فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۳۵-۲۵ (۱۳۹۰)

تأثیر شوری و تغذیه روی بر رشد و خواص آنتی‌اکسیدانی رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) در یک خاک آهکی

مجید حجازی مهریزی[۱*]، حسین شریعتمداری[۲]، امیرحسین خوشگفتارمنش[۳] و فریبرز معطر[٤]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
پست الکترونیک: magidheg60@yahoo.com
۲- استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۳- دانشیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
٤- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۹

چکیده

رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) یکی از گیاهان دارویی است که قابلیت خوبی برای تولید متابولیت‌های ثانویه از خود نشان داده است. در این پژوهش، برهم‌کنش شوری و تغذیه روی بر رشد رزماری، غلظت ترکیب‌های فنلی، فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH و ظرفیت کاهش آهن در یک خاک دچار کمبود روی مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل (۲×۳) شامل دو سطح روی (صفر و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع سولفات روی) و سه سطح شوری شامل صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. شوری تأثیر معنی‌داری بر عملکرد وزن خشک شاخسار نداشت که نشان از مقاوم بودن رزماری به شوری دارد. شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم موجب افزایش ۳ درصدی غلظت ترکیب‌های فنلی برگ، افزایش ۸ درصدی فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH و افزایش ۵ درصدی ظرفیت کاهش آهن شد. با افزودن ۱۰ میلی‌گرم روی به خاک موجب غلظت ترکیب‌های فنلی به میزان ۲٪، فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH به میزان ٤٪ و ظرفیت کاهش آهن رزماری به میزان ۳٪ افزایش یافت. نتایج آزمون همبستگی نشان داد که افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رزماری رشدیافته در شرایط شور، ناشی از افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی است. نتایج این تحقیق نشان داد که شوری و تغذیه روی تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی رزماری را افزایش داده است.

واژه‌های کلیدی: شوری، رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیب‌های فنلی، تغذیه روی.

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برخلاف آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی، سمّیتی را در فرآورده‌های غذایی به‌وجود نمی‌آورند. به همین دلیل، استفاده از آنها در سالهای اخیر به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی افزایش یافته است (Erkan *et al*., 2008). رزماری ازجمله گیاهانیست که به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی‌اش به فراوانی در صنایع غذایی و داروسازی مورد استفاده قرار گرفته است (Romano *et*

Archive of SID

www.SID.ir

2009 Terpinc *et al.*, ؛*al.*, 2009). خواص آنتی‌اکسیدانی رزماری به تعداد زیادی از ترکیب‌های فنلی که از نظر ساختار، قطبیت و نحوه عمل متفاوت هستند نسبت داده می‌شود (Terpinc *et al.*, 2009). محققان متعددی گزارش کرده‌اند که اثر آنتی‌اکسیدانی رزماری در بخش غیر اسانسی عمدتاً مربوط به ترکیب‌های فنلی دی‌ترپنی نظیر کارنوزول، رزمانول، کانوزیک اسید و متیل کارنوزات و اسیدهای فنولیک نظیر رزمارینیک اسید و کافئیک اسید می‌باشد (Romano *et al.*, 2009 ؛Erkan *et al.*, 2008؛ Terpinc *et al.*, 2009). این ترکیب‌ها قادر به پیشگیری از بیماریهای عروقی، بیماریهای التهابی نظیر رماتیسم و سرطان می‌باشند (قنادی و همکاران، ۱۳۸۱).

رزماری، گیاه بومی مناطق آهکی نواحی مدیترانه‌ای است که به خوبی، آب و هوای گرم مناطق خشک و نیمه خشک را تحمل می‌کند. همچنین این گیاه قادر است شوری تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر را به خوبی تحمل نماید که این گیاه را در زمره گیاهان نیمه متحمل قرار می‌دهد (El-Rajoob *et al.*, 2008).

از طرف دیگر کمبود روی یکی از مشکلات تغذیه‌ای رایج در خاکهای شور و آهکی می‌باشد که باعث کاهش تولید محصولات می‌گردد. این عنصر نقش مهمی در فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و استفاده از کربن در بیوسنتز مواد مؤثره گیاهان داشته (Misra *et al.*, 2006) و از این طریق می‌تواند روی خواص آنتی‌اکسیدانی آنها تأثیرگذار باشد. به دلیل محتوای اسانس و ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی باارزش، کشت و کار رزماری در بسیاری از مناطق دنیا افزایش یافته است. در حدود ۲۰٪ از اراضی کشور به نوعی با مشکل شوری روبرو هستند و استفاده از این گونه اراضی می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای افزایش تولید ترکیب‌های ثانویه رزماری مورد نظر قرار گیرد. تا به حال مطالعات چندانی در ایران در زمینه اثر شوری و تغذیه روی بر رشد و خواص دارویی رزماری صورت نگرفته است. در این پژوهش، اثر شوری و تغذیه روی بر عملکرد وزن خشک شاخسار و خواص آنتی‌اکسیدانی رزماری از قبیل محتوای ترکیب‌های فنلی، فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH و ظرفیت کاهش آهن مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روشها

گیاه و شرایط رشد آن

این پژوهش در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انجام شد. قلمه‌های یکسان رزماری از مزرعه تحقیقات گیاهان دارویی این مرکز جمع‌آوری و به منظور ریشه‌دهی در گلدان‌های ۱۰ لیتری با شن شسته شده در گلخانه با شرایط کنترل‌شده (۱۶/۸ ساعت تاریکی/روشنایی و ۲۴/۱۸ درجه سلسیوس شب/ روز) نگهداری شدند. در طول این مدت، قلمه‌ها دو بار در هفته (یک‌بار با آب مقطر و یک‌بار با محلول غذایی هوگلند) آبیاری شدند.

بعد از ۳ ماه قلمه‌های یکسان (از لحاظ اندازه) به گلدان‌های پر شده از یک خاک دچار کمبود روی، انتقال داده شدند. برخی از خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مطالعه شده در جدول ۱ ارائه شده است. در این مطالعه دو سطح روی شامل صفر و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع سولفات روی و سه سطح شوری صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در گلدان‌ها استفاده شدند و آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد استفاده

خصوصیت	مقدار
هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	۱/۰
pH	۷/۹
آهک (٪)	۲۸/۹
روی قابل جذب (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۰/۱۲
شن (٪)	٥٤/٦
رس (٪)	۲۷/٦
سیلت (٪)	۱۷/۸
بافت خاک	لوم شنی

تهیه عصاره برگ رزماری

۲۵۰ میلی‌گرم برگ ساییده شده به ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ اضافه شد و به مدت ۳ ساعت روی بن‌ماری تکان داده شد. بعد از سرد شدن، محلول با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. عصاره در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد یخچال برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. تجزیه‌های بعدی به گونه‌ای برنامه‌ریزی شدند که عصاره مذکور بیش از ٢٤ ساعت نگه‌داری نشود.

فعالیت پالایندگی رادیکال ۱ و ۱ دی‌فنیل- ال- پیکریل هیدرازیل (آزمون 1DPPH)

محاسبه فعالیت پالایندگی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ طبق روش Hanato و همکاران (۱۹۸۸) انجام شد. به‌این منظور ۲ میلی‌لیتر از عصاره برگ رزماری به ۱ میلی‌لیتر محلول $DPPH^{\bullet}$ ۰/۲ میلی‌مولار تهیه شده در متانول خالص اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج مدل جن‌وی ۵۳۱۰ اندازه‌گیری و درصد پالایندگی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ طبق فرمول زیر محاسبه شد.

% RSA = نمونه- مقدار جذب کنترل) / مقدار جذب کنترل) × ۱۰۰

Radical Scavenging Activity =RSA

بالاتر بودن درصد پالایندگی نشان‌دهنده بیشتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده از برگ رزماری می‌باشد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن

ظرفیت کاهندگی عصاره برگ رزماری از طریق تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی طبق روش Oyaizu (۱۹۸٦) اندازه‌گیری شد. به این منظور، ۱ میلی‌لیتر از عصاره برگ به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH= ٦/٦) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱٪ w/v) اضافه و مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. بعد از سرد شدن، ۲/۵ میلی‌لیتر TCA (۱۰٪ w/v) به مخلوط اضافه شده و بعد از سانتریفوژ شدن، ۵ میلی‌لیتر از لایه شفاف بالای محلول به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر کلرید آهن اضافه شد. مقدار جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج مدل جن‌وی ۵۳۱۰ اندازه‌گیری و ظرفیت کاهش آهن عصاره بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بیان شد (Chew *et al*., 2008).

غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری

۵۰ میکرولیتر از عصاره رزماری تهیه شده به ٤۵۰ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۰/۲ نرمال و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع (۵۰ گرم در لیتر) اضافه

Archive of SID
www.SID.ir

شد. بعد از ۹۰ دقیقه مقدار جذب در طول موج ۷٦۵ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج مدل جن‌وی ۵۳۱۰ اندازه‌گیری شد. مقدار ترکیب‌های فنلی گیاه بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن تازه گیاه بیان گردید (Tawaha *et al.*, 2007).

تجزیه آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح ۱٪ به کمک نرم‌افزار SAS صورت گرفت. برای تعیین ضریب‌های همبستگی از آزمون پیرسون در سطح ۱٪ بهره گرفته شد.

نتایج

عملکرد خشک شاخسار رزماری

صرف‌نظر از مقدار روی اضافه شده به خاک، افزایش سطح شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم موجب کاهش ناچیز عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری شد، امّا این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۲). افزایش سطح روی از صفر به ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک موجب افزایش معنی‌دار عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری شد به‌طوری که بیشترین عملکرد وزن خشک (۳۰/۵ گرم در گلدان) در سطح ۱۰ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد (جدول ۳). برهم‌کنش روی و شوری بر عملکرد وزن خشک شاخسار نیز معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه رزماری در برابر تنش شوری و تغذیه روی بعد از ۳ ماه

منابع تغییرات	درجه آزادی	خصوصیات اندازه‌گیری شده			
		عملکرد خشک	ترکیب‌های فنلی	فعالیت پالایندگی	ظرفیت کاهندگی
شوری	۲	۱/۸ n.s	۱/۰۱ **	۵۲/۰ **	۰/۰۳ **
روی	۱	۵۰۵/٦ **	۰/۷۱ *	۳۷/۰ **	۰/۰۳ *
شوری × روی	۲	۰/۱ n.s	۰/۰۱٤ n.s	۷/۲ *	۰/۰۰۳ n.s
خطا	۱۲	۱/۸	۰/۰۳	۱/٤۸	۰/۰۰۰۵

** و *: در سطح ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار است.

n.s: در سطح ۵٪ معنی‌دار نیست.

جدول ۳- اثر متقابل روی و شوری بر عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری (گرم در گلدان)

روی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	شوری (میلی‌مولارکلرید سدیم)			میانگین
	۰	۵۰	۱۰۰	
۰	۲۰/٤ b	۱۹/۷ b	۱۹/۷ b	۱۹/۹ B
۱۰	۳۱/۳ a	۳۰/۱ a	۳۰/۲ a	۳۰/۵ A
میانگین	۲۵/۹ A	۲٤/۹ A	۲٤/۹ A	

میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD معنی‌دار نیستند (حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل دوگانه و حروف بزرگ برای مقایسه اثرهای اصلی روی و شوری استفاده شده است).

Archive of SID
www.SID.ir

غلظت ترکیب‌های فنلی

افزایش سطح روی موجب افزایش معنی‌دار غلظت ترکیب‌های فنلی در برگ رزماری شد (جدول ۲). بیشترین غلظت ترکیب‌های فنلی (۳۰/۵ میلی‌گرم در گرم) در برگ رزماری رشد کرده در تیمار ۱۰ میلی‌گرم روی مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری بین تیمار صفر و ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم از نظر غلظت ترکیب‌های فنلی در هیچ‌یک از سطوح روی مشاهده نشد ولی افزایش سطح شوری به ۱۰۰ میلی‌مولار غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری را افزایش داد (جدول ٤). نتایج نشان داد که برهم‌کنش شوری و روی بر غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری معنی‌دار نبود (جدول ۲).

فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH

تأثیر سطوح شوری و روی و برهم‌کنش آنها بر فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH معنی‌دار بود (جدول ۲). شوری به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش فعالیت پالایندگی رادیکال شد به‌طوری که بیشترین فعالیت (۷۹/۹٪) در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کمترین فعالیت (۷٤/۱٪) در شوری صفر میلی‌مولار کلرید سدیم اندازه‌گیری شد (جدول ۵). اضافه کردن ۱۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم به خاک موجب افزایش معنی‌دار (٤٪) در فعالیت پالایندگی عصاره برگ رزماری شد (جدول ۵). تأثیر شوری در افزایش فعالیت پالایندگی در سطح صفر میلی‌گرم روی بیشتر از سطح ۱۰ میلی‌گرم بود. در سطح صفر میلی‌گرم روی تنها شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت پالایندگی عصاره رزماری شد در حالی که در سطح ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش فعالیت شدند و اختلاف بین آنها معنی‌دار نبود.

جدول ٤- اثر متقابل روی و شوری بر غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم)

روی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	شوری (میلی‌مولارکلرید سدیم)			میانگین
	۰	۵۰	۱۰۰	
۰	۱۹/۳٤ d	۱۹/٤۲ cd	۱۹/۹۳ b	۱۹/۵٦ B
۱۰	۱۹/۷۰ bc	۱۹/۹۷ b	۲۰/٤٤ a	۲۰/۰٤ A
میانگین	۱۹/۵۲ B	۱۹/٦۹ B	۲۰/۱۸ A	

میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD معنی‌دار نیستند (حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل دوگانه و حروف بزرگ برای مقایسه اثرهای اصلی روی و شوری استفاده شده است).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن

تأثیر شوری و تغذیه روی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن معنی‌دار بود (جدول ۲). افزایش سطح شوری از صفر به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش معنی‌دار (در سطح ۵٪) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن از ۲/٦۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم به ۲/٦٦ و ۲/۷٤ میلی‌گرم بر گرم شد (جدول ٦). در سطح صفر میلی‌گرم روی، شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تأثیری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نداشت در حالی که افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

شوری به ۱۰۰ میلی‌مولار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ رزماری را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در سطح ۱۰ میلی‌گرم روی افزایش سطح شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن را افزایش داد (جدول ٦). تغذیه رزماری با ۱۰ میلی‌گرم بر گرم روی منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن شد (جدول ٦). بیشترین فعالیت (۲/۷٦ میلی‌گرم در گرم) آنتی‌اکسیدانی احیای آهن در عصاره برگ رزماری رشد یافته در سطح ۱۰ میلی‌گرم با شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کمترین فعالیت (۲/۵۸ میلی‌گرم در گرم) آن در سطح صفر میلی‌گرم روی با شوری صفر میلی‌مولار کلرید سدیم اندازه‌گیری شد.

جدول ۵- اثر متقابل روی و شوری بر فعالیت پالایندگی DPPH عصاره برگ رزماری (٪)

سطح روی (mgkg-1)	شوری (میلی‌مولارکلرید سدیم)			میانگین
	۰	۵۰	۱۰۰	
۰	۷۲/۳ c	۷٤/۱ bc	۷۹/۸ a	۷۵/٤ B
۱۰	۷۵/۹ b	۷۸/٦ a	۸۰/۲ a	۷۸/۳ A
میانگین	۷٤/۱ C	۷٦/۳ B	۷۹/۹ A	

میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD معنی‌دار نیستند (حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل دوگانه و حروف بزرگ برای مقایسه اثرهای اصلی روی و شوری استفاده شده است).

جدول ٦- اثر متقابل روی و شوری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن عصاره برگ رزماری (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم)

سطح روی ($mg\ kg^{-1}$)	شوری (میلی‌مولارکلرید سدیم)			میانگین
	۰	۵۰	۱۰۰	
۰	۲/۵۸ d	۲/٦۰ d	۲/۷۲ b	۲/٦۳ B
۱۰	۲/٦٤ c	۲/۷۲ b	۲/۷٦ a	۲/۷۱ A
میانگین	۲/٦۱ C	۲/٦٦ B	۲/۷٤ A	

** و *: در سطح ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار است.

میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD معنی‌دار نیستند (حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل دوگانه و حروف بزرگ برای مقایسه اثرهای اصلی روی و شوری استفاده شده است).

بحث

افزایش سطح شوری خاک به ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ($EC= 9\ dsm^{-1}$) تأثیری بر عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری نداشت که نشان از مقاوم بودن رزماری به تنش شوری دارد. تغذیه روی موجب افزایش عملکرد خشک شاخسار رزماری در شرایط شور شد. این نتایج نشان می‌دهد که تغذیه روی تا حدی اثرهای منفی شوری بر رشد رزماری را کاهش داده است. از آنجا که روی در ساخت کلروفیل، ایندول استیک اسید و پروتئین، پایداری پروتئین و غشای سلولی نقش اساسی دارد، لذا تغذیه

Archive of SID

www.SID.ir

مناسب آن می‌تواند نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاهان به شوری ایفا کند (Tavallali *et al.*, 2009). نتایج بدست آمده توسط Hendawy & Khalid (۲۰۰۵) بر روی مریم‌گلی (*Saliva Officinalis* L.) نشان داد که تغذیه روی توانسته است تحمل مریم‌گلی را به شوری افزایش دهد. Marschner (۲۰۰۲) گزارش کرد که اضافه کردن روی به گیاه این توان را می‌دهد که در مقابل اثر منفی شوری مقاومت کند. وی دلیل این امر را نقش مهم روی در ساخت بی- ایندول استیک اسید بیان کرده است.

گزارشهای متفاوتی در مورد عوامل مؤثر بر غلظت ترکیب های فنلی برگ رزماری ارائه شده است. علاوه بر عوامل ژنتیکی گیاه (Perez *et al.*, 2007)، شرایط استخراج عصاره برگ (Wada *et al.*, 2004) و عوامل محیطی (Ksouri *et al.*, 2007) نیز به‌طور مستقیم نقش مؤثری در مقدار ترکیب های فنلی رزماری دارد. گزارشهای Luis و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که غلظت ترکیب‌های فنلی در عصاره برگ تازه رزماری استخراج شده به‌وسیله متانول در حدود ۱۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم می‌باشد. نتایج نشان داد که غلظت ترکیب های فنلی رزماری در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت. ساخت و تجمع ترکیب های فنلی در گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی و غیرمحیطی ازجمله شوری افزایش می‌یابد (Navarro *et al.*, 2006؛Ksouri *et al.*, 2007). افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی در شرایط تنش شوری در گیاهان مختلفی نظیر گیلاس (*Raphanus sativus* L.، (Agastian *et al.*, 2000) و فلفل (Navarro *et al.*, 2006) نیز گزارش شده است. اگرچه در مورد تأثیر تنش شوری بر غلظت ترکیب های فنلی برگ رزماری اطلاعات چندانی وجود ندارد، اما نتایج Bosch و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری گردیده است. تغذیه روی افزایش معنی‌دار غلظت ترکیب‌های فنلی در برگ رزماری را به همراه داشت. اگر چه دلیل مشخصی برای این افزایش تاکنون ذکر نشده است ولی نقش روی در استفاده از کربن برای ساخت ترکیب‌های فنلی در چرخه اسید شیکمیک و استات می‌تواند یکی از دلایل این افزایش باشد (Misra *et al.*, 2006).

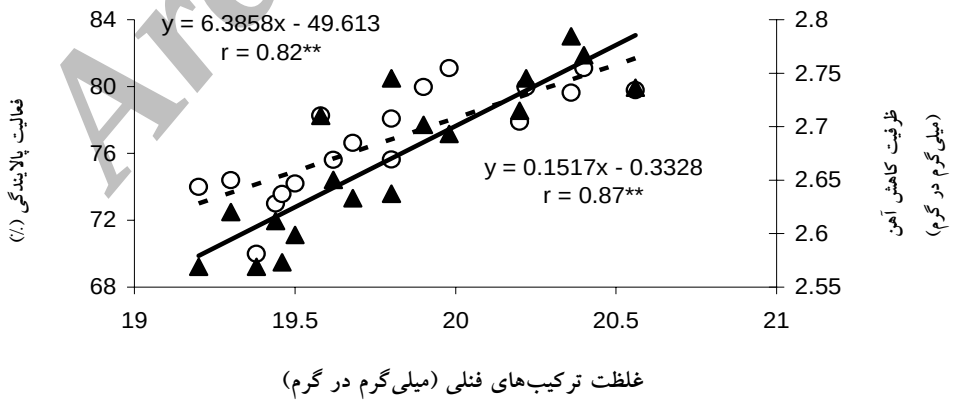
پایداری نسبی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان دارویی و ترکیب‌های خالص آنها مورد استفاده قرار گرفته است (Ksouri *et al.*, 2007؛ Perez *et al.*, 2007؛ Genena *et al.*, 2008). این روش براساس احیای محلول الکلی $DPPH^{\bullet}$ از طریق دریافت هیدروژن توسط ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد ($DPPH^{\bullet}+AH \rightarrow DPPH\text{-}H+A^{\bullet}$) (Perez *et al.*, 2007). مقدار $DPPH^{\bullet}$ تجزیه شده در یک زمان مشخص نشان‌دهنده فعالیت پالایندگی رادیکال‌ها توسط آنتی‌اکسیدان می‌باشد (Perez *et al.*, 2007). تأثیر خصوصیات ذاتی گیاه، منشأ جغرافیایی، شرایط اقلیمی گیاه و شرایط رشد درفعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی به خوبی شناخته شده است (Genena *et al.*, 2008). در این مطالعه شوری موجب افزایش معنی‌دار فعالیت پالایندگی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ توسط عصاره برگ رزماری گردید، به‌طوری که بیشترین افزایش فعالیت پالایندگی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ مربوط به رزماری رشد یافته در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری به‌طور مستقیم به مقدار ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدها و تانن نسبت داده می‌شود. از آنجایی که نقش ترکیب‌های فنلی در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش از

Archive of SID

www.SID.ir

سایر ترکیب‌ها می‌باشد بنابراین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری را می‌توان ناشی از افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی در شرایط شور دانست. همبستگی مثبت و بالای موجود بین فعالیت پالایندگی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ و غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری (شکل ۱) نشان‌دهنده اثر مؤثر ترکیب‌های فنلی در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ می‌باشد. نتایج بدست آمده با یافته‌های برخی محققان که همبستگی مثبت بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی و مقدار ترکیب‌های فنلی را گزارش کردند همخوانی دارد (Ksouri *et al.*, 2007؛ Tawaha *et al.*, 2007؛ Chew *et al.*, 2008). هر چند برخی دیگر از محققان همبستگی ضعیف یا عدم همبستگی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیب‌های فنلی برگ را گزارش کردند (Genena *et al.*, 2008). تأثیر تغذیه روی در افزایش فعالیت پالایندگی رادیکال $DPPH^{\bullet}$ را به طور غیرمستقیم می‌توان مربوط به نقش روی در افزایش مقدار ترکیب‌های فنلی برگ رزماری دانست.

در این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن بر پایه توانایی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره برگ رزماری در کاهش آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی تخمین زده شد (Chew *et al.*, 2008). حضور ترکیب‌های احیاءکننده نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی می‌شود که این تغییر در طول موج ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است (Oliveira *et al.*, 2008). عقیده بر این است که ظرفیت کاهش آهن توسط عصاره با مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن عصاره در ارتباط می‌باشد و یکی از مهمترین جنبه‌های تخمین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های ثانویه گیاهان محسوب می‌شود (Ksouri *et al.*, 2009؛ Yiu *et al.*, 2009). نتایج نشان داد که شوری منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن عصاره برگ رزماری شد. تغذیه روی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن عصاره برگ رزماری رشد کرده در شرایط شور شد. همبستگی مثبت بین غلظت ترکیب‌های فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن (شکل ۱) نشان از نقش مؤثر ترکیب‌های فنلی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن عصاره برگ رزماری دارد.



شکل ۱- همبستگی خطی بین ترکیب‌های فنلی و فعالیت پالایندگی (O) و ظرفیت کاهش آهن (▲) عصاره برگ رزماری

Archive of SID
www.SID.ir

مطالعات متعددی نشان داده است که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی به دلیل وجود غلظت بالای ترکیب‌های فنلی و پتانسیل کاهندگی فوق‌العاده آنها می‌باشد. این ترکیب‌ها از طریق دفع اکسیژن و آزادسازی هیدروژن قادر به کاهش رادیکال‌های اکسیدی هستند (Ksouri *et al*., 2009). در مطالعات متعدد دیگری نیز همبستگی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن و مقدار ترکیب‌های فنلی برگ تأیید شده‌است (Lim & Quah, 2007؛ Chew *et al*., 2009).

مطالعات متعدد نشان داده است که عصاره رزماری می‌تواند به‌عنوان دهنده‌ی الکترون و هیدروژن عمل کرده و با رادیکال آزاد واکنش داده و آنها را به محصولات پایدارتر تبدیل کند. نتایج این تحقیق نشان داد که تنها شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش ۳ درصدی مقدار ترکیب‌های فنلی برگ رزماری در مقایسه با سطح صفر میلی‌مولار شد و شوری ۵۰ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری نداشت. افزایش سطح شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار موجب افزایش ۳ و ۸ درصدی فعالیت پالایندگی رادیکال و افزایش ۲ و ۵ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن در مقایسه با سطح صفر میلی‌مولار کلرید سدیم گردید. تغذیه روی در شرایط شور تقریباً به یک نسبت موجب افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی، درصد فعالیت پالایندگی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن عصاره برگ رزماری شد. نتایج نشان داد که شوری نه تنها موجب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری نشد، بلکه افزایش فعالیت را نیز به همراه داشت. از طرفی تغذیه مناسب روی موجب افزایش رشد رزماری و تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط شور شد.

منابع مورد استفاده

- قنادی، ع.، سجادی، ا. و محمدالمسلمی، م.ا.، ۱۳۸۱. بررسی فیتوشیمیایی فلاونوئیدها و روغن فرّار رزماری کشت شده در ایران. مجله علوم پزشکی اهواز، ۳٤: ٤۰-۳۳.
- Agastian, P., Kingsley, S.J. and Vivekanandan, M., 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. Photosynthetica, 38: 287-290.
- Bosch, S.M., Alegre, L. and Schwarz, K., 2000. The formation of phenolic diterpenes in *Rosmarinus officinalis* L. under Mediterranean climate. European Food Research and Technology, 210: 263-267.
- Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S., 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT-Food Science and Technology, 41(6): 1067-1072.
- Chew, Y.L., Goh, J.K. and Lim, Y.Y., 2009. Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. Food Chemistry, 116: 13-18.
- El-Rajoob, A.O., Massadeh, A.M. and Omari, M.N., 2008. Evaluation of Pb, Cu, Zn, Cd, Ni and Fe levels in *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) medicinal plant and soils in selected zones in Jordan. Environment Monitor Assessment, 140: 61-68.
- Erkan, N. Ayranci, G. and Ayranci, E., 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry 110: 76-82.
- Genena, A.K., Hence, H., Junior, A.S. and de Souza, S.M., 2008. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) - a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28: 1-7.
- Hanato, T. Kagawa, H. Yasuhara, T. and Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effect. Chemical and pharmaceutical Bulletin, 36(2): 2090-2097.
- Hendawy, S.F. and Khalid Kh.A., 2005. Response of Sage (*Salvia Officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. Journal of Applied Sciences Research, 1(2): 147-155.
- Ksouri, R., Megidiche, 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.

Archive of SID

www.SID.ir

- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction, antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition, 44(6): 307-315.
- Perez, M.B., Calderom, N.L. and Croci, A.L., 2007. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Food Chemistry, 104(2): 585-592.
- Romano, C.S., Abadi, K., Reppeto, V., Vojnov, A.A. and Moreno, S., 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. Food Chemistry, 115(2): 456-461.
- Tavallali, V., Rahemi, M., Maftoun, M., Panahi, B., Karimi, S., Ramezanian, A. and Vaezpour, M., 2009. Zinc influence and salt stress on photosynthesis, water relations, and carbonic anhydrase activity in pistachio. Scientia Horticulturae, 123(2): 272-279.
- Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat, T., 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry, 104(4): 1372-1378.
- Terpinc, P., Bezjak, M. and Abramovic, H., 2009. A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. Food Chemistry, 115(2): 740-744.
- Wada, M., Kido, H., Ohyama, K., Kishikawa, N., Ohba, Y. Kuroda, N. and Nakashima, K., 2004. Evaluation quenching effects of non-water soluble and water soluble rosemary extract against active oxygen species by chemiluminiscent assay. Food Chemistry, 87: 261-267.
- Yiu, J.C., Juang, L.D., Fang, D.Y.T., Liu, C.W. and Wu, S.J., 2009. Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. Scientia Horticulturae, 120(3): 306-314.
- Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magne, 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.
- Lim, Y.Y. and Quah, E.P.L., 2007. Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. Food Chemistry, 103: 734-740.
- Luis, J.C., Perez, R.M. and Gonzalez, F.V., 2007. UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary plants. Food Chemistry, 101: 1211-1215.
-Marschner, H., 2002. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic press, San Diogo, 889p.
- Misra, A., Dwivedi, S., Srivastava, A.K., Tewari, D.K., Khan, A. and Kumar, R., 2006. Low iron stress nutrition for evaluation of Fe-efficient genotype phyiology, photosynthesis, and essential monoterpene oil(s) yield of *Ocimum sanctum*. Photosynthtica, 44(3): 474-477.
- Muthukumarasamy, M., Gupta, S.D. and Pannerselvam, R., 2000. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activity by tridimefon in NaCl stressed *Raphanus Sativus* L. Biologica Plantarum, 43: 317-320.
- Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C. and Martinez, V., 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity. Food Chemistry, 96: 66-73.
- Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J.A., 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food and Chemical Toxicology, 46(7): 2326-2331.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of salinity and zinc nutrition on growth and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. in a calcareous soil

M. Hejazi Mehrizi[1*], H. Shariatmadari[2], A.H. Khoshgoftarmanesh[2] and F. Moattar[3]

1*- Corresponding author, PhD. Student, Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, E-mail: magidheg60@yahoo.com
2- Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
3- Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: December 2009 Revised: June 2010 Accepted: July 2010

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is one of the medicinal plants exhibiting potential for secondary metabolite production. In the present study, the interaction effects of zinc nutrition and salinity on growth of Rosemary, total phenolic content, DPPH radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (FRAP) were studied in a Zn deficient soil. Two zinc levels (0 and 10 mg kg-1 Zn as ZnSO4) and three salinity levels (0, 50 and 100 mM NaCl in irrigation water) were used as treatments in a factorial experiment based on completely randomized design with four replications. According to the results, salinity did not show significant effect on shoot dry weight production which indicates salinity tolerance of Rosemary. 100 mM NaCl salinity increased total phenolic content, DPPH radical scavenging activity and FRAP up to 3, 8 and 5 percent respectively. 10 mg Zn added to the soil also increased total phenolic content (2%), DPPH radical scavenging activity (4%) and FRAP (3%). The results of correlation test showed that increase of antioxidant activity in Rosemary grown under salinity condition was due to the increase of total phenolic content. Our findings suggest that salt stress and suitable Zn nutrition increase antioxidant compounds in Rosemary.

Key words: Salinity, *Rosmarinus officinalis* L., antioxidant activity, phenolic compound, Zn nutrition.

Archive of SID

www.SID.ir