Arshive of SID

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال سیزدهم، شماره ۵۱، پاییز ۱۳۹۷ / صفحات: ۶۶-۵۱

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سنجش محتوی متابولیت‌های ثانویه و اسمولیت‌های اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران (*Chelidonium majus* L.) در مراحل مختلف فنولوژیکی

آیتن جرجانی[۱]، مریم نیاکان[۱*]، ابراهیم غلامعلی پورعلمداری[۲]

[۱]گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان ، ایران

[۲]گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۲ ؛ تاریخ پذیرش:۹۷/۹/۲۵

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سنجش میزان آلکالوئیدها، ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌علاوه اسمولیت‌های گیاه دارویی مامیران در مراحل رویشی، گل‌دهی و میوه‌دهی بود. جهت نیل به این هدف، ابتدا نمونه‌های مامیران از حاشیه مزارع بخش چمستان شهرستان نور از توابع استان مازندارن جمع‌آوری و سپس از لحاظ گیاه‌شناسی مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ریشه مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی از میزان آلکالوئیدها و فنل کل بیشتری در مقایسه با اندام‌های هوایی در مراحل مشابه برخوردار بود. هم‌چنین بیشترین میزان آلکالوئیدها و فنل کل ریشه به ترتیب به مرحله رویشی و گل‌دهی اختصاص داشت. میزان آنتوسیانین‌ها با افزایش مرحله نموی گیاه مامیران در اندام‌های ریشه و هوایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. سنجش قندهای محلول در گیاه مامیران نشان داد که میزان این ترکیبات در تمام مراحل فنولوژیکی در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود. اما بیشترین میزان پرولین در اندام هوایی در مرحله رویشی مشاهده شد. مطابق نتایج به‌دست آمده فعالیت، کاتالاز و پراکسیداز همبستگی مثبتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان دادند. در این تحقیق مشخص شد با افزایش میزان ترکیبات آلکالوئیدی و فنلی در اندام‌های زیرزمینی و هوایی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در مجموع، ریشه گیاه مامیران در مرحله رویشی از مقدار مناسبی از مواد موثره آلکالوئیدی برخوردار بود، بنابراین شاید بتوان از آن به‌عنوان منبع مناسبی جهت استحصال ترکیبات دارویی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها، پراکسیداز، فنل کل، کاتالاز، گیاه دارویی، مراحل رشد

مقدمه

مامیران کبیر با نام علمی *Chelidonium majus* از تیره Papaveraceae، گیاهی است دگرگشن، یک‌ساله و یا پایا که عموماً علفی و به ندرت دارای اعضای چوبی یا به‌صورت درختچه‌اند که ۲۶ جنس و ۷۰۰ گونه از آن‌ها شناسایی گردیده است. مامیران به‌طور خودرو در قسمت‌های جنوبی و اروپای مرکزی، بخش‌های آسیا و شمال امریکا رشد می‌کند (Saglam and Arar, 2003; Tin-Wa et al., 1972). از میان تمامی جنس‌های تیره خشخاش تنها پنج جنس آن تاکنون در ایران دیده شده است که شامل جنس‌های *Papaver*، رومریا (*Romeria*)، کلیدونیوم (*Chelidonium*)، گلوسیوم (*Glaucium*) و هیپه کوم

*نویسنده مسئول:

www.SID.ir

Arshive of SID

(*Hypecoum*) در سیستان و بلوچستان است (Zargari, 1989). شیرابه این گیاهان ممکن است شیری رنگ (در پاپاورها)، زرد رنگ در کلیدونیوم‌ها و یا سرخ رنگ در سانگوئیناریاها باشد (Mabberley, 1990).

گیاهان منبعی ارزشمند در تولید طیف گسترده‌ای از ترکیبات شیمیایی نظیر مواد معطر، چاشنی‌ها، شیرین کننده‌های طبیعی، مواد ضد میکروبی و دارویی هستند. در اغلب موارد این ترکیبات به گروه‌های متابولیکی بزرگی تعلق داشته که مجموعاً به‌عنوان متابولیت‌ها یا فرآورده‌های ثانویه شناخته می‌شوند (Farsi and Zolali, 2004). از متابولیت‌های ثانویه می‌توان آلکالوئیدها، فنل‌ها، فلاوونوئیدها، کومارین‌ها، استرول‌ها و استروئیدها را نام برد که در تعداد کمی از گیاهان تولید می‌شوند. آلکالوئیدهای تروپان در همه بخش‌های گیاهان حاوی آن‌ها یافت می‌شود و نسبت هریک از این ترکیبات در بین گونه‌ها، زمان‌های مختلف سال، محل رویش و اندام‌های مختلف یک گونه گیاهی متفاوت است (Sarin, 2005). Vieira و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که خواص دارویی مامیران بیشتر مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی و آلکالوئیدهای آن می‌باشد. هم‌چنین Sharma و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند که آلکالوئیدهای موجود در مامیران دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. در برخی گزارشات نیز عنوان شده است بین محتوی فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان رابطه مستقیمی وجود دارد (Swetie et al., 2007; Akbari et al, 2012; Gourine et al., 2010). به‌عنوان مثال Jamshidi و همکاران (۲۰۱۰) عصاره متانولی چند گیاه بومی مازندران را از نظر ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه نشان داد که ارتباط مناسبی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات پلی فنلی گیاهان مورد مطالعه وجود دارد. ترکیبات فنلی شامل یک گروه بزرگ و عمده از ترکیبات شیمیایی گیاهی حاصل از مسیر فنیل پروپانویید می‌باشند که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و نقش مهمی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارند (Sarin, 2005).

گزارشات متعدد حاکی از آن است که متابولیت‌های ثانویه گیاهی هیچگاه در اندام‌ها ثابت نبوده و متناسب با رشد گیاه و عوامل محیطی، شرایط رویشگاه، زمان برداشت عوامل ژنتیکی و نیز فنولوژی دستخوش تغییر می‌شود (Dambolena et al., 2010). در این راستا اعلام شده است مراحل فنولوژی و نوع اندام تاثیر معنی‌داری بر محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاهان دارد. به‌عنوان مثال در تحقیقی عنوان گردید در گیاه برازمبل بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی متعلق به برگ گیاهانی بود که در مرحله رشد رویشی قرار داشتند (Ebrahimi, 2014). هم‌چنین در پژوهش Khatir Nameni و Mazandarani (۲۰۱۱) بر روی میزان فنل‌ها و فلاونوئیدهای اندام‌های برگ، ریشه، ساقه، گل و میوه گیاه شابیزک در سه رویشگاه، مشخص شد که بیشترین میزان فنل‌ها به برگ‌ها و کمترین میزان آن به ساقه گیاه تعلق دارد. Afshar Mohammadian و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که میزان فنل کل در اندام‌های مختلف گیاه عطر پاییزی شامل ریشه، ساقه، برگ و گل در مرحله گل‌دهی متفاوت بود. هم‌چنین طبق نتایج Mazandarani و همکاران (۲۰۱۰) میزان فلاونوئید کل برگ گیاه آقطی نسبت به دیگر اندام‌ها بیشتر بود. Sedaghat و Shokrgozar (۲۰۰۱) نیز اظهار داشتند که برگ‌های جوان چای نسبت به برگ‌های مسن از محتوی پلی فنلی بیشتری برخوردار می‌باشند.در تحقیق دیگری که توسط Naghiloo و همکاران (۲۰۱۲) بر *Astragalus compactus* انجام شد مشخص گردید مقادیر ترکیبات

www.SID.ir

Arshive of SID

فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره این گیاه، به مرحله نموی گیاه بستگی داشته و بالاترین مقادیر مربوط به مرحله میوه‌دهی بود.

تحقیقات نشان داده است در گیاهان جهت مقابله با تغییرات محیطی نظیر آب و دما که در طی مراحل رشد حادث می‌شود دچار تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند. لذا جهت مقابله با آن دارای یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی با کارآیی بالا می‌باشند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده، خنثی و یا جاروب کنند. این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و نیز سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی شامل آسکوربات، آلفاتوکوفرول، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی، پرولین و گلوتاتیون می‌باشد (Shahid et al., 2014).

از سوی دیگر ترکیبات آلی گیاهان نیز دستخوش تغییرات محیطی و نیز مراحل رشد می‌گردند (Hare et al., 1998). به‌عنوان مثال کربوهیدرات‌ها در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تعرق و تنفس، نقش مستقیم داشته و از این‌رو تغییر در مقدار آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار بوده و می‌تواند متابولیسم و رشد نمو گیاهان را دستخوش تغییرات اساسی کند. به‌عنوان مثال در تحقیقی مشاهده شد روند تغییرات کربوهیدرات‌های محلول در گیاه برازمبل *Proveskia abrotanoides* در اندام‌های مختلف و در مراحل مختلف فنولوژیکی معنی‌دار و قابل ملاحظه بود (Sabagh et al., 2017). سوی دیگر میزان پرولین آزاد نیز در بسیاری از گیاهان در عکس العمل به تنش‌های محیطی در طی مراحل رشد دستخوش تغییر می گردد . به عنوان مثال عواملی نظیر تغییرات دما ، میزان رطوبت خاک از جمله عواملی هستند که گیاه ناگزیر آن را در دوران رشد خود تحمل می کند. لذا به نظر می‌رسد در هر دوره بایستی مکانیسم‌های لازم جهت رویارویی با این تتغییرات محیطی را دارا باشد (Hosseini, 2000).

پژوهش‌های متعددی روی گونه‌های گیاهان دارویی از لحاظ خصوصیات فیتوشیمیایی انجام شده است، اما تحقیقات در مورد گیاه دارویی مامیران به‌ویژه کمیت متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در اندام‌ها در مراحل مختلف فنولوژیکی اندک می‌باشد. در حال حاضر مامیران به‌صورت خودرو با زیست توده بالا در اطراف مزارع استان‌های شمالی از جمله چمستان نور از توابع استان مازندران رویش می‌نماید. با توجه به اهمیت این گیاه از لحاظ دارویی، هدف از این تحقیق، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سنجش محتوی متابولیت‌های ثانویه و اسمولیت‌های اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران (*Chelidonium majus* L.) در مراحل مختلف فنولوژیکی بود.

مواد و روش‌ها

مختصات جغرافیایی،آب و هوایی محل جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی: در این آزمایش، اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران (*Chelidonium majus* L.) که گیاهی چند ساله با اندام هوایی یکساله می باشد در مراحل مختلف فنولوژیکی رویشی، گل‌دهی و میوه‌دهی به‌ترتیب در اواخر پاییز، زمستان و بهار چمع آوری شد. منطقه نمونه برداری از حاشیه مزارع بخش چمستان شهرستان نور از توابع استان مازندارن با مختصات جغرافیایی ۵۲ درجه و ۲۸ دقیقه طول شرقی و ۳۶ درجه و ٤٦ دقیقه عرض شمالی و ۷۱ متر ارتفاع از سطح دریا، متوسط بارندگی ده ساله در حدود ۸۵۳ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۱۵/۸ درجه سانتی‌گراد بود. وضعیت آب و هوایی چمستان به‌صورت مجاور حاره، معتدل نیمه مرطوب، معتدل

www.SID.ir

Arshive of SID

بحری، بارش آن بیشتر در ماه‌های سرد سال توزیع شده است.

شناسایی و آماده سازی نمونه‌های گیاهی: قبل از شروع آزمایش، نمونه گیاهی مامیران کبیر توسط فلور رنگی ایران (Ghahreman, 1994) مورد شناسایی قرار گرفت. سپس نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده در مراحل مختلف فنولوژیکی مورد بررسی به‌تفکیک اندام هوایی و زیر زمینی جهت سنجش‌های بیوشیمیایی از یکدیگر جدا گردیدند. لازم به ذکر است اندام هوایی شامل شاخه و برگ در زمان رویشی، سرشاخه‌های گل‌دار در زمان گل‌دهی و تشکیل کپسول در زمان میوه‌دهی بود. جهت آماده سازی نمونه‌های خشک، ابتدا بخش‌های هوایی و زیرزمینی به‌طور جداگانه در شرایط نور غیر مستقیم نیمه پژمرده و سپس با کمک آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. سپس توسط آسیاب، پودر و در پایان در کیسه‌های پلاستیکی زیب‌دار تا زمان استفاده نگهداری شدند. سنجش‌های بیوشیمیایی ذیل در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشگاه گنبدکاووس در سه تکرار در سال ۱۳۹۶ انجام شد.

سنجش آلکالوئیدها: مقدار ۰/۱ گرم از بافت خشک اندام زیرزمینی و هوایی مربوط به هر دوره رشد تهیه شد. دو میلی‌لیتر محلول اتانول اسید استیک (ترکیب ۹۰ به ۱۰ از اتانول به اسید استیک) همگن شدند. مخلوط همگن به فالکون منتقل، به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده شد و به مدت ٤ ساعت روی دستگاه لرزاننده قرار گرفت. بعد از این مدت، مخلوط را از کاغذ صافی واتمن عبور و در حمام آب جوش با دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا محلول تبخیر شده و به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر برسد. سپس قطره قطره هیدروکسید آمونیوم (NH_4OH) به محلول تغلیظ شده حاصل اضافه شد. پس از مشاهده رسوب، سانتریفیوژ انجام شد. در مرحله بعدی فاز رویی دور ریخته شد و رسوب حاصل در اسید سولفوریک ۰/۱ مولار حل گردید. جذب نوری محلول در طول موج ۳٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 خوانده شد. در نهایت نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن خشک ($OD.g^{-1}.DW$) گزارش شد (Harborne, 1973).

سنجش فنل کل: مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه خشک اندام زیرزمینی و هوایی مامیران با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد مخلوط شد. پس از سانتریفیوژ، مخلوط رویی در حمام آب جوش قرار داده تا نسبتاً غلیظ گردد. محلول غلیظ شده توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاصل به حجم ۳ میلی‌لیتر رسید. در ادامه بر روی محلول به‌دست آمده، ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰ درصد و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از سرد شدن جذب نوری آن در طول موج ٦۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera-S22 قرائت شد. میزان فنل کل توسط منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد (Malick and Singh, 1980).

سنجش آنتوسیانین‌ها: مقدار ۰/۵گرم از نمونه تر اندام زیرزمینی و هوایی مامیران درهاون چینی با مقداری متانول اسیدی به نسبت حجمی ۱:۹۹ سی سی (متانول خالص (۹۹) و اسید کلریدریک خالص (۱)) کاملاً ساییده و عصاره در لوله‌های سر پیچ‌دار ریخته شد و به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰دقیقه با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گشت. در ادامه جذب روشناور در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت

www.SID.ir

Arshive of SID

شد (Wagner, 1979). برای محاسبه میزان از فرمول A= εBC استفاده شد که در آن ε یا ضریب خاموشی ۳۳۰۰ سانتی‌متر بر مول، B، عرض کووت برابر ۱ سانتی‌متر و C، غلظت کمپلکس بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تردر نظر گرفته شده و محاسبه گردید.

سنجش قندهای محلول: ابتدا مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه خشک اندام زیرزمینی و هوایی را با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت یک هفته در یخچال نگهداری تا قندهای محلول آن کاملاً جدا گردد. پس از یک هفته، از محلول رویی اندام‌ها، یک میلی‌لیتر برداشته و به حجم دو میلی‌لیتر با کمک آب مقطر رسانده شد. پس از اضافه کردن یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤٨٥ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera-S 22 قرائت گشت. در پایان میزان قندهای محلول نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن خشک اندام‌های مورد بررسی گزارش شد (Kochert, 1978).

سنجش پرولین: ابتدا ۰/۵ گرم ماده تر اندام زیرزمینی و هوایی ماميران با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل با سانتریفیوژ، صاف گردید. دو میلی‌لیتر از مخلوط حاصل در داخل لوله آزمایش ریخته شد. در ادامه دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و دو میلی‌لیتر معرف اسید ناین هیدرین به محلول حاصل اضافه گشت. سپس محلول برای مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار گرفت. برای خاتمه واکنش، نمونه‌ها داخل حمام یخ قرار گرفته و در ادامه چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول حاصل اضافه گردید. محلول به‌دست آمده به مدت ۳۰ ثانیه به‌خوبی تکان داده، به‌طوری‌که لایه رویی زرد رنگ تولوئن نمایان شد. سپس فاز رویی جدا و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera-S 22 در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Bates et al., 1973).

فعالیت آنزیم کاتالاز: جهت انجام این آزمایش، ۲۵۰ میلی‌گرم (۵۰۰ میلی‌گرم) نمونه تر اندام زیرزمینی و هوایی درهاون چینی حاوی ۱/۵ سی‌سی بافر فسفات پتاسیم برابر با pH= ۷/۵ به‌طور کامل در ازت مایع ساییده شد. سپس به مدت ۲۵ دقیقه در سانتریفیوژ با ۱۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. در ادامه ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷/٤ =و ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن یک درصد به ۲۵ و ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهی حاصل اضافه گشت. سپس کاهش جذب محلول در اثر حذف پراکسید هیدروژن در طول موج ۲٤۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 در مدت ٦۰ ثانیه اندازه گیری شد (Chance and Maehly, 1995).

رابطه (۱) $A=\varepsilon\, bc$

در این معادله A: نقطه جذب، ε: ضریب خاموشی، b: طول سل (یک سانتی‌متر)، c: غلظت کاتالاز بر حسب میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه، ε: ۳۹/٤ میکرومول می‌باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز، ۷۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH= ٦/٦، ۹۰ میکرولیتر گایاکول ۱ درصد، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد استفاده شد. مواد فوق را در بستر یخ در کووت ۱ میلی‌لیتری با یکدیگر مخلوط و بلافاصله ۲۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی استخراج شده از اندام‌های هوایی و زیرزمینی ماميران که حاوی آنزیم‌های گیاهی است به کووت اضافه شد (Hemeda and Kelin,

www.SID.ir

Arshive of SID

1990). تغییرات جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر در یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 خوانده شد. در محلول بلانک بجای عصاره آنزیمی بافر فسفات ٥٠ میلی‌مولار استفاده شد. فعالیت آنزیم با استفاده از قانون بیر- لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز (٢٦/٦ M^{-1} cm^{-1}) محاسبه شد. سپس فعالیت آنزیمی برحسب حسب میکرو مول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه گزارش شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: جهت انجام این آزمایش، ٣/٩ میلی‌لیتر از DPPH استوک ساخته شده (٠/٠٠٠٤ گرم DPPH در ١٠٠ میلی‌لیتر متانول) داخل لوله آزمایش ریخته و سپس ٠/١ میلی‌لیتر از عصاره حاصل از اندام‌های هوایی و زیرزمینی را به آن اضافه و به مدت ٣٠ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. میزان جذب نمونه در طول موج ٥١٧ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد (Brand-Williams et al., 1995).

$$I(\%)= 100\times (A_0 - A_s)/A_0 \qquad (٢)$$

رابطه

A_0 جذب کنترل (حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و As جذب نمونه بود.

در این تحقیق، ابتدا نرمال سنجی داده‌ها توسط نرم‌افزار Minitab با نسخه ١٤ مورد آزمون قرار گرفت. سپس داده‌های غیر نرمال، نرمال گردید. تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS با نسخه ٩/٣ و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم گشت.

نتایج

نتایج بیانگر اختلاف معنی‌دار اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی رویشی، گل‌دهی و میوه‌دهی از لحاظ میزان متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها، فنل کل و آنتوسیانین‌ها، متابولیت‌های اولیه (قندهای محلول و پرولین)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و به‌علاوه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد در سطح احتمال یک درصد بود. مطابق نتایج، کمترین ضریب تغییرات به قندهای محلول و آنتوسیانین‌ها به‌ترتیب معادل ٩/٤٠ و ١١/٠٥ درصد اختصاص داشت (جدول ١). بنابراین می‌توان استنباط نمود که دقت داده‌ها از لحاظ این متابولیت‌ها بیشتر بوده است.

جدول ١: تجزیه واریانس متابولیت‌ها، آنزیم‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	آلکالوئیدها	فنل کل	آنتوسیانین‌ها	قندهای محلول	پرولین	کاتالاز	پراکسیداز	DPPH
تیمار	٥	٠/٠٠٠١**	١٢٤/٠٢**	٠/٠٢**	٦٥/١٧**	٦/٩٩**	١/٥٦**	٥٦/١٤**	٤٤٠/١٣**
خطا	١٢	٠/٠٠١	٦/٣٤	٠/٠٠١	٥١/٧٥	٠/٧٦	٠/٠٢	٣/٩٠	٦/٢٨
ضریب تغییرات (درصد)		١٣/٧٩	١٨/٥٠	١١/٠٥	٩/٤٠	٢٠/٥٥	١٥/١٠	٢٥/٩٥	١٤/٠١

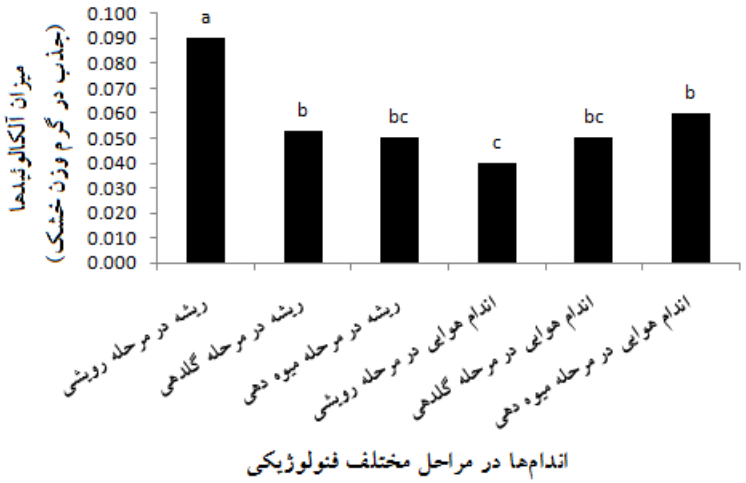
**: نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

www.SID.ir

Arshive of SID

اثر نوع اندام و مراحل فنولوژیکی بر میزان ترکیبات فیتوشیمیایی

آلکالوئیدها: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اندام‌های هوایی و زیرزمینی ماميران در مراحل مختلف فنولوژیکی از میزان متفاوتی از آلکالوئیدها برخوردار بودند. بیشترین میزان آلکالوئیدها به ریشه در مرحله رویشی معادل ۰/۰۹۰ گرم بر وزن خشک تعلق داشت. در مقابل اندام هوایی در مرحله رویشی با مقدار ۰/۰۴۰ گرم بر وزن خشک از کمترین میزان برخوردار بود، اما اختلاف معنی‌داری با ریشه در مرحله میوه‌دهی و اندام هوایی در مرحله گل‌دهی نشان نداد، لذا در گروه یکسانی قرار گرفتند (شکل ۱). مطابق نتایج، میزان آلکالوئیدها رابطه مثبت و معنی‌داری با میزان آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز و قندهای محلول نشان داد. همبستگی آلکالوئیدها با میزان فنل کل و درصد مهار رادیکال‌های آزاد نیز مثبت ولی غیر معنی‌دار بود. در مقابل بین متغیر آلکالوئیدها با پرولین یک رابطه منفی و معنی‌داری برقرار بود. ترکیبات آلکالوئیدی با آنتوسیانین‌ها نیز همبستگی منفی ولی غیر معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۲).

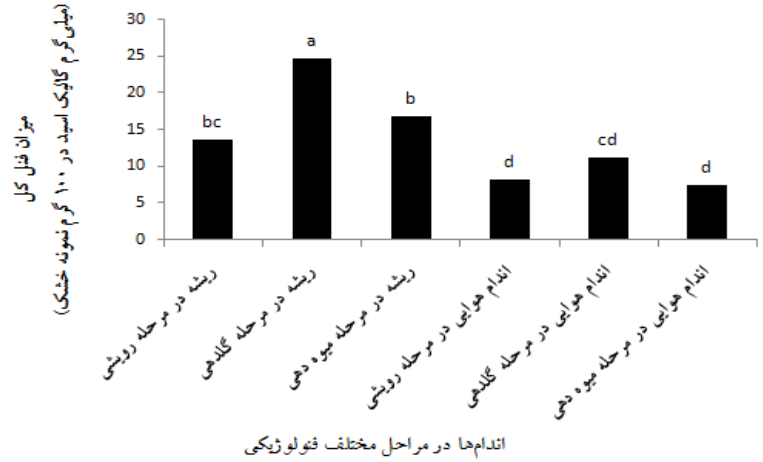


شکل ۱: مقایسه میانگین آلکالوئیدهای اندام‌های هوایی و زیرزمینی ماميران در مراحل مختلف فنولوژیکی

فنل کل: میزان تغییرات فنل کل اندام‌های هوایی و زیرزمینی ماميران در مراحل مختلف فنولوژیکی در دامنه‌ای بین ۷/۳۶ و ۲۴/۶۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه خشک بود. بیشترین این مقدار به اندام ریشه در مرحله گل‌دهی اختصاص داشت. در مقابل اندام هوایی در مرحله میوه‌دهی از کمترین مقدار برخوردار بود که اختلاف آن با اندام هوایی در مرحله گل‌دهی و رویشی معنی‌دار نبود (شکل ۲). بر اساس ضرایب همبستگی پیرسون، بین متغیر فنل کل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداز و میزان قندهای محلول همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. اما متابولیت ثانویه فنل کل با آنتوسیانین‌ها، رابطه منفی و معنی‌داری را نشان داد. متغیر فنل کل با سایر صفات همبستگی معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲).

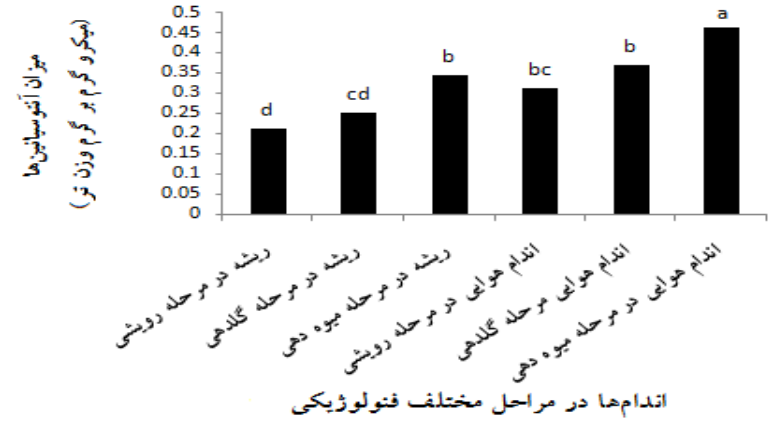
www.SID.ir

Arshive of SID



شکل ۲: مقایسه میانگین فنل کل اندام‌های هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

آنتوسیانین‌ها: نتایج به‌دست آمده نشان داد که اندام هوایی نسبت به زیرزمینی ریشه در تمام مراحل فنولوژیکی از میزان آنتوسیانین‌های بیشتری برخوردار بود. میزان آنتوسیانین‌ها با افزایش دوره فنولوژیکی، افزایش نشان داد. در مجموع بیشترین مقدار به اندام هوایی در مرحله میوه‌دهی با مقدار ۰/٤٦ میکروگرم بر گرم وزن تر اختصاص داشت (شکل ۳). بررسی همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه نشان از وجود همبستگی منفی معنی‌دار بین آنتوسیانین‌ها با قندهای محلول، آنزیم پراکسیداز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت. این در حالی است که میزان آنتوسیانین‌ها با سایر صفات متابولیتی و آنزیمی ارتباط معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲).



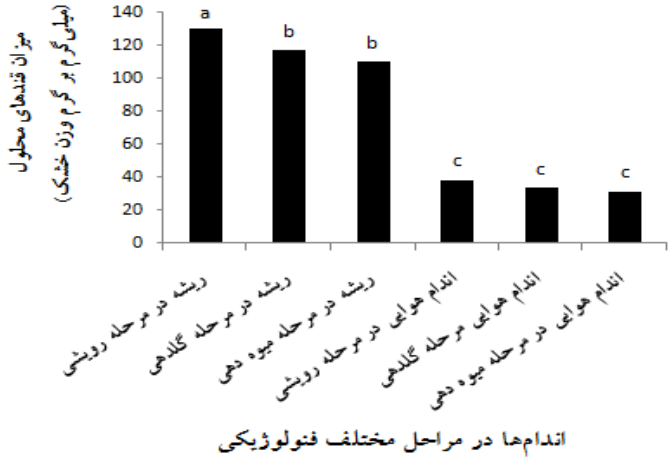
شکل ۳: مقایسه میانگین آنتوسیانین‌های اندام هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

قندهای محلول: همان‌طوری‌که از شکل ٤ مشاهده می‌شود، اندام ریشه در هر سه مرحله فنولوژیکی از میزان بالاتری از قندهای محلول نسبت به اندام هوایی برخوردار بود. بیشترین میزان قندهای محلول به اندام ریشه در مرحله رویشی معادل ۱۲۹/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک تعلق داشت. در مقابل اندام هوایی در مرحله میوه‌دهی از کمترین مقدار (۳۱/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) برخوردار بود، اما اختلاف آن با اندام هوایی در مرحله فنولوژیکی رویشی و گل‌دهی معنی‌دار نبود. در این مطالعه بین قندهای محلول با

www.SID.ir

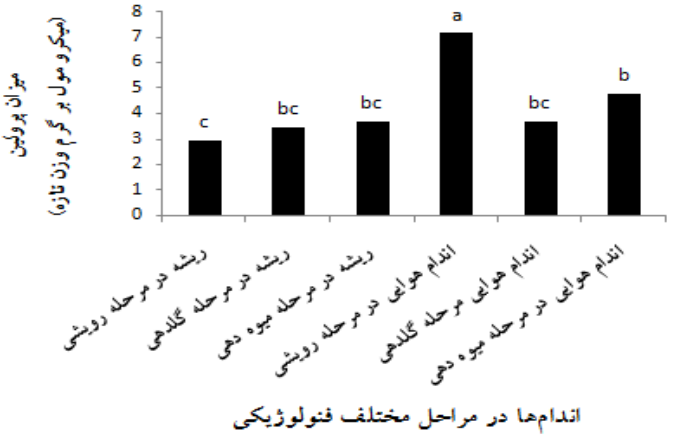
Arshive of SID

آلکالوئیدها، فنل کل، آنزیم پراکسیداز و فعالیت آنتی‌آکسیدانی یک رابطه مثبت و معنی‌داری بر قرار بود، به‌طوری‌که قندهای محلول بیشترین همبستگی مثبت را با فعالیت آنتی‌اکسیدانی به مقدار ۰/۹۳ نشان داد. رابطه متغیر قندهای محلول با آنتوسیانین‌ها و پرولین منفی و معنی‌دار اما با آنزیم کاتالاز ارتباط غیر معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲).



شکل ٤: مقایسه میانگین قندهای محلول اندام‌های هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

پرولین: بررسی تغییرات میزان پرولین در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران در مراحل نموی مورد بررسی نشان داد که بیشترین میزان پرولین به اندام هوایی در مرحله رویشی ۷/۱۲ میکرو مول بر گرم وزن تازه تعلق داشت. اما اندام ریشه در مرحله رویشی از کمترین میزان (۲/۹۳ میکرو مول بر گرم وزن تازه) برخوردار بود (شکل ۵). ضرایب همبستگی پیرسون نشان داد که بین اسید آمینه پرولین با آلکالوئیدها، قندهای محلول و آنزیم پراکسیداز رابطه منفی و معنی‌داری وجود داشت. اسید آمینه پرولین با سایر صفات بجزء آنتوسیانین‌ها نیز همبستگی منفی نشان داد، اما این رابطه معنی‌دار نبود (جدول ۲).

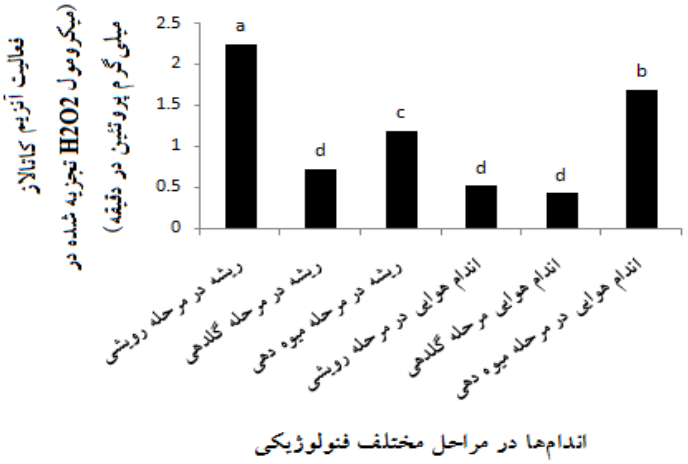


شکل ٥: مقایسه میانگین پرولین اندام‌های هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

www.SID.ir

Arshive of SID

فعالیت آنزیم کاتالاز: بررسی تغییرات فعالیت آنـزیم کاتالاز در اندام‌های مختلف مامیران نشان داد که اندام ریشـه در مرحلـه رویشـی از بیشـترین مقـدار (۲/۲٤ میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در میلی‌گرم پـروتئین در دقیقه) برخوردار بود. در مقابل کمترین فعالیت مربوط به اندام هوایی در مرحلـه گـل‌دهـی(۰/٤۲ میکرومـول H_2O_2 تجزیه شده در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بـود که اختلاف آن با ریشـه و انـدام‌هـوایی در دو مرحلـه رویشی و گل‌دهی معنی‌دار نبود (شکل ٦). این مطالعه نشان داد فعالیت آنـزیم کاتـالاز همبسـتگی مثبـت و معنی‌دار بـا آلکالوئیـدها نشـان داد. همبسـتگی متغیـر آنزیم کاتالاز با فعالیت پراکسیداز مثبت ولی این رابطه بدلیل قرار گرفتن در محدوده ۰/۳۰ تـا ۰/٦۹ متوسـط بود. هم‌چنین کاتالاز رابطه معنی‌داری را با سـایر صـفا نشان نداد (جدول ۲)



شکل ٦: مقایسه میانگین فعالیت کاتالاز اندام‌های هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

شکل ۷: مقایسه میانگین فعالیت کاتالاز اندام هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

فعالیت آنزیم پراکسـیداز: مطـابق شـکل (۷)، انـدام ریشه مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی از فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتری در مقایسه با اندام هـوایی در مراحل مشابه برخوردار بود. مقایسه میـانگین فعالیـت آنزیم پراکسیداز در مراحل مختلف فنولـوژیکی نشـان داد که ریشـه در مرحلـه رویشـی (۱۳/٤۱ میکرومـول H_2O_2 تجزیه شـده در میلـی‌گـرم پـروتئین در دقیقـه) حاوی بیشترین فعالیت بود، اما اختلاف آن با ریشه در

www.SID.ir

Arshive of SID

مرحله گل‌دهی معنی‌دار نبود. بر اساس جدول ۲، فعالیت آنزیم پراکسیداز همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری با میزان آلکالوئیدها، فنل کل، قندهای محلول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد. بیشترین ضریب همبستگی مثبت مربوط به قندهای محلول با مقدار ۰/۷۹ بود. در مقابل همبستگی منفی و معنی‌داری بین آنزیم پراکسیداز با آنتوسیانین به‌همراه پرولین برقرار بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: این مطالعه نشان داد که اندام‌های هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوزیکی از مقادیر متفاوتی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار بودند. به نحوی که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ریشه در مرحله میوه‌دهی (۳۱/۱٤ درصد) بود که اختلاف معنی‌داری با ریشه در سایر مراحل فنولوژیکی نشان نداد. اندام هوایی در مراحل گل‌دهی و میوه‌دهی از کمترین مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد به‌ترتیب ۵/۰۳ و ۵/۱۲ درصد در مقایسه با شاهد را نشان دادند (شکل ۸). نتایج ضرایب همبستگی داده‌ها نشان داد که با افزایش میزان متابولیت ثانویه فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور بسیار معنی‌داری افزایش می‌یابد. مهار رادیکال‌های آزاد با فعالیت آنزیم پراکسیداز و قندهای محلول نیز رابطه مثبتی و معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲).

شکل ۸: مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد اندام‌های هوایی و زیرزمینی مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی

جدول ۲: ضرایب همبستگی میزان متابولیت‌ها، فعالیت آنزیم‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه دارویی مامیران (*Ipomea tricolor*) در مراحل مختلف فنولوژیکی

صفات	آلکالوئیدها	فنل کل	آنتوسیانین‌ها	قندهای محلول	پرولین	کاتالاز	پراکسیداز	درصد مهار رادیکال‌های آزاد
آلکالوئیدها	۱							
فنل کل	۰/۰۸ ns	۱						
آنتوسیانین‌ها	-۰/۳۸ ns	-۰/۵۱ *	۱					
قندهای محلول	۰/۵۰ *	۰/۷۲**	-۰/۷۱**	۱				
پرولین	-۰/۶۷**	-۰/٤۱ ns	۰/۳۳ ns	-۰/۵۸ *	۱			
کاتالاز	۰/۷۹ **	-۰/۱۱ns	-۰/۱۰ ns	-۰/٤۲ ns	-۰/۳۷ns	۱		
پراکسیداز	۰/۶۲ **	۰/۶۳ **	-۰/۷۳**	۰/۷۹ **	-۰/۶۱**	۰/٤۳ ns	۱	
درصد مهار رادیکال‌های آزاد	۰/۳۱ ns	۰/۷۲ **	-۰/۶۵ **	۰/۹۳ **	-۰/٤۵ns	۰/۳۱ ns	۰/۶۶ **	۱

**، *: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns: نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار

www.SID.ir

Arshive of SID

بحث

نتایج نشان داد که اندام ریشه مامیران در مراحل فنولوژیکی رویشی و گل‌دهی از آلکالوئیدهای بیشتری نسبت به اندام هوایی در مراحل مشابه برخوردار بود. هم‌چنین بیشترین میزان فنل کل مربوط به اندام ریشه در مراحل مختلف فنولوژیکی بود. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که یکی از عوامل تاثیر گذار بر میزان ترکیبات آلکالوئیدی و نیز فنل‌ها به‌عنوان مواده موثره در گیاه مامیران، نوع اندام در مراحل مختلف فنولوژیکی می‌باشد. این موضوع هم راستا با تحقیقات سایر محققین می‌باشد. به‌عنوان مثال Ghorbanli و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه سنجش آلکالوئیدها و فنل‌ها در مامیران (*Chelidonium majus*) و پاپاور (*Papaver chelidonifolium*) گزارش نمودند که مقدار آلکالوئیدها در ریشه مامیران بیشتر از اندام هوایی و عکس آن در گیاه پاپاور می‌باشد. در مورد فنل کل، مقدار این متابولیت ثانویه در اندام هوایی پاپاور بیشتر از ریشه و در مامیران برعکس بوده است. Zeinali و همکاران (۲۰۱٤) با بررسی فیتوشیمیایی گیاه باریچه نشان دادند که بیشترین میزان فنل کل در ریشه گیاه و کمترین میزان آن در برگ گیاه مشاهده شد. هم‌چنین نتایج این تحقیق نشان داد با افزایش میزان ترکیبات فنلی اندام‌های گیاه دارویی مامیران، ظرفیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. نتایج مطالعه Iranbakhsh و همکاران (۲۰۰٦) نشان داد که تولید آلکالوئیدها از هفته دوم جوانه‌زنی دانه داتوره (*Datura stramonium* L.) شروع شده و در اندام‌های مختلف تا هفته دهم رشد افزایش یافته، سپس کاهش می‌یابد. هم‌چنین Bystricka و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که غلظت و تنوع پلی فنل‌ها در اندام‌های گیاه، به گونه، نوع اندام و مرحلهٔ رشد گیاه بستگی دارد. مطابق نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، بیشترین میزان فنل کل مربوط به ریشه در مرحله گل‌دهی بود. در گزارشی اعلام شد در مرحله گل‌دهی با افزایش حساسیت‌های گیاه نسبت به شرایط اقلیمی بر میزان مواد مؤثره ثانویه از جمله فنل‌ها افزوده می‌شود (Sardashti et al., 2013). Klan (۱۹۳۱) اعلام کرد که میزان آلکالوئیدهای تروپان در اندام‌های گیاه *Hyoscyamus*با رشد آن کاهش می یابد Hashimoto و همکاران (۱۹۹۱) با تحقیق در مورد گونه‌های هیوسیاموس نشان دادند که ریشه‌ها جایگاه بیوسنتز آلکالوئیدهای تروپان هستند.

مطابق نتایج این تحقیق، میزان آنتوسیانین‌ها با افزایش مرحله نموی گیاه مامیران در اندام ریشه و هوایی روند صعودی را نشان داد. Ghorbanli و همکاران (۲۰۱۰) نیز در بررسی مقادیر آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها در سه جنس مامیران، پاپاور و رومریا گزارش نمودند که آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها در اندام هوایی در هر سه جنس بیشتر از ریشه‌ها است و مقدار آن‌ها به ترتیب مامیران> پاپاور> رومریا بود. Kamali و همکاران (۲۰۱۵) در مورد برخی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، آنتوسیانینی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف اندام هوایی گیاه دارویی *Dracocephalum kotschyi* عنوان نمودند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها رابطه مستقیم با مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل و آنتوسیانینی دارد.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز رابطه مثبتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت. افزایش فعالیت کاتالاز نشان‌دهنده مهار کارآمد نسبت به پراکسید هیدروژن می‌باشد (Afshar Mohammadian et al., 2016). این امر یک روند قابل قبول را نشان می‌دهد. در این مطالعه، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز اندام‌ها در تمام مراحل فنولوژیکی بجز فعالیت آنزیم

www.SID.ir

Arshive of SID

کاتالاز اندام هوایی در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی با افزایش سن گیاه، کاهش نشان داد. در این راستا Ohe و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند در زمان پیری فعالیت آنزیم‌های اکسنده شامل سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در برگ‌های اسفناج و تنباکو کاهش پیدا می‌کند. پیری گیاه آخرین مرحله نمو آن می‌باشد که به‌صورت ژنتیکی و با دقت بسیار زیادی تنظیم می‌گردد. این مرحله از نمو گیاهان شامل تغییرات متابولیکی و فیزیولوژیکی منظمی است که در نهایت به مرگ برگ (گیاه) منجر می‌شود (Munne-Bosch and Alegre, 2004 و Munne-Bosch and Penuelas, 2003). فرآیند پیری در سطح مولکولی، سلولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بسیار هماهنگ عمل می‌کند و با تغییرات ویژه در ساختمان سلول، افزایش تشکیل رادیکال‌های فعال افزایش اکسیژن، پراکسیداسیون لیپیدی، از بین رفتن کلروفیل و کاهش میزان فتوسنتز شناسایی می‌گردد (Munne-Bosch et al., 2001). رادیکال‌های فعال اکسیژن به‌طور مستقیم باعث تخریب پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شوند (Sofo et al, 2004 و Reddy et al., 2004)

طبق نتایج حاصل از این تحقیق بیشترین میزان پرولین در اندام هوایی و در مرحله رویشی مشاهده شد. تحقیقات نشان داده است که متابولیت‌های اولیه گیاهان نیز مانند متابولیت‌های ثانویه دستخوش مراحل فنولوژیکی و به تبع تغییرات محیطی می‌گردند. به‌عنوان مثال با افزایش سن و آغاز فاز پیری اسید آمینه پرولین در گیاه تجمع می‌یابد که از آن به‌عنوان یکی از شاخص‌های بیوشیمیایی پیری یاد می‌شود . پرولین در سلول به‌عنوان یک ماده تنظیم کننده اسمز عمل کرده و از آنزیم‌ها و برخی ماکرو مولکول‌ها در برابر عوامل نامناسب محافظت می‌کند (Hare et al., 1998). در این راستا در گل شیپوری نشان داده شد که میزان پرولین به‌طور معنی‌داری در زمان پیری برگ افزایش می‌یابد (Swider-Rabiza et al., 2004) در تحقیق حاضر به نظر می‌رسد پرولین با گذشت زمان در مسیر سنتز سایر ترکیبات مورد نیاز گیاه نظیر پروتئین‌ها با توجه به مرحله فنولوژیی وارد شده لذا از میزان آزاد آن در طی رشد کاسته شده است. هم‌چنین با توجه به همبستگی منفی و معنی‌داری که با ترکیبات آلکالوییدی و نیز قندهای محلول دارد (جدول ۲) محتمل است گیاه از این اسید آمینه در مراحل بعدی رشد در ساختار آنزیم‌های شرکت کننده مسئول بیوسنتز این ترکیبات نیز شرکت نماید.

سنجش قندهای محلول در گیاه مامیران نشان داد که بیشترین میزان این ترکیبات در تمام مراحل فنولوژیکی در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود. هم‌چنین در این مطالعه، میزان فنل کل اندام‌ها در مراحل مختلف فنولوژیکی همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری با میزان قندهای محلول نشان داد. نتایج پژوهشی نشان داد که افزایش در تولید کربوهیدرات‌های غیرساختاری می‌تواند منجر به افزایش تولید فنولیک‌ها و فلاونوئیدها در گیاه شود. بر اساس این گزارش، افزایش در قندهای محلول دلیل افزایش محتوی فلاونوئیدها در گیاه پیاز ذکر شده است (Ibrahim et al., 2011). از سوی دیگر کاهش میزان این ترکیبات محلول در اندام هوایی را می‌توان چنین توجیه نمود که در این اندام به علت بالا بودن متابولیسم، پس از تولید مصرف شده‌اند، لذا از میزان کمتری در مقایسه با ریشه برخوردار است. از سوی دیگر از آنجایی که ریشه نسبت به اندام هوایی در مقابل تغییرات میزان آب خاک حساس تر است به نظر می رسد از این اسمولیت جهت حفظ فشار اسمزی برای دریافت آب از خاک و حفظ آن در

www.SID.ir

Arshive of SID

ریشه در طی دوره‌های مختلف فنولوژی استفاده نموده است.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست آمده، ریشه گیاه مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی از بیشترین میزان آلکالوئیدها، فنل کل و فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و بدنبال آن فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود. هم‌چنین این مطالعه نشان داد که میزان آلکالوئیدها، فنل‌ها، قندهای محلول، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با افزایش سن (مرحله فنولوژیکی) گیاه مامیران در بیشتر موارد روند نزولی را طی نمود. به‌طورکلی با شناسایی اندام‌ها و سهم هر یک از آن‌ها در مراحل مورد بررسی، شاید بتوان از طریق کشت بافت و ریز ازدیادی و یا حتی بکارگیری الیسیتورهای زیستی به تولید و استخراج ماده موثره آن دست پیدا کرد.

References

Afshar Mohammadian, M., Ghanati, F., Ahmadyani, S. and Sadr Zamani, K. (2016). Effect of drought stress on activity antioxidant enzymes and content of soluble sugar in *Mentha pulegium* L. Nova Biologica Reperta. 3(3): 228-237. (In Persian)

Afshar Mohammadian, M., Sharifi, S.N., Abolghasemi, V. and Mohammadi, N. (2015). Study of some Drug secondary Metabolites and antioxidant activity of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter. Nova Biologica Reperta. 2(2): 140-150. (In Persian)

Akbari, V., Jamei, R., Heidari, R. and Jahanban Sfahlan, A. (2012). Antioxidant activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. Food Chemistry. 135: 2404–2410.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Tevre, I.V. (1973). Rapid determination of free proline for water- stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 28:25- 30.

Bystrická, J., Vollmannová, A., Margitanová, E. and Čičová, I. (2010). Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agriculturae Slovenica. 95: 225-229.

Chance, B. and Maehly, A.C. (1995). Assay of catalase and peroxidase. In:Colowick S.P., and N.D. Kaplan. (eds). Methods in Enzymology. Academic Press. New York. 2: 764-791.

Dambolena, J.S., Zunino, M.P., Lucini, E.I., Olmedo, R., Banchio, E., Bima, P.J. and Zygadlo, J.A. (2010). Total phenolic content radic alscavenging properties and essential oil composition of Origanum species from populations. Journal of Agriculture Food Chemistry. 58: 1115-1120

Ebrahimi, R. (2014). Evaluation of antioxidant activity, essential oil and total extract of *Perovskia abrotanoides* in various growth stages and assessing antioxidant activity of strongest cells aspect essential oils. Ph.D. Thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)

Farsi, M. and Zolali, J. (2004). Principal of plant biotechnology. Publication of Ferdowsi University of Mashhad. 495p. (In Persian)

Ghahreman, A. (1994). Iran Chromophytes, Volume 4. Tehran University Publication center. 618p. (In Persian)

Ghorbanli, M., Gran, A. and Zolfaghary, A. (2010). Comparative of phytochemical compounds in three genus of Papaveraceae in Iran. Journal of Plant Science Researches. 5(3): 13-20. (In Persian)

Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Stocker, P. and Gaydou, E.M. (2010). Antioxidant activities and

www.SID.ir

Arshive of SID

chemical composition of *Pistacia atlantica* essential oil from Algerian. Industrial Crops and Products. 31: 203–208.

Harborne, J.B. (1973). Phytochemical methods, London. Phytochemistry. 51: 187189.

Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant, Cell and Environment. 21: 535-553.

Hashimoto, T., Hagashi, A., Amono, Y., Kohono, J., Jwanari, H., Usada, S. and Yamada, Y. (1991). Hyoscyamine-6-β -hydroxylase, an enzyme involved in tropane alkaloid biosynthesis is localized at pericycle of root, The Journal of Biologica Chemistry. 266(7): 4648-4653.

Hemeda, H.M. and Kelin, B.P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. Journal of Food Science. 55(1), 184-185.

Hosseini, S.M. (2000). Physiological study of cold resistance in five pistachio cultivars of Rafsanjan, MSc. thesis in biology, Shahid Bahonar University of Kerman.

Ibrahim, M.H., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A. and Abdul Rahman, Z. (2011). The relationship between phenolics and flavonoids production with total non structural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia punila* benth. Under high CO_2 and nitrogen fertilization. Molecules. 16: 162-74.

Iranbakhsh, A., Oshaghi, M.A. and Majd, A. (2006). Distribution of Atropane and Scopolamine in Different organs and stages of Development in *Datura stramonium* L. (Solanaceae) structure and Ultra structure of biosynthesizing cells. Acta Biologica Cracoviansia. 8(1): 13-18.

Jamshidi, M., Ahmadi ashtiani, H.R., Rezazadeh, S.H., Fathiazad, F., Mazandarani, M. and Khaki, A. (2010). Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some plant species native to the Mazandaran. Journal of Botany. 2(34): 1-3.

Kamali, M., Khosroyar, S. and Jalilvand, M. (2015). Evaluation of phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity of different extracts of the aerial parts of medicinal plant of *Dracocephalum kotschyi*. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. 6(3): 627-634. (In Persian)

Klan, Z.F. (1931). Influence of period of vegetation and development of plant on the alkaloidal content of *Hyoscyamus niger* L. American Pharmaceutical Association, XX. (11): 1163- 1174.

Khatir Nameni, M. and Mazandarani, M. (2011). Study of total flavonoids and phenolic compounds in different organs of medicinal plant of *Atropa belladonna* L. in the jungle of Takestan. National Conference on Medicinal Plants. 2: 2-7. (In Persian)

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Helebust, J.A., CraigieJ. S(Ed): Hand book of physiological methods. Cambridge University. Press, Cambridge. pp: 96-97.

Mabberley, D.J. (1990). The plant-book , Cambridge University press, cambridge.

Malick, C.P. and Singh, M.B. (1980). In plant Enzymology and Histo Enzymologhy, Kalyani Publishers, New Dehli.

Mazandarani, M., Jamshidi, M. and Fathi Azad, F. (2010). Check the active ingredients of medicinal plants (*Sambucus ebulus* L.) second in two regions of Mazandaran province. Journal of Plant Science. 21 (6): 31-39.

Munne-Bosch, S. Jubany-Mari, T. and Alegre, L. (2001). Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defenses in chloroplasts. Plant Cell and Environmental. 24: 1319-1327.

Munne-Bosch, S. and Alegre, L. (2004). Die and let live: leaf senescence contributes to plants survival under drought stress. Functional Plant Biology. 31(3): 203-216.

Munne-Bosch, S. and Penuelas, J. (2003). Photoand antioxidant protection during summer leaf senescence in *Pistscia*

www.SID.ir

Arshive of SID

lentiscus L. grown under Mediterranean field conditions. Annals of Mediterranean field conditions. Annals of Botany. 92: 385-391.

Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazmiye, H., Asnaashari, S. and Dadpour, M.R. (2012). Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* Lam. (Fabaceae). EXCLI Journal. 11: 436-43.

Ohe, M., Rapolu, M., Mieda, T., Miyagawa, Y., Yabuta, Y., Yoshimura, K. and Shigeoka, S. (2005). Decline in leaf photo-oxidative-stress tolerance with age in tobacco. Plant Science. 168: 1487-1493.

Rabiza-Swider, J., Lukaszewska, A., Shutnik, E. and Leszko, M. (2004). Ammonium and proline accumulation in senescing cut leaves of *Zantedeschia*. *Physiologia Planrum*. 26: 417-422.

Reddy, B.S., Yuvaraj, N., Babitha, V., Ramnath, V., Philomina, P.T. and Sabu, M.C. (2004). Antioxidant and hypolipidemic effects of Spirulina and natural carotenoids in broiler chicken. Indian Veterinary Journal. 81: 383-386.

Sabbagh, S., Niakan, M. and Gholamali Pour Alamdari, E. (2017). Evaluation of some primary and secondary metabolites of medicinal plant Proveskia abrotanoides Karel. in different phenological stages. Journal of Iranian Ecophysiological Resaerch, 12(45):14-26.

Saglam, H. and Arar, G. (2003). Cytotoxic activity and quality control determinations on *Chelidonium majus*. Fitoterapia Journal. 74: 127-129.

Sardashti, A.R., Valizadeh, J. and Adhami, Y. (2013). Variation in the essential oil composition of *Perovskia abrotanoides* of different growth stage in Baluchestan. Middle East Journal of Scientific Research. (6): 781-4.

Sarin, R. (2005). Useful metabolites from plant tissue cultures. Biotechnology Journal. 4: 79-93.

Sedaghat, Sh. and Shokrgozar, T. (2001). Chemical compounds of tea. Technical publications, Office of Research Services. 15(34).

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.

Sharma, U.R., Prakash, T., Surendra, V. and Roopakarki Divakar Goli, N. (2012). Hepatoprotective activity of *Fumaria officinalis* against ccl4-induced liver damage in rat. Pharmacologia. 3(1): 9-14.

Sofo, A., Dichio, B. Xiloyannis, C. and Masia, A. (2004). Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. Physiologia Plantarum. 121: 58-65.

Swetie, R., Raesh, Ch. and Arun, S. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation processed lamb meat. Food Chemistry. 100(2): 451-458.

Tin-Wa, M., Kim, H.K., Fong, H.H. and Farnsworth, N.R. (1972). The structure of chelidimerine, a new alkaloid from *Chelidonium majus*. Lloydia. 35: 87-89.

Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology. 64: 88-93

Vieira, A.A. (2010). A comparison of traditional anti-inflammation and anti-infection medicinal plants with current evidence from biomedical research: Results from a regional study. Pharmacognosy Research. 2(5): 293-295.

Zargari, A. (1989). Medicinal plant. Tehran University publisher. 3: 212-218. (In Persian)

Zeinali, Z., Hemmati, Kh. and Mazandarani, M. (2014). Autecology, ethno pharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss. in different regions of Razavi Khorasan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 1: 11-22. (In Persian)

www.SID.ir