

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^۴

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

۴- استاد، گروه فارماکوجنزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه اصفهان

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۸

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 ۴٪ 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

به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی افزایش یافته است (Erkan et al., 2008). رزماری از جمله گیاهانیست که به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی‌اش به فراوانی در صنایع غذایی و داروسازی مورد استفاده قرار گرفته است (Romano et

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برخلاف آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی، سمیتی را در فرآورده‌های غذایی به‌وجود نمی‌آورند. به همین دلیل، استفاده از آنها در سالهای اخیر

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.

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 (Erkan et al., 2008; Romano et al., 2009; 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-Rajooob 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

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد استفاده

مقدار	خصوصیت
۱/۰	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)
۷/۹	pH
۲۸/۹	آهک (%)
۰/۱۲	روی قابل جذب (میلی‌گرم در کیلوگرم)
۵۴/۶	شن (%)
۲۷/۶	رس (%)
۱۷/۸	سیلت (%)
لوم شنی	بافت خاک

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 ۴ درجه

سانتی‌گراد یخچال برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. تجزیه‌های بعدی به گونه‌ای برنامه‌ریزی شدند که عصاره مذکور بیش از ۲۴ ساعت نگهداری نشود.

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

محاسبه فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH* طبق روش Hanato و همکاران (۱۹۸۸) انجام شد. به این منظور ۲ میلی‌لیتر از عصاره برگ رزماری به ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH* 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* طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$100 \times (\text{مقدار جذب کنترل} / \text{مقدار جذب RSA} \% - \text{نمونه} - \text{مقدار جذب کنترل})$

Radical Scavenging Activity = RSA

TCA (۱۰٪ w/v) به مخلوط اضافه شده و بعد از سانتیفریژ 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 ۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۰/۲ نرمال و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع (۵۰ گرم در لیتر) اضافه

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

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش آهن

ظرفیت کاهش آهن عصاره برگ رزماری از طریق تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی طبق روش Oyaizu (۱۹۸۶) اندازه‌گیری شد. به این منظور، ۱ میلی‌لیتر از عصاره برگ به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH= ۶/۶) 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

نتایج

عملکرد خشک شاخسار رزماری

صرف نظر از مقدار روی اضافه شده به خاک، افزایش سطح شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم موجب کاهش ناچیز عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری شد، اما این کاهش معنی دار نبود (جدول ۲). افزایش سطح روی از صفر به ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک موجب افزایش معنی دار عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری شد به طوری که بیشترین عملکرد وزن خشک (۳۰/۵ گرم در گلدان) در سطح ۱۰ میلی گرم اندازه گیری شد (جدول ۳). برهم کنش روی و شوری بر عملکرد وزن خشک شاخسار نیز معنی دار نبود (جدول ۲).

شد. بعد از ۹۰ دقیقه مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج مدل جنوی ۵۳۱۰ اندازه گیری شد. مقدار ترکیب های فنلی گیاه بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم تازه گیاه بیان گردید (Tawaha et al., 2007).

تجزیه آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین ها توسط آزمون LSD در سطح ۱٪ به کمک نرم افزار SAS صورت گرفت. برای تعیین ضریب های همبستگی از آزمون پیرسون در سطح ۱٪ بهره گرفته شد.

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

خصوصیات اندازه گیری شده				درجه آزادی	منابع تغییرات
ظرفیت کاهندگی	فعالیت پالایندگی	ترکیب های فنلی	عملکرد خشک		
۰/۰۳ **	۵۲/۰ **	۱/۰۱ **	۱/۸ n.s	۲	شوری
۰/۰۳ *	۳۷/۰ **	۰/۷۱ *	۵۰۵/۶ **	۱	روی
۰/۰۰۳ n.s	۷/۲ *	۰/۰۱۴ n.s	۰/۱ n.s	۲	شوری × روی
۰/۰۰۰۵	۱/۴۸	۰/۰۳	۱/۸	۱۲	خطا

** و * : در سطح ۱٪ و ۵٪ معنی دار است.

n.s در سطح ۵٪ معنی دار نیست.

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

میانگین	شوری (میلی مولار کلرید سدیم)			روی (میلی گرم در کیلوگرم خاک)
	۱۰۰	۵۰	۰	
۱۹/۹ B	۱۹/۷ b	۱۹/۷ b	۲۰/۴ b	۰
۳۰/۵ A	۳۰/۲ a	۳۰/۱ a	۳۱/۳ a	۱۰
	۲۴/۹ A	۲۴/۹ A	۲۵/۹ A	میانگین

میانگین های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD معنی دار نیستند (حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل دو گانه و حروف بزرگ برای مقایسه اثرهای اصلی روی و شوری استفاده شده است).

غلظت ترکیب‌های فنلی

شوری به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش فعالیت پالایندگی رادیکال شد به‌طوری که بیشترین فعالیت (۷۹/۹٪) در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کمترین فعالیت (۷۴/۱٪) در شوری صفر میلی‌مولار کلرید سدیم اندازه‌گیری شد (جدول ۵). اضافه کردن ۱۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم به خاک موجب افزایش معنی‌دار (۴٪) 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.

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 ۴). 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).

جدول ۴- اثر متقابل روی و شوری بر غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم)

میانگین	شوری (میلی‌مولار کلرید سدیم)			روی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)
	۱۰۰	۵۰	۰	
۱۹/۵۶ B	۱۹/۹۳ b	۱۹/۴۲ cd	۱۹/۳۴ d	۰
۲۰/۰۴ A	۲۰/۴۴ a	۱۹/۹۷ b	۱۹/۷۰ bc	۱۰
	۲۰/۱۸ A	۱۹/۶۹ B	۱۹/۵۲ B	میانگین

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

کاهش آهن از ۲/۶۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم به ۲/۶۶ و ۲/۷۴ میلی‌گرم بر گرم شد (جدول ۶). در سطح صفر میلی‌گرم روی، شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تأثیری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نداشت در حالی که افزایش

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

شوری به ۱۰۰ میلی مولار ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ رزماری را به طور معنی داری افزایش داد. در سطح ۱۰ میلی گرم روی افزایش سطح شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش آهن را افزایش داد (جدول ۶). تغذیه رزماری با ۱۰ میلی گرم بر گرم روی منجر به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش آهن شد (جدول ۶). بیشترین فعالیت (۲/۷۶) میلی گرم در گرم) آنتی اکسیدانی احیای آهن در عصاره برگ رزماری رشد یافته در سطح ۱۰ میلی گرم با شوری ۱۰۰ میلی مولار و کمترین فعالیت (۲/۵۸) میلی گرم در گرم) آن در سطح صفر میلی گرم روی با شوری صفر میلی مولار کلرید سدیم اندازه گیری شد.

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

میانگین	شوری (میلی مولار کلرید سدیم)			سطح روی
	۱۰۰	۵۰	۰	(mgkg ⁻¹)
۷۵/۴ B	۷۹/۸ a	۷۴/۱ bc	۷۲/۳ c	۰
۷۸/۳ A	۸۰/۲ a	۷۸/۶ a	۷۵/۹ b	۱۰
	۷۹/۹ A	۷۶/۳ B	۷۴/۱ C	میانگین

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

جدول ۶- اثر متقابل روی و شوری بر فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش آهن عصاره برگ رزماری (میلی گرم گالیک اسید در گرم)

میانگین	شوری (میلی مولار کلرید سدیم)			سطح روی
	۱۰۰	۵۰	۰	(mg kg ⁻¹)
۲/۶۳ B	۲/۷۲ b	۲/۶۰ d	۲/۵۸ d	۰
۲/۷۱ A	۲/۷۶ a	۲/۷۲ b	۲/۶۴ c	۱۰
	۲/۷۴ A	۲/۶۶ B	۲/۶۱ C	میانگین

** و * : در سطح ۱٪ و ۵٪ معنی دار است.

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

بحث

خشک شاخسار رزماری در شرایط شور شد. این نتایج نشان می دهد 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

افزایش سطح شوری خاک به ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم ($EC=9 \text{ dsm}^{-1}$) تأثیری بر عملکرد وزن خشک شاخسار رزماری نداشت که نشان از مقاوم بودن رزماری به تنش شوری دارد. تغذیه روی موجب افزایش عملکرد

(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).

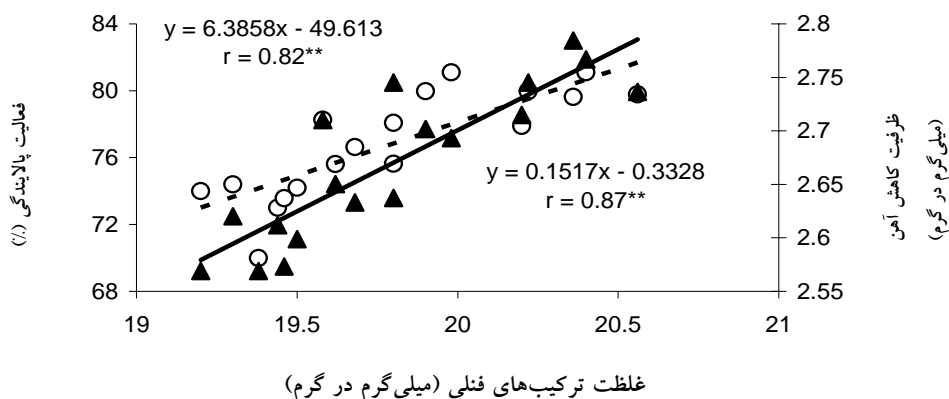
پایداری نسبی رادیکال DPPH[•] به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان دارویی و ترکیب‌های خالص آنها مورد استفاده قرار گرفته است (Genena et al., 2007; Ksouri et al., 2007; Perez et al., 2007). این روش براساس احیای محلول الکلی DPPH[•] از طریق دریافت هیدروژن توسط ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد ($DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\bullet}$) (Perez et al., 2007). مقدار DPPH[•] 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 در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی به خوبی شناخته شده است. (Genena et al., 2008). در این مطالعه شوری موجب افزایش معنی‌دار فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH[•] توسط عصاره برگ رزماری گردید، به‌طوری که بیشترین افزایش فعالیت پالایندگی رادیکال DPPH[•] 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

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 (*Salvia 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 ترکیب‌های 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 ترکیب‌های 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 میلی‌گرم گالیک اسید در گرم می‌باشد. نتایج نشان داد که غلظت ترکیب‌های فنلی رزماری در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت. ساخت و تجمع ترکیب‌های فنلی در گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی و غیرمحیطی از جمله شوری افزایش می‌یابد (Navarro et al., 2006; Ksouri et al., 2007). افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی در شرایط تنش شوری در گیاهان مختلفی نظیر گیلاس (Agastian et al., 2000)، *Raphanus sativus* L. (Muthukumarasamy et al., 2000) و فلفل (Navarro et al., 2006) نیز گزارش شده است. اگرچه در مورد تأثیر تنش شوری بر غلظت ترکیب‌های فنلی برگ رزماری اطلاعات چندانی وجود ندارد، اما نتایج Bosch و همکاران

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., 2009؛ Chew et al., 2008؛ Tawaha et al., 2007؛ 2007). 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

منابع مورد استفاده

- قنادی، ع.، سجادی، ا. و محمدالمسلمی، م.ا.، ۱۳۸۱. بررسی فیتوشیمیایی فلاونوئیدها و روغن فرار رزماری کشت شده در ایران. مجله علوم پزشکی اهواز، ۳۴: ۳۳-۴۰.
- 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-Rajob, 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 Abdely, C., 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 244-249.

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 شده است (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.

- 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., Ramezani, 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.
- Terpin, 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 chemiluminescent 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 Abdely, 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 physiology, photosynthesis, and essential monoterpene oil(s) yield of *Ocimum sanctum*. *Photosynthetica*, 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.

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

M. Hejazi Mehrizi^{1*}, H. Shariatmadari², A.H. Khoshgoftarmanesh² and F. Moattar³

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.