

بررسی تغییرات میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی در خشخاش کبیر (*Papaver bracteatum* Lindl.) تحت تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات

یوسف حکیمی^۱، محمدرضا فتاحی مقدم^{۲*}، محمدرضا نقوی^۳، ذبیح‌اله زمانی^۴

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد (گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^{۲،۴} استاد (گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^۳ استاد (گروه زراعت، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

*نویسنده مسئول: fattahi@ut.ac.ir

چکیده

گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنلی هستند که مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از شیوع بیماری‌های مزمن و تخریب بسیاری از مواد غذایی جلوگیری می‌کنند. این تحقیق با هدف ارزیابی و مقایسه خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی خشخاش کبیر تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی بر روی سه جمعیت مختلف خشخاش کبیر صورت گرفت. شاخص‌های فیتوشیمیایی محتوای فنل کل (روش فولین سیکالتو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH) ارزیابی شدند. تیمارهای الیستوری به صورت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر گذاشت. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۲۴/۲۴، ۲۱/۱۹ و ۳/۴۵ درصد مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید کل بود. به طور کلی مشخص شد که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقدار فنل کل و فلاونوئید کل می‌شود. همچنین با توجه به مقایسات میانگین می‌توان نتیجه گرفت بین تمامی تیمارهای الیستوری اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: الیستورها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، گیاهان دارویی، محتوای فلاونوئید کل، محتوای فنل کل

مقدمه

از زمان‌های بسیار قدیم، داروهای گیاهی برای تسکین علائم بیماری مورد استفاده قرار می‌گرفتند. با وجود پیشرفت‌های چشمگیری که در دهه‌های اخیر در پزشکی مدرن مشاهده شده است، گیاهان هنوز سهم مهمی در مراقبت‌های بهداشتی دارند. با این حال، علاقه زیاد به گیاهان دارویی از استفاده طولانی‌مدت از آن‌ها در داروهای محلی و همچنین خواص پیشگیری آن‌ها، به ویژه در کشورهای در حال توسعه ناشی می‌شود. تعداد زیادی از گیاهان دارویی از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یا به صورت عصاره‌های خام یا ترکیبات شیمیایی حاصل از آن‌ها برای جلوگیری از فرآیندهای مخرب ناشی از استرس‌های اکسیداتیو بسیار اثربخش هستند (Zengin et al., 2011). اگرچه مشخصات سمیت بیشتر گیاهان دارویی به طور کامل ارزیابی نشده است، اما به طور کلی پذیرفته شده است که داروهای حاصل از محصولات گیاهی، ایمن‌تر از نمونه‌های مصنوعی خود هستند (and Estral, 2007).

نقش واکنش‌های رادیکال‌های آزاد در آسیب‌شناسی بیماری کاملاً اثبات شده است و شناخته شده است که در بسیاری از اختلالات حاد و مزمن در انسان مانند دیابت، تصلب شرایین، پیری، سرکوب سیستم ایمنی و تخریب سلول‌های عصبی نقش دارند (Harman, 1992). مطالعات انجام شده بر روی گیاهان دارویی، سبزی‌ها و میوه‌ها وجود آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها را نشان داده است. محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی ممکن است در محافظت از بیماری‌ها نقش داشته باشد (Gülcin, 2012).

استفاده از گیاهان دارویی با سطح بالایی از ترکیبات آنتی اکسیدانی به عنوان یک روش درمانی موثر برای آسیب‌های کبدی نیز پیشنهاد شده است (Govind, 2011).

خشخاش کبیر (*Papaver bracteatum* Lindl.) یک گیاه دارویی چند ساله وحشی متعلق به خانواده Papaveraceae، بخش *Oxytona* می‌باشد که به‌طور بومی در کوه‌های البرز در شمال ایران در ارتفاعات بالاتر از ۱۸۰۰ متر در دامنه‌های رو به دریاچه خزر رشد می‌کند (Sharghi and Lalezari, 1967).

جستجو برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشاء گیاهی از زمان شناخت اهمیت درمانی آن‌ها افزایش یافته است. مطالعه حاضر به منظور بررسی تغییرات میزان فنل کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در خشخاش کبیر تحت تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات طراحی شد.

مواد و روش‌ها

نشاهای سه جمعیت مختلف از خشخاش کبیر هم اندازه با تعداد ۵-۶ برگ (۴۵ روز بعد از جوانه زنی)، به گلدان‌های پلاستیکی ۴ لیتری حاوی مخلوطی مساوی از پیت‌ماس، کوکوپیت و پرلیت انتقال داده شدند. محلول غذایی به طور منظم و به مقدار مورد نیاز به تمامی گلدان‌ها تا زمان استقرار مناسب گیاهان داده شد. پس از آن تیمارهای محلول پاشی محرک‌ها بر مبنای تاریخ اجرایی تیمارها اعمال گشتند. در مجموع سه سطح از محلول سالیسیلیک اسید (شرکت مرک، آلمان) (شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و سه سطح از محلول متیل جاسمونات (شرکت سیگما آلدریج، آلمان) (شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در مجموع چهار بار به فواصل یک ماه اعمال شدند. اولین محلول پاشی ۶۰ روز پس از کشت نشاء آغاز گردید. گیاهان شاهد نیز با محلول پایه‌ای که برای به حجم رسانیدن الیستورها استفاده شد محلول پاشی گردید.

به منظور اندازه‌گیری محتوای فنل و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، عصاره‌گیری به روش (Stankovic, 2011) با اندکی تغییرات انجام شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (نسبت ۱ به ۱۰) در میکروتیوب دو میلی‌لیتری به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر عصاره‌گیری شد. سپس سانترفیوژ گردیده و با کاغذ صافی عصاره جدا شد و در تیوب جدید ریخته شد.

به منظور اندازه‌گیری فنل کل، پس از ریختن ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد حل در آب و ۵۰۰ میکرولیتر بی‌کربنات سدیم در یک میکروتیوب، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی با اضافه شود. پس از آن نمونه‌ها را در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه در داخل بن‌ماری انکوبه می‌کنیم و در نهایت جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه پلیت ریدر قرائت شد (Stankovic, 2011). به منظور اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل، یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی و یکی میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلرید دو درصد در متانول ۸۰ درصد با همدیگر مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط پلیت‌ریدر قرائت شد (Stankovic, 2011). همچنین با هدف بررسی فعالیت خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد، یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی و یک میلی‌لیتر محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به خوب در داخل میکروتیوب به هم زده شد. سپس ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط پلیت ریدر قرائت گردید (Stankovic, 2011).

نتایج و بحث

تیمارهای الیستوری به صورت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر می‌گذارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۲۴/۲۴، ۲۱/۱۹ و ۳/۴۵ درصد مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید کل می‌باشد که علت آن اثر سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر مسیرهای بیوسنتزی فنل‌ها و در نتیجه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باشد. همچنین با توجه به مقایسات میانگین می‌توان نتیجه گرفت بین تمامی تیمارهای الیستوری اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	فلاونوئید کل	فنل کل	df	
۷/۱۹	۰/۰۲	۳۰/۳۰	۲	بلوک
۶۵۳/۶۹**	۳۰/۱۳**	۱۴۹۸۴۷/۴۰**	۲	جمعیت
۰/۳۸	۱/۰۵ E-۷	۰/۰۲	۴	بلوک* جمعیت
۲۷۷/۱۷**	۳/۸۴**	۴۴۳۲/۰۰**	۲	سالیسیلیک اسید
۸۴۲/۰۷**	۹/۱۰**	۷۷۹۹/۹۳**	۲	متیل جاسمونات
۲۳۳/۹۹**	۹/۱۸**	۲۷۱۵/۳۴**	۴	جمعیت* سالیسیلیک اسید
۱۰۷/۶۷**	۷/۱۴**	۸۴۳۲/۲۱**	۴	جمعیت* متیل جاسمونات
۴۰۴/۲۱**	۳/۲۸**	۳۸۹۵/۰۹**	۴	سالیسیلیک اسید* متیل جاسمونات
۲۹۴/۸۴**	۹/۹۳**	۶۸۹۱/۹۵**	۸	جمعیت* سالیسیلیک اسید* متیل جاسمونات
۰/۴۴	۱/۲۴ E-۷	۰/۰۳	۴۸	خطا
۲۴/۲۴	۳/۴۵	۲۱/۱۹		ضریب تغییرات

** تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد، * تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد.

بیشترین مقدار فنل کل در جمعیت اول (۳۴۳/۷۲ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر میلی‌لیتر) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و صفر میکرومولار متیل جاسمونات، در جمعیت دوم (۴۷۲/۷۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر میلی‌لیتر) تحت تیمار صفر میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت سوم (۴۰۱/۸۰ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر میلی‌لیتر) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. بیشترین مقدار فلاونوئید کل در جمعیت اول (۵۳/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات، در جمعیت دوم (۵۳/۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تحت تیمار صفر میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت سوم (۵۱/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تحت تیمار صفر میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت اول (۵۸/۱۱ درصد) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات، در جمعیت دوم (۴۶/۵۱ درصد) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت سوم (۵۹/۶۷ درصد) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است.

مواد فنولی، گروهی از متابولیت‌های ثانویه بوده که با عمل کردن به عنوان دهنده الکترون و کلات‌کننده یون‌های فلزی مؤثرتر از سایر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنژیومی (اسید اسکوربیک و آلفا-توکوفرول) به مهار رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش زنده و غیرزنده می‌پردازند (Ahmad et al., 2010). سنتز ترکیبات فنولی تحت تأثیر برهمکنش ژنتیک گیاهی و عوامل محیطی قرار گرفته و شدت‌های خفیفی از عوامل تنش‌زا مانند دمای پایین، نور زیاد، شوری، خشکی، محرک‌ها قادرند تا میزان مقاومت گیاه را در شرایط نام برده شده بهبود ببخشند (Cansev et al., 2012).

به طور کلی مشخص شد که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقدار فنل کل و فلاونوئید کل می‌شود. همچنین میزان فنل کل در تیمار منتخب به ترتیب ۴۱/۸۴ درصد در جمعیت اول، ۲۱/۱۹ درصد در جمعیت دوم و ۸/۸۰ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند. میزان فلاونوئید کل در تیمار منتخب به ترتیب ۱۲/۶۵ درصد در جمعیت اول، ۴/۲۸ درصد در جمعیت دوم و ۱/۰۲ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند. همچنین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار منتخب به ترتیب ۵/۸۶ درصد در جمعیت اول، ۱/۴۵ درصد در جمعیت دوم و ۲۲/۶۳ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند.

منابع

- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G. and Sharma, S. 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(3): 161–175.
- Cansev, A., Gulen, H., Celik, G. and Eris, A. 2012. Alterations in total phenolic content and antioxidant capacity in response to low temperatures in olive (*Olea europaea* L. “Gemlik”). *Plant Arch*, 12(1): 489–494.
- Govind, P. 2011. Medicinal plants against liver diseases. *IJPR*, 2(5): 115–121.
- Gülcin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3): 345–391.
- Harman, D. 1992. Free radical theory of aging. *Mutation Research/DNAging*, 275(3–6): 257–266.
- Sharghi, N. and Lalezari, I. 1967. Papaver bracteatum Lindl., a highly rich source of thebaine. *Nature*, 213(5082): 1244.
- Stankovic, M.S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac Journal Science*, 33: 63–72.
- Tejidos, T. and Estral, S.E.C. 2007. Toxic effects of methanolic extract of *Aspilia africana* leaf on the estrous cycle and uterine tissues of Wistar rats. *International Journal Morphology*, 25(3): 609–614.
- Zengin, G., Aktumsek, A., Guler, G.O., Cakmak, Y.S. and Yildiztugay, E. 2011. Antioxidant Properties of Methanolic Extract and Fatty Acid Composition of *Centaurea urvillei* DC. subsp. hayekiana Wagenitz. *Records of Natural Products*, 5(2): 123–132.

Evaluation of changes in total phenol content, flavonoids and antioxidant capacity in *papaver bracteatum* treated with salicylic acid and methyl jasmonate

¹Yousef Hakimi, ^{2*}MohammadReza Fatahi Moghadam, ³MohammadReza Naghavi, ⁴Zabihollah Zamani, ¹M. Sc. Graduate (Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran)

^{2,4}Professor (Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran)

³Professor (Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran)

*Corresponding Author: fattahi@ut.ac.ir

Abstract

Plants are a rich source of phenolic compounds, which are the most important natural antioxidants. Antioxidant compounds that prevent the spread of chronic diseases and the destruction of many foods. The aim of this study was to evaluate and compare the content of total phenol, total flavonoids and antioxidant activity of *papaver bracteatum* under salicylic acid and methyl jasmonate treatments. For this purpose, an experiment was conducted in the form of a factorial experiment with a randomized complete block design on three different populations of poppy. Phytochemical indices of total phenol content (Folin-Ciocalteu method), total flavonoid (Aluminum chloride method) and antioxidant activity (DPPH method) were evaluated. Elicitation treatments have a significant effect on total phenol content, total flavonoids and antioxidant capacity at the level of 1% probability. The highest coefficients of variation with 24.24, 21.19 and 3.45%, respectively, are related to antioxidant capacity, total phenol and total flavonoids due to the effect of salicylic acid and methyl jasmonate on the biosynthetic pathways of phenols and thus increase antioxidant capacity. In general, it was found that increasing the concentration of salicylic acid increases the amount of total phenol and total flavonoids. Also, according to the mean comparisons, it can be concluded that a significant difference of five percent was observed between all elicitor treatments in the measured indices.

Keywords: Elicitors, Medicinal plants, Total antioxidant capacity, Total flavonoid content, Total phenolic content