تغییر در رنگیزه های فتوسنتزی و فعالیت آنتی اکسیدانی دو گونه کاسنی تحت تاثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم

سعیده محتشمی[۱]، محمود اسماعیل پور حیدرآبادی*[۲]، عسکر غنی[۱]، حسین غلامی[۳]، مرجان مصلی نژاد[۱]، فاطمه مهربان[۱]

۱- گروه گیاهان دارویی و معطر دانشگاه جهرم ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشگاه شهید چمران، اهواز ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشگاه شیراز

*نویسنده مسئول: Mahmoud.esmailpour@gmail.com

مقدمه

در این تحقیق اثر مقادیر مختلف سولفات آمونیوم بر رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کل)، میزان کاروتنوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی دو گونه کاسنی مورد مطالعه قرار گرفت. برای انجام این تحقیق، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک-های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار و ۳ تکرار در شرایط آب و هوایی جهرم اجرا شد. فاکتور اول غلظت سولفات آمونیوم شامل ۵ سطح : ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و شاهد (خاک معمولی بدون کود دهی) و فاکتور دوم، دو گونه کاسنی شامل کاسنی پابلند *Cichorium intybus* و کاسنی پاکوتاه *Cichorium pumilum* بود. در پایان آزمایش قبل از مرحله گلدهی گیاه برداشت شده و صفات مذکور اندازه گیری شد. نتایج نشان دهنده تاثیر معنی داری تیمارها بر بعضی فاکتورهای اندازه گیری شده بود. اثر ساده گونه در هیچ کدام از صفات تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت در حالی که اثر ساده تیمار (سطوح سولفات آمونیوم) و اثرات متقابل تیمار و گونه در رابطه با محتوی کلروفیل a، b و کل معنی دار بود. در رابطه با کاروتنوئید نیز تنها اثر ساده تیمار معنی دار بود. فعالیت آنتی اکسیدانی در دو گونه کاسنی تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. در بیشتر موارد بجز میزان کاروتنوئید، بالاترین میزان مربوط به تیمار سولفات آمونیوم ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد.

کلمات کلیدی: کلروفیل، کاروتنوئید، کاسنی پابلند، کاسنی پاکوتاه

مقدمه

گیاه کاسنی عضوی از خانواده آستراسه است که به عنوان یک گیاه دارویی مهم در درمان بیماری‌های سیستم کبدی و صفراوی و سیستم کلیوی مورد استفاده قرار می‌گیرد (زمان و نورال باصر، ۲۰۱۳). برخی از ترکیبات اصلی فعال که در کاسنی گزارش شده‌اند عبارتند از مشتقات کافئیک اسید، فروکتوالیگوساکاریدها، فلاونوئیدها، اینولین و پلی‌فنل‌ها (کوکسس، ۲۰۰۳). در پژوهش‌های محدودی به نقش تغذیه بر شاخص‌های عملکردی و بیوشیمیایی در گیاه کاسنی پرداخته شده است، به خصوص به اثر دو عنصر نیتروژن و گوگرد. نیتروژن در بیوسنتز تعداد زیادی از ترکیبات به کار می‌رود، از جمله تمام اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، و سایر ترکیبات حاوی نیتروژن از جمله کلروفیل (لام و همکاران، ۱۹۹۵). بنابراین در متابولیسم گیاه و در تعیین رشد، نقشی اساسی بازی می‌کند. همچنین افزایش عرضه نیتروژن موجب افزایش رشد و در نتیجه، افزایش تقاضا برای سایر مواد مغذی می‌شود (فاجریا، ۲۰۰۱). سیستئین، متیونین و مشتقات آن، نه تنها به عنوان بلوک‌های سازنده در پروتئین‌ها و فعالیت آنها نقش داشته، بلکه به عنوان پیش ماده‌های سنتز گلوتاتیون (GSH)، به عنوان کوفاکتور (مانند گروه های آهن-گوگرد، هم، سیروهم، مراکز مولیبدنم، لیپوات)، ویتامین‌های ضروری (مانند بیوتین، تیامین)، استرهای گوگردی (کوآنزیم A) و مشتقات گوگردی نیز ایفای نقش می‌کنند. بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند گلوکوزینولات‌ها، در سطوح مختلف با سیستئین، متیونین و سولفات فعال شده انجام می‌شود (درو، ۲۰۰۴). کاستیک و همکاران (۲۰۰۳) طی یک مطالعه دو ساله بر روی کاسنی سر قرمز (*Cichorium*

intybus var. *foliosum* L.) در شمال غربی کرواسی، نشان دادند که در بین سطوح تیمارهای کود حیوانی و کود NPK–۵:۲۰:۳۰ تیمار ۱۰۰و۱۵۰ گرم بر متر مربع NPK–۵:۲۰:۳۰ بیشترین عملکرد را دارد. علی و همکاران (۲۰۱۲) اثر تغذیه با کود حیوانی، نیتروژن، فسفر، پتاسیم و گوگرد را بر روی عملکرد برگ و ماده موثره گیاه کاسنی (*C. intybus* L.) در مراحل مختلف رشدی در دهلی نو در هند بررسی کردند. طی این تحقیق مشخص شد که تیمار دارای فسفر و پتاسیم، به ترتیب ۱۲۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در زمان کاشت، نیتروژن در نرخ‌های ۸۰، ۱۰۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار و گوگرد در نرخ‌های ۲۰، ۴۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب در زمان‌های کاشت، قبل از گل‌دهی و گل‌دهی بهترین عملکرد را در وزن خشک برگ و ماده اسکولین داشته و همچنین گزارش کردند که استفاده از کود گوگرد و نیتروژن قبل از گلدهی در بهبود عملکرد سودمند است. نتایج تحقیق کایزل و تانسه (۲۰۱۳) در ترکیه بر روی گیاه سر خارگل نشان داد که ۱۰ kg/da (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) کود سولفات آمونیوم در افزایش ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد گل، وزن تازه و خشک گل به طور معنی داری موثر بوده است. اما در وزن تازه و خشک ریشه و بوته اختلاف معنی داری با تیمار شاهد مشاهده نشده است. آشناور و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که غلظت کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر) در تیمار کود شیمیایی نسبت به شاهد به طور معنی دار بیشتر بوده است و در غلظت کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن خشک) بین تیمار کود شیمیایی و شاهد اختلاف معنی دار مشاهده نشده است. به دلیل اهمیت نقش نیتروژن و گوگرد در رشد، و نیز محدود بودن پژوهش‌های انجام شده در موضوع تغذیه عناصر معدنی بر روی گیاه کاسنی، این تحقیق با هدف بررسی اثر کود سولفات آمونیوم بر رنگیزه های فتوسنتزی و فعالیت آنتی اکسیدانی دو گونه کاسنی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در شهرستان جهرم در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در قالب فاکتوریل با ده تیمار و سه تکرار انجام شد. فاکتورها عبارتند از: فاکتور اول، سطوح کود شیمیایی سولفات آمونیوم با پنج سطح (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و تیمار شاهد (خاک معمولی بدون کود دهی) و فاکتور دوم، دو گونه کاسنی شامل کاسنی پابلند *Cichorium intybus* و کاسنی پاکوتاه *Cichorium pumilum* بود. بذرها از استان فارس تهیه شده و در اواخر اسفند ماه کشت شدند. در مرحله قبل از گلدهی که مصادف با زمان برداشت کاسنی می باشد، تیمارها برداشت گردید و در سایه در دمای آزمایشگاه (۲±۲۷) خشک گردید و صفات زیر به روشهای ذکر شده اندازه گیری شد.

اندازه گیری محتوی کلروفیل (b,a و کل) و کاروتنوئید

برای اندازه گیری میزان کلروفیل ۱۰۰ میلی‌گرم برگ خشک، بصورت کامل پودر گردید و استخراج با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد انجام شد. میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. در نهایت نیز بر اساس روابط زیر مقدار کلروفیل a و b و کاروتنوئید محاسبه گردید.

$$Ch\ a = 15.65_{A666} - 7.34_{A\ 653}$$

$$Ch\ b = 27.05_{A\ 653} - 11.21_{A\ 666}$$

$$Ch\ total = Ch\ a + Ch\ b$$

Ch a: محتوی کلروفیل a

Ch b: محتوی کلروفیل b

$$Carotenoide = 1000_{A470} - 2.86_{Ch\ a} - 129.2_{Ch\ b} / 245$$

Carotenoide: میزان کاروتنوئید

عصاره‌گیری از نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی توسط حلال متانولی به نسبت ۵ به ۱ (حجمی- وزنی) با استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد به روش وجدی لو و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد.

تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون DPPH

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون DPPH (2,2- diphenylpicrylhydrazyl, Sigma, Aldrich) با استفاده از روش اک و همکاران (۲۰۰۹) با اندکی تغییر انجام شد. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (AOA) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%AOA) = (عدد جذب نمونه- عدد جذب شاهد) / عدد جذب شاهد × ۱۰۰

آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار Minitab و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

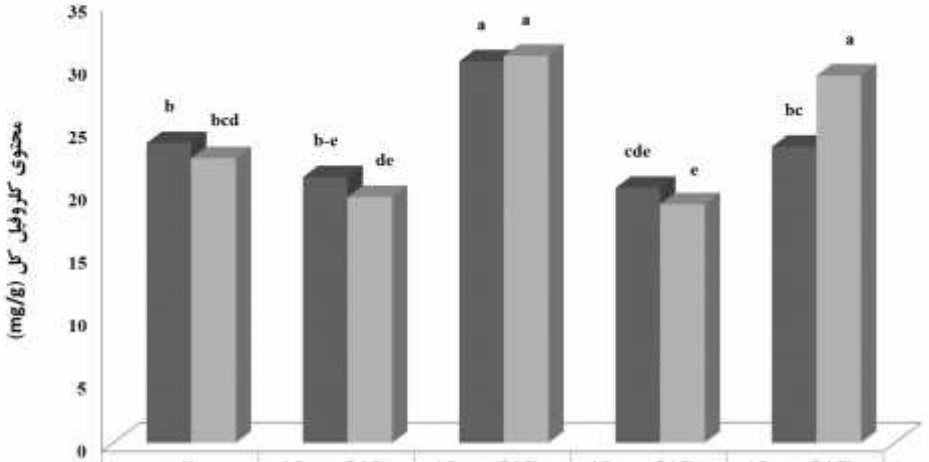
نتایج و بحث

نتایج نشان دهنده تاثیر معنی دار تیمارها بر برخی صفات اندازه گیری شده بود. اثر ساده گونه در هیچ کدام از صفات تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. در حالی که اثر ساده تیمار (سطوح سولفات آمونیوم) و اثرات متقابل تیمار و گونه در رابطه با محتوی کلروفیل a، b و کل معنی دار بود. در رابطه با کاروتنوئید نیز تنها اثر ساده تیمار معنی دار بود. فعالیت آنتی اکسیدانی در دو گونه کاسنی تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت و از نظر آماری معنی دار نگردید. در رابطه با محتوی کلروفیل a، همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود، در گونه پاکوتاه کاسنی بالاترین میزان (۱۶/۲۸ میلی گرم در گرم نمونه خشک) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم کود سولفات آمونیوم و کمترین میزان (۱۱/۵۲ میلی گرم در گرم نمونه خشک) مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود بود. در گونه پابلند نیز بالاترین میزان (۱۶/۵۶ میلی گرم در گرم نمونه خشک) در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم و کمترین میزان (۱۱/۴۰ میلی گرم در گرم نمونه خشک) در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود اندازه گیری شد.

جدول ۱- اثرات ساده و متقابل سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر محتوی کلروفیل a و b

	کلروفیل a (mg/g dry weight)			کلروفیل b (mg/g dry weight)		
	کاسنی پاکوتاه	کاسنی بلند	میانگین	کاسنی پاکوتاه	کاسنی بلند	میانگین
شاهد	۱۳/۵۴b	۱۳/۲۰b	۱۳/۳۷C	۱۰/۳۲b	۹/۴۴bc	۹/۸۸C
۵۰ کیلوگرم کود	۱۲/۳۸bc	۱۱/۷۸c	۱۲/۰۸D	۸/۷۶bc	۷/۷۷c	۸/۲۷D
۱۰۰ کیلوگرم کود	۱۶/۲۸a	۱۶/۵۶a	۱۶/۴۲A	۱۴/۰۸a	۱۴/۲۳a	۱۴/۱۶A
۱۵۰ کیلوگرم کود	۱۱/۵۲c	۱۱/۴۰c	۱۱/۴۶D	۸/۷۶bc	۷/۵۹c	۸/۱۷D
۲۰۰ کیلوگرم کود	۱۳/۴۳b	۱۶/۳۷a	۱۴/۹۰B	۱۰/۱۳b	۱۲/۸۶a	۱۱/۴۹B
میانگین	۱۳/۴۴	۱۳/۸۶		۱۰/۴۱	۱۰/۳۸	

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار نمی باشند



	شاهد	۵۰ کیلوگرم در هکتار	۱۰۰ کیلوگرم در هکتار	۱۵۰ کیلوگرم در هکتار	۲۰۰ کیلوگرم در هکتار
کاسنی پاکوتاه	23.85	21.14	30.36	20.28	23.56
کاسنی پابلند	22.65	19.56	30.80	18.99	20.23

مقادیر مختلف سولفات آمونیوم

شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر محتوی کلروفیل کل در دو گونه کاسنی

در رابطه با محتوی کلروفیل b، نیز در هر دو گونه بالاترین میزان در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود سولفات آمونیوم دیده شد و کمترین میزان در هر دو گونه در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود مشاهده گردید (جدول ۱). همانطور که در شکل شماره ۱ دیده می شود، بالاترین میزان کلروفیل کل در هر دو گونه مربوط به سطح ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم و کمترین میزان مربوط به کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم کود سولفات آمونیوم بود. همانطور که قبلا ذکر گردید، میزان کاروتنوئید فقط تحت تاثیر تیمارهای کودی قرار گرفت که در این رابطه کمترین میزان مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم کود بود و سایر تیمارها در یک گروه قرار داشتند. فعالیت آنتی اکسیدانی در این آزمایش تحت تاثیر اثرات ساده و متقابل تیمارها قرار نگرفت. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان می دهد که در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بیشترین میزان محتوی کلروفیل حاصل شد در حالی که در این تیمار شاهد کاهش میزان کاروتنوئید بودیم. هژبریان و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی بر روی گیاهان گوجه فرنگی تیمار شده با سطوح سولفات آمونیوم دریافتند با افزایش مصرف سولفات آمونیوم، میزان کلروفیل نیز افزایش می یابد. همچنین گزارش شده مقدار کلروفیل a و b درگیاهان کاهو و اسفناج تغذیه شده با آمونیوم بسیار بیشتر از گیاهان تغذیه شده با نیترات می باشد (روستا، ۱۳۸۹). استفاده از گوگرد در گیاه دارویی سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) باعث افزایش کلرفیل a شد، اما اثر معنی داری بر میزان کلروفیل b نداشت (حیدری و رضاپور،۱۳۹۰). تعداد زیادی از ترکیبات رنگدانه ای در گیاه دارای ساختار نیتروژنی می باشند و از آنجایی که گوگرد و منابع گوگردی می تواند کارایی مصرف ازت را در گیاهان افزایش دهد، از این رو می توان گفت استفاده از گوگرد می تواند میزان سنتز کلروفیل را در گیاهان بهبود بخشد.

گزیده منابع

۱. آشناور، م.، بهمنیار، م. ع.، و اکبرپور، و. ۱۳۹۳. بررسی تأثیر منابع مختلف کودی بر شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.). نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۶ (۲): ۲۷۴- ۲۶۶.

۲. حیدری، م. و رضاپور، ع. ۱۳۹۰. اثر تنش خشکی و کود گوگرد بر عملکرد دانه، کلروفیل و غلظت عناصر معدنی در گیاه دارویی سیاه دانه (*Nigella sativa* L.). مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی، ۱(۱) ۹۰-۸۱.

۳. روستا، ح.ر. ۱۳۸۹. مقایسه کاهو و اسفناج تغذیه شده با نیترات یا آمونیوم در سیستم هیدروپونیک. علوم و فنون کشت های گلخانه ای، ۱(۱): ۶۳-۵۷.

4. Hzhbryan, M. and Kazemi, S. 2014. Effects of ammonium sulphate on the growth and yield of different tomato ((*Lecopersicon esculentum)* plant in the city jahrom. Journal of Novel Applied Sciences. 3 (1): 62-66.
5. Kocsis, I., Hagymási, K., Kéry, Á., Szôke, É., and Blázovics, A. 2003. Effects of chicory on pancreas status of rats in experimental dyslipidemia. Acta Biologica Szegediensis, 47(1-4): 143-146.
6. Lam, H. M., Coschigano, K., Schultz, C., Melo-Oliveira, R., Tjaden, G., Oliveira, Z., Ngai, N., Hsieh, M. H., and Coruni, G. 1995. Use of Arabidopsis Mutants and Genes To Study Amide Amino Acid Biosynthesis. The Plant Cell, 7: 887-898.
7. Leustek, T. and Saito, K. 1999. Sulfate Transport and Assimilation in Plants. Plant Physiology, 120 : 637–643.
8. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry 112: 874-879.*
9. Wojdylo, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. *Food Chemistry, 1005: 940-949.*
10. Zaman, R. and Noorul Basar, S. 2013. A Review Article of Beekhe Kasni (*Cichorium intybus*) its Traditional uses and Pharmacological Actions. Research Journal of Pharmaceutical Sciences. 2(8): 1-4.

Change on photosynthetic pigments and Antioxidant Activity of Two Cichorium species Affected by Ammonium Sulphate

S. Mohtashami[1], M. Esmaeilpour Heidarabadi *[2], A. Ghani[2], H. Gholami[3], M. Mosallanejhad[1], F. Mehraban[1]

1-Department of Medicinal and Aromatic Plants, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom. 2-Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz. 3-Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz.

*Corresponding: Mahmoud.esmailpour@gmail.com

Abstract

In this research, the effect of different amount of Ammoniom sulphate on photosynthetic pigment and antioxidant activity of two Chicory species were studied. The experience was conducted on factorial (include two factors) based on randomized complete block design (RCBD) with 10 treatments and 3 replications in Jahrom climate conditions. The first factor, Ammoniom sulphate concentration includes 5 levels: 50, 100, 150, and 200 kg/h and control (common soil without fertilizer) and the second factor, two *Cichorium* species including *Cichorium intybus* and *Cichorium pumilum*. At the end of experiment, before flowering stage (at September) the plant were harvested and mentionedfactors were determined. The results showed significant effect on some measured factors. Species didn't affected by treatment while different concentration of Ammoniom sulphate had significant effect on chlorophyll content (a,b and total). In relation to carotenoide content, treatment had significant effect. Antioxidant activity on this species didn't affect by treatment. In most cases, expect, the maximum content related to 100 kg/h Ammoniom sulphate treatment.

Key word: Chicory species, Chlorophyll, Carotenoid, Ammoniom sulphate.