duncans method

www.SID.ir



شکل ۲- تاثیر خشکی بر میزان لیکوپن یونجه، ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند

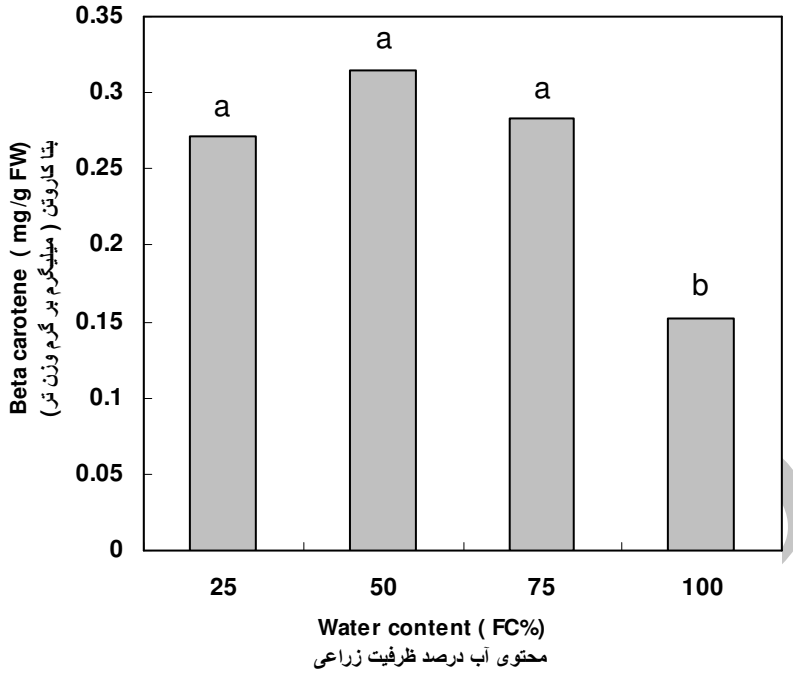
Fig 2- Drought effects on lycopone content in alfalfa, Bars with at least one same letter has no significant differences at 5% confidence according Duncans method



شکل ۳- تاثیر خشکی بر میزان مشتقات سیناپوئیل یونجه، ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig 3- Drought effects on sinapoyl derivates content in alfalfa, Bars with at least one same letter has no significant differences at 5% confidence according Duncans method

www.SID.ir



شکل ۴- تاثیر خشکی بر میزان بتاکاروتن یونجه، ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig 4- Drought effects on β-carotene content in alfalfa, Bars with at least one same letter has no significant differences at 5% confidence according Duncans method

References منابع مورد استفاده

✓ Abdul Jaleel, C., P. Manivannan., B. Sankar., A. Kishorekumar., R. Gopi., R. Somasundaram, and R. Panneerselvam. 2007. Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in *Catharanthus roseus* is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 60: 201- 206.

✓ Alonso, R., S. Elvira., F. J. Castillo, and B. S. Gimeno. 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in Pinis halpensis. Plant Cell Environ. 24: 905- 916.

✓ Ames, B. N., M. Shigenaga, and T. M. Hagen. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proc. Nat.l Acad. Sci. USA. 90: 7915- 7922.

✓ Asada, A. 1999. The Water–Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 601- 639.

✓ Bohrani, J. 1989. Comparison of leaf dry and fresh weights, leave and protein percentages between five alfalfa cultivars in Ahvaz. J. Agr. Sci. 13: 84- 93.

✓ Depascale, S., A. Maggio., V. Fogliano., P. Abrosino, and A. Ritieni. 2001. Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. J. Hort. Sci. Biotechnol. 76 (4): 447- 453.

✓ Ehsanpour, A. A., and R. Razavizadeh. 2005. Effect of UV-C on drought tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*) callus. American J. Biochem. Biotechnol. 1 (2): 109- 110.

✓ Fridovich, I. 1975. Superoxide dismutase. Annu Rev Biochem. 44: 147- 159.

Archive of SID

www.SID.ir

✓ Gitz, D. C., L. Liu, and J. W. McClure. 1998. Phenolic metabolism, growth and UV-B tolerance in phenylalanine ammonialyase-inhibited red cabbage seedlings. Phytochem. 49 (2): 377- 386.

✓ Hamidi, H., and A. Safarnejad. 2003. The investigation of morphological and biochemical properties of alfalfa calluses ant their regeneration under drought stress. Pajouhesh and Sazandegji. 58: 84- 89.

✓ Hanson, A. A., D. K. Barnes, and R. R. Hill. 1988. Alfalfa and alfalfa improvement. Agron. Monogor. 29: Madison, WI.

✓ Ingram J., and D. Bartles. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47: 377- 403.

✓ Janas, K. M., R. Amarowicz., J. Z. Tomaszewska., A. Kosiska, and M. M. Posmyk. 2009. Induction of phenolic compounds in two dark-grown lentil cultivars with different tolerance to copper ions. Acta Physiol. Plant. 31: 587- 595.

✓ Karimi, H. 1990. Medicago. 1st edition, Tehran University Press. Pp: 1- 53.

✓ Li, F., R. Vallabhaneni., J. Yu., T. Rocheford, and E. T. Wurtzel. 2008. The maize phytoene synthase gene family: Overlapping roles for carotenogenesis in endosperm, photomorphogenesis, and thermal stress-tolerance. Plant Physiol. 147: 1334- 1346.

✓ Lois, R., and B. B. Buchanan. 1994. Severe sensitivity to ultraviolet radiation in an Arabidopsis mutant deficient in flavonoid accumulation. Planta. 194: 504- 509.

✓ Lopes, G. K. B., H. M. Schulman, and M. Hermes-Lima. 1999. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. Biochem. Biophys. Acta. 147 (2): 142- 152.

✓ Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Pol. J. Environ. Stud. 15: 523- 530.

✓ Munne-Bosch, S., and L. Alegre. 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. Crit. Rev. Plant Sci. 21: 31- 57.

✓ Munne-Bosch, S., K. Schwarz, and L. Alegre. 1999. Enhanced formation of α tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. Plant Physiol. 121: 1047- 1052.

✓ Nagata, M., and I. Yamashita. 1992. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. J. Japanese Societ. Food Sci. Technol. 39: 925- 928.

✓ Niyogi, K. K. 1999. Photo-protection revisited: genetic and molecular approaches. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 333- 359.

✓ Petersen, K. K., J. Willumsen, and K. Kaack. 1998. Composition and taste of tomatoes as affected by increased salinity and different salinity sources. J. Hort. Sci. Biotech. 73: 205- 215.

✓ Pinhero, R. G., M. V. Rao., G. Palyath., D. P. Murr, and R. A. Fletcher. 2001. Changes in the activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. Plant Physiol. 114: 695- 704.

✓ Posmyk, M. M., R. Kontek, and K. M. Janas. 2007. Effect of anthocyanin-rich red cabbage extract on cytological injury induced by copper stress in plant and animal tissues. Environ. Prot. Nat. Sour. 33: 50- 56.

✓ Rontein, D., G. Bassat, and H. D. Hanson. 2002. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. Metab. Eng. 4: 49- 56.

✓ Scandolios, J. G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiol. 101: 7- 12.

Archive of SID

www.SID.ir

✓ Trebst, A., B. Depka., H. Holl, and E. R. Czytko. 2002. A specific role for tocopherol and of chemical singlet oxygen quenchers in the maintenance of photosystem II structure and function in Chlamydomonas reinhardtii. FEBS Lett: 516: 156- 160.

✓ Tsai, P. J., J. McInstosh., P. Pearce., B. Camden, and B. R. Jordan. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food Res. Int. 35: 351- 356.

✓ Wang, F. Z., Q. B. Wang., S. Y. Kwon., S. S. Kwak, and W. A. Su. 2005. Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide dismutase. J. Plant Physiol. 162: 465- 472.

✓ Wang, S. Y., and H. S. Lin. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. J. Agric. Food Chem. 48: 140- 146.

✓ Yordanov, V., and T. Tsoev. 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica. 38 (1): 171- 186.

✓ Young, A. J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. Physiol. Plant. 83: 702- 708.

Archive of SID

www.SID.ir