ارزیابی فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در اندام هوایی کاسنی پابلند (*Cichorium intybus* L.) تحت تأثیر کاربرد اسیدهیومیک و ورمی‌کمپوست

حسین غلامی*[۱]، فاطمه رؤف‌فرد[۱]، محمدجمال سحرخیز[۱]، محسن شیردل[۱]، عسکر غنی[۲]
[۱]* گروه آموزشی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز
[۲] گروه آموزشی گیاهان دارویی و معطر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم
*نویسنده مسئول: gholamimedicine@gmail.com

چکیده

کاسنی پابلند با نام علمی *Cichorium intybus* L. گیاهی از خانواده آفتاب‌گردان بوده که دارای خواص متعدد درمانی، غذایی و بهداشتی می‌باشد. پژوهش‌های متعددی در رابطه با ویژگی‌های سودمند این گیاه در منابع گزارش شده است. به‌منظور بررسی اثر هیومیک‌اسید و ورمی‌کمپوست بر درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در اندام هوایی کاسنی پابلند آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ۴ سطح هیومیک‌اسید (شاهد، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ کیلوگرم در هکتار) و ۴ سطح ورمی‌کمپوست (شاهد، ۵، ۷/۵ و ۱۰ تن در هکتار) در سه تکرار در نظر گرفته شد. بررسی اثر متقابل دو عامل هیومیک‌اسید و ورمی‌کمپوست در این آزمایش بر درصد مهارکنندگی رادیکال های آزاد و همچنین میزان IC_{50} در اندام هوایی گیاه نشان داد کاربرد تلفیقی ورمی‌کمپوست و هیومیک اسید در افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه بسیار مؤثر است. نتایج نشان داد بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها در تیمارهای ۰/۶ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید به همراه ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست، ۰/۹ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید به همراه ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست و ۷/۵ تن در هکتار ورمی‌کمپوست به همراه ۰/۹ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید به ترتیب با میانگین‌های ۰/۱۰۰۳، ۰/۱۰۴ و ۰/۱۰۱۳ میلی‌گرم ماده خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد مشاهده شد. پایین‌ترین میزان IC_{50} در اندام هوایی با میزان IC_{50} آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید که نشان‌دهنده بالاتر بودن میزان IC_{50} نمونه‌ها در مقایسه با استاندارد می‌باشد. تفاوت مشاهده‌شده بین میزان IC_{50} نمونه‌ها و استاندارد را می‌توان به تفاوت در نوع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت داد.

***کلمات کلیدی:* فعالیت آنتی‌اکسیدانی، IC_{50}، کشاورزی ارگانیک، متابولیت ثانویه، کود آلی**

مقدمه

کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. گیاهی از خانواده آفتاب‌گردان (Ghahraman, 1994) می‌باشد. کاسنی از سبزی‌های فصل خنک بوده و در نواحی مرطوب با ارتفاع کم رشد می‌کند (Finke *et al*, 2002). تاکنون بیش از ۱۰۰ ترکیب دارویی از گیاه کاسنی شناسایی و استخراج‌شده است که در این میان پلی‌ساکاریدی به نام اینولین، شیکوریک‌اسید، سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها و ویتامین‌ها مهم‌ترین این ترکیبات به شمار می‌روند (Velayutham *et al*, 2006). اسیدهیومیک به‌عنوان یک ترکیب طبیعی آلی شناخته شده است که درنتیجه پوسیدگی مواد آلی خاک، پیت، لیگنین و غیره به وجود می‌آید که می‌تواند در کشاورزی پایدار مورداستفاده قرار گیرد (Nardi *et al*, 2002). ورمی‌کمپوست نیز نوعی کمپوست تولیدشده به کمک کرم‌های حلقوی قرمز (Garg *et al*, 2006) می‌باشد که دارای تخلخل بالا و ظرفیت زیاد نگهداری آب، قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر غذایی، تهویه و زهکشی مناسب، افزایش قابلیت دسترسی گیاه به نیتروژن و فسفر از طریق افزایش تثبیت نیتروژن و محلول‌کردن فسفر، بدون

بوی نامطبوع و عوامل بیماری‌زا می‌باشد و استفاده از آن در کشاورزی پایدار علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت ریز جانداران مفید خاک، در جهت فراهمی عناصر غذایی مفید بوده و سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان دارویی و زراعی می‌شود (Prabha *et al*, 2007).

مواد و روش‌ها

آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در بهار و تابستان ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه با مشخصات جغرافیایی ′۲۹ °۳۸ عرض جغرافیایی شمالی و ′۵۲ °۳۵ طول جغرافیایی شرقی با ارتفاع ۱۸۱۰ متر از سطح دریا، اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ۴ سطح هیومیک‌اسید (شاهد، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ کیلوگرم در هکتار) و ۴ سطح ورمی کمپوست (شاهد، ۵، ۷/۵ و ۱۰ تن در هکتار) در سه تکرار انجام شد. به‌منظور عصاره‌گیری از نمونه‌ها از متانول ۷۰ درصد به نسبت ۵ (گرم نمونه خشک) به ۱(میلی‌لیتر حلال) استفاده شد (Wojdyło *et al*., 2007). تعیین درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از آزمون DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl, Sigma, Aldrich) و روش Oke و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (I/) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

۱۰۰ های آزاد× عدد جذب شاهد/ (عدد جذب نمونه – عدد جذب شاهد) = درصد مهارکنندگی رادیکال

غلظت عصاره‌ای که بتواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی کند (The half maximal Inhibitory Concentration (IC_{50})که برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از این پارامتر استفاده می‌شود) با استفاده از رسم نمودار و محاسبه توالی‌یابی خطی و برحسب میلی‌گرم نمونه خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد محاسبه و گزارش شد. در پایان مقدار IC_{50} به‌دست‌آمده از عصاره‌ها با میزان IC_{50} آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (Butylated hydroxytoluene) به‌عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید (Hashemi *et al*, 2011). مقایسات میانگین با استفاده از آزمون LSD و همچنین تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار SAS نسخه 9.4 صورت پذیرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد.

نتایج و بحث

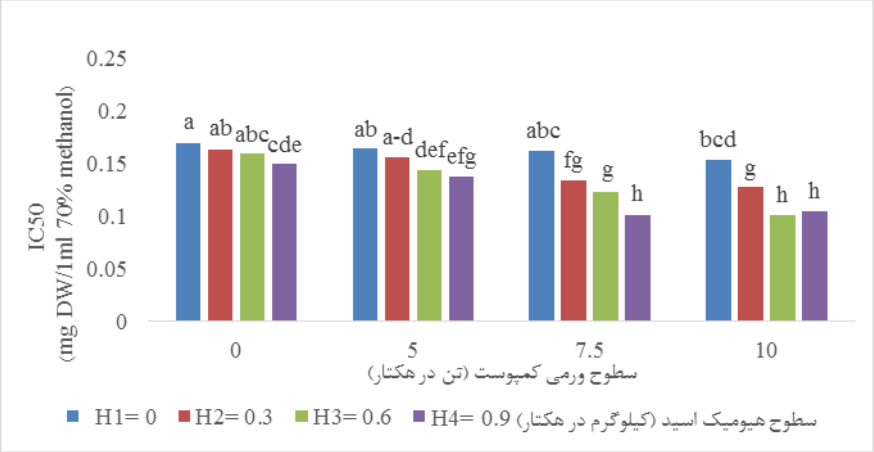
بررسی اثر متقابل دو عامل هیومیک‌اسید و ورمی‌کمپوست بر درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در اندام هوایی گیاه نشان می‌دهد بالاترین میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (با میانگین‌های ۸۷/۳۷، ۸۷/۲۱، ۸۱/۹۳ و ۷۹/۹ درصد) به ترتیب در تیمارهای مربوط به ۰/۹ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید به همراه ۷/۵ تن در هکتار ورمی کمپوست، ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست به همراه ۰/۶ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید، ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست به همراه ۰/۹ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید و ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست به همراه ۰/۳ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید مشاهده گردید که ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری باهم نشان ندادند (شکل ۱).

شکل ۱- اثر متقابل هیومیک‌اسید و ورمی‌کمپوست بر درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در اندام هوایی

برهم‌کنش عامل‌ها و مقایسه میانگین اثر آن‌ها بر میزان IC_{50} نشان می‌دهد بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در ۰/۶ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید به همراه ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست (با میانگین ۰/۱۰۰۳ میلی گرم ماده خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد)، ۰/۹ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید به همراه ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست (با میانگین ۰/۱۰۴ میلی‌گرم ماده خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد) و ۷/۵ تن در هکتار ورمی کمپوست به همراه ۰/۹ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید (با میانگین ۰/۱۰۱۳ میلی‌گرم ماده خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری باهم نشان ندادند (شکل ۲). بررسی اثر متقابل دو عامل هیومیک‌اسید و ورمی‌کمپوست در این آزمایش بر درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و همچنین میزان IC_{50} در اندام هوایی گیاه نشان می‌دهد کاربرد تلفیقی ورمی‌کمپوست و هیومیک‌اسید در افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه بسیار مؤثر است. همچنین پایین‌ترین میزان IC_{50} در اندام هوایی گیاه با میزان IC_{50} آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید که نشان‌دهنده بالاتر بودن میزان IC_{50} نمونه‌ها در مقایسه با استاندارد می‌باشد (جدول ۱). تفاوت مشاهده‌شده بین میزان IC_{50} نمونه‌ها و استاندارد را می‌توان به تفاوت در نوع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت داد.

جدول ۱- مقایسه پایین‌ترین میزان IC_{50} نمونه‌ها با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

	IC_{50} (mg DW/1ml 70% methanol)
پایین‌ترین میزان IC_{50} اندازه‌گیری شده در گیاه	۰/۱۰۴۰
میزان IC_{50} اندازه‌گیری شده آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (استاندارد)	۰/۰۴۰۷



شکل ۲- اثر متقابل هیومیک‌اسید و ورمی‌کمپوست بر میزان IC_{50}

هیومیک‌اسید حاوی ترکیبات ارزشمند آلی و معدنی گوناگون نظیر پپتیدها، اسیدها و استرهای فنولی، اسیدهای چرب و روغن‌ها، اسیدهای نوکلئیک، مونوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها، آلکان‌ها، آلدئیدها، تانن‌ها، اسیدهای آمینه و گروه‌های آروماتیک و آلیفاتیک می‌باشد که به‌واسطه جذب آن‌ها توسط گیاه، رشد و نمو و عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی را می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد (Harper *et al*, 2000). نقش مثبت هیومیک‌اسید در بهبود میزان فنول کل و درنتیجه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه همیشه‌بهار مورد تأیید قرار گرفته است (Allahvirdizadeh and Nazari Deljou, 2014). درصد بالای مواد هیومیکی در ورمی‌کمپوست‌ها در سلامتی گیاه نقش دارد. این ماده باعث افزایش بیوسنتز ترکیبات فنولی ازجمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها شده و درنتیجه موجب بهبود کیفیت محصولات و افزایش مقاومت گیاهان به شرایط تنش‌زا می‌شود (Theunissen *et al*., 2010). مطالعات متعددی به تأثیر مثبت ورمی‌کمپوست در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان از جمله ریحان (Mcginnis *et al*., 2003 و Anwar *et al*., 2005)، شمعدانی معطر (Chand *et al*., 2007) و بادرشبی (Hussein *et al*., 2006) اشاره کرد. علاوه بر این میزان ترکیبات فنولی در برگ‌ها به علت انجام فتوسنتز و تولید پیش‌ماده‌های مسیر فنیل‌پروپانوئید، نسبت به سایر اندام‌ها بیشتر است. این مسئله بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاهان را در مقایسه با سایر اندام‌ها توجیه می‌کند (Davis *et al*., 2004).

منابع

Allahvirdizadeh, N, & Nazari Deljou M J. 2014. Effect of humic acid on morph-physiological traits, nutrients uptake and postharvest vase life of pot marigold cut flower (*Calendula officinalis* cv. Crysantha) in hydroponic system. *Ejgcst, 5* (2):133-143.

Chand, S., Pande, P., Prasad, A., Anwar, M., & Dhar Patra, D. 2007. Influence of Integrated Supply of Vermicompost and Zinc-Eniched Compost with Two Graded Levels of Iron and Zinc on the Productivity of Geranium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *38*(19-20), 2581-2599.

Davis, M. H., Meunier, F., & Marslen-Wilson, W. D. 2004. Neural responses to morphological, syntactic, and semantic properties of single words: an fMRI study. *Brain and language*, *89*(3), 439-449.

Ghahraman, A. 1994. Cormophytes of Iran (Plant Systematics), *Tehran University Publishing Center, 3* (2), 496-517.

Harper, S. M., Kerven, G. L., Edwards, D. G., & Ostatek-Boczynski, Z. 2000. Characterisation of fulvic and humic acids from leaves of *Eucalyptus camaldulensis* and from decomposed hay. *Soil Biology and Biochemistry*, *32*(10), 1331-1336.

Hashemi, M. B., Niakousari, M., & Saharkhiz, M. J. 2011. Antioxidant activity of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in rapeseed oil irradiated with UV rays. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *113*(9), 1132-1137.

Mcginnis, M., Cooke, A., Bilderback, T., & Lorscheider, M. 2003. Organic fertilizers for basil transplant production. *Acta Horticulturea*, *491*, 213-218.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, *34*(11), 1527-1536.

Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, *112*(4), 874-879.

Prabha, M. L., Jayraaj, I. A., Jayaraj, R., & Rao, D. S. 2007. Effect of vermicompost and compost on growth parameters of selected vegetable and medicinal plants. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, *9*(2), 321.-326.

Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology*, *7*(1), 65-74.

Velayutham, P., Ranjithakumari, B. D., & Baskaran, P. 2006. An efficient *in vitro* plant regeneration system for *Cichorium intybus* L.–an important medicinal plant. *Journal of Agricultural Technology*, 2(2): 287-298.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, *105*(3), 940-949.

Evaluation of Free Radical Scavenging Activity in Chicory (*Cichorium Intybus* L.) Aerial Parts under the Effect of Humic Acid and Vermicompost

Hossein gholami[1*], Fatemeh raouf fard[1], Mohammadjamal saharkhiz[1], Mohsen shirdel[1], Askar ghani[2]

[1*] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran
[2] Department of Medicinal and Aromatic Plants, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Iran
[*]*Corresponding Author: gholamimedicine@gmail.com*

Abstract

Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a member of Asteraceae family is one of the most important plants in the medicinal, nutritional and cosmetic industry. Different reports about chicory beneficial properties are available in the literatures. This study was conducted to evaluate the effect of humic acid (HA) and vermicompost on the inhibition percent of free radicals and the content of IC_{50} in chicory aerial parts. The experiment was factorial based Randomized Complete Block Design (RCBD). Plants were grown under 4 humic acid treatment (0, 0.3, 0.6 and 0.9 kg/ hectare) and 4 vermicompost levels (0, 5, 7.5 and 10 ton/ hectare) with three replications. Interaction of two factors vermicompost and humic acid in this experiment indicated that the inhibition percent of free radicals and also the content of IC_{50} in shoot resulted in the experiment that the combined application of vermicompost and humic acid is highly effective on increasing the antioxidant power of plant. The results showed that the highest antioxidant activity in treatments of 0.6 kg/ha humic acid interacted with 10 ton/ha vermicompost, 0.9 kg/ha humic acid interacted with 10 ton/ha vermicompost and 0.9 kg/ha humic acid interacted with 7.5 ton/ha vermicompost) with averages of 0.1003, 0.104 and 0.1013 mg DW/1ml 70% methanol, respectively was achieved. The lowest IC_{50} of the samples was compared with synthetic antioxidant IC_{50} BHT which indicated higher IC_{50} in samples. The difference between the IC_{50} of the samples and standard can be attributed to the differences in the type of phenolic compounds and flavonoids.

***Keywords*: Antioxidant activity, IC_{50}, Organic farming, Secondary Metabolite, Organic Fertilizer.**