DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2012.4514

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ٦٥٨-٦٤٧ (۱۳۹۰)

بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی کتان (*Linum usitatissimum* L.)

مه‌لقا قربانلی[1*]، غلامرضا بخشی‌خانیکی[2] و انوشه ذاکری[3]

۱*ـ نویسنده مسئول، استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
پست الکترونیک: mghorbanli@gorganiau.ir
۲ـ دانشیار، دانشگاه پیام نور مرکز تهران
۳ـ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور مرکز تهران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۸۹ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

چکیده

خشکی ازجمله تنش‌های فیزیکی است که به‌عنوان عامل محدودکننده رشد گیاهان در بیشتر نقاط جهان شناخته شده‌است. در این پژوهش بذر کتان (*Linum usitatissimum* L.) در گلدان‌های پلاستیکی حاوی شن- رس- خاک‌برگ با نسبت ۱:۱:۲ کاشته شد. پس از کامل شدن سومین برگ اصلی گیاه، تنش در سه سطح براساس ظرفیت زراعی (شاهد FC، ۲/۳ FC، ۱/۳ FC) به مدت ۱۰ روز اعمال شد. این آزمایش با سه تکرار براساس طرحی کاملاً تصادفی انجام شد. به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر مکانیسم‌های دفاعی غیرآنزیمی گیاه دارویی کتان، گیاهان ابتدا از گلدان‌ها خارج و سپس میزان کاروتنوئید، آنتوسیانین، فلاونوئید، ترکیب‌های فنلی و پرولین در آنها اندازه‌گیری شد. نتایج آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح ۰/۰۵ نشان داد که میزان آنتوسیانین، ترکیب‌های فنلی و پرولین با افزایش تنش خشکی افزایش یافت و این افزایش معنی‌دار بود. لازم به ذکر است که تجمع پرولین در اندام هوایی بیشتر از ریشه می‌باشد. میزان فلاونوئید در شرایط ۲/۳ FC ابتدا افزایش و بعد کمی کاهش یافت، اما به هر حال در مقایسه با شاهد میزان فلاونوئید افزایش یافت. میزان کاروتنوئید در این آزمایش در برگ گیاه کتان کاهش معنی‌داری را با شاهد نشان داد.

واژه‌های کلیدی: کتان (*Linum usitatissimum* L.)، ترکیب‌های فنلی، پرولین، فلاونوئید، کاروتنوئید، آنتوسیانین.

مقدمه

از آنجایی که پدیده خشکی و خشکسالی همه ساله بخشی از کشور را دربر می‌گیرد، بررسی این پدیده بر روی گیاهان ازجمله گیاهان دارویی حائز اهمیت می‌باشد. کتان ازجمله این گیاهان دارویی است که نه تنها خواص درمانی بیشماری دارد، بلکه در صنعت نیز بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. کتان روغنی یا بزرک با نام علمی *Linum usitatissimum* از گیاهان زراعی مفید است که در زمینه تولید روغن های گیاهی و بندرت الیاف و تأمین علوفه کاربرد دارد. روغن کتان می‌تواند مصونیت بدن را در برابر بیماریها بالا برده و استفاده از این روغن از بروز سرطان پیشگیری می‌کند (ایران‌نژاد، ۱۳۸٦).

نتایج مطالعات نشان می‌دهد در شرایط تنش کمبود آب روزنه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی، که شامل ATP، NADPH است، مصرف نمی‌شود. در چنین شرایطی به علت عدم اکسید شدن مولکول NADPH، مصرف $NADP^+$ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد، بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به‌عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) می‌گردد (Blokhina *et al*., 2003؛ Bandyopadhyay *et al*., 1999؛ Ben Ahmed, 2009؛ Jubany-Mari *et al*., 2010).

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده مکانیسم‌های دفاعی مختلفی شامل آنزیمی و غیرآنزیمی را بکار می‌برند (Ozkur *et al*., 2009). سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیب‌های متفرقه (ازجمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنول‌ها) می‌باشد.

یکی از صدمات اکسیداتیو مهمی که در این شرایط ایجاد می‌شود تخریب مولکول کلروفیل است. به دنبال این تخریب گیاه رنگی به نظر می‌رسد که دلیل آن افزایش و قابل رؤیت شدن رنگیزه‌های محافظ مانند کاروتنوئیدها (گزانتوفیل، کاروتن، لیکوپن) و آنتوسیانین می‌باشد (Chalker-Scott, 2002). کاروتنوئیدها در این شرایط قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یک‌تایی را به سه‌تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا کنند (Inze & Montagu, 2000).

ترکیب‌های فنلی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که بسیاری از ترکیب‌های حلقوی مثل ترکیب‌های فنل، فلاون‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مثل تریپتوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. این ترکیب‌ها دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (André *et al*., 2009).افزایش سنتز این ترکیب‌ها در اثر محرک‌های متعدد محیطی نظیر حملات میکروبی، پرتوهای فرابنفش و تنش‌های فیزیکی وشیمیایی محیطی گزارش شده‌است. به‌عنوان مثال بررسی روی اکالیپتوس نشان داد که تحت شرایط تنش آبی ترکیب‌های فنلی در گیاه افزایش می‌یابد (Schwambach *et al*., 2008).

فلاونوئیدها می‌توانند از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کنند، به این معنا که توان پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن را دارند. بررسی میزان فلاونوئید *Brassica napus* در شرایط تنش آبی نشان داد که این ماده به عنوان متابولیت ثانویه در گیاه افزایش می‌یابد (Sangtarash *et al*., 2009a). آنتوسیانین‌ها نیز مشابه فلاونوئیدها رنگیزه محافظ بوده که گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند (Chalker-Scott, 2002). گزارش شده‌است که مقدار آنتوسیانین در *Begonia semperflorens* در شرایط تنش افزایش یافته‌است. این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به‌وسیله حذف مستقیم ROS در طول تنش اکسیداتیو می‌باشد (Zhang *et al*., 2010).

پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به‌عنوان محافظ در برابر

تنش نیز عمل می‌کند. بدین ترتیب که به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها در شرایط تنش کمک می‌کند (Koc *et al*., 2010). پرولین اسید آمینه‌ای است که افزایش غلظت آن فراوانترین و عمومی‌ترین پاسخی است که به محض ایجاد استرس مشاهده می‌شود (Suriyan & Chalermpol, 2009؛ Kuzentsov & Shevyakova, 1999). به‌عنوان مثال، بررسی تنش روی گیاه فلفل نشان داد که مقدار پرولین در گیاه افزایش یافت (Koc *et al*., 2010). همچنین بررسی روی آفتابگردان تحت شرایط خشکی نشان داد که در طول تنش با افزایش فعالیت گاما-گلوتامیل کیناز میزان پرولین نیز افزایش پیدا کرد (Manivannan *et al*., 2007). محققان ذخیره پرولین را در سلول‌های گیاهی مربوط به مکانیسم‌های مقاومت به خشکی می‌دانند (Yin *et al*., 2009). سطوح بالای پرولین، گیاه را قادر می‌سازد تا پتانسیل آبی خود را پایین نگه دارد (Valliyodan & Nguyen, 2006). مقادیر بالای پرولین باعث کاهش میزان رادیکال‌های آزاد در پاسخ به تنش اسمزی گردیده و توتون‌های تراریخت با ژن P5SC را برای رشد در شرایط متوسط +NaCl 200 بهبود بخشیده‌است. این یافته‌ها باعث روشنتر شدن هر چه بیشتر تنظیم بیوسنتز پرولین در گیاهان و نقش آن در کاهش تنش اکسایشی القاء شده‌است و علاوه بر آن تأییدی بر نقش پذیرفته شده آن به‌عنوان اسمولیت می‌باشد (Hong *et al*., 2003).

هدف از این پژوهش به‌طور کلی بررسی اثر خشکی بر برخی مکانیسم دفاعی غیرآنزیمی ازجمله کاروتنوئید، آنتوسیانین، فلاونوئید و ترکیب‌های فنلی در گیاه دارویی کتان است.

مواد و روشها

در این پژوهش، بذرهای *Linum usitatissimum* از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در بهار ۱۳۸۸ دریافت گردید. کشت گیاهان و مراحل مختلف پژوهش و آزمایشهای مربوط به آنها در مجتمع آزمایشگاهی پیام نور واحد تهران انجام شد. بذرهای سالم و یکنواخت پس از شستشوی اولیه به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ سترون و سپس چندین بار با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس تعداد ۱۰ بذر در گلدان‌های یک اندازه با دهانه ۷ سانتی‌متر محتوی بستر استریل لیکا، ماسه- رس- خاک برگ (۱:۱:۲) کاشته و در شرایط گلخانه‌ای نگهداری شد. آبیاری تا مرحله سه برگی، برای همه تیمارها یکسان و مطابق ظرفیت زراعی انجام شد. بعد از آن‌که گیاه وارد مرحله سه برگی شد، آبیاری تیمارها، بدین صورت انجام شد: آبیاری برای شاهد، مطابق ظرفیت زراعی؛ برای خشکی ملایم، ۲/۳ ظرفیت زراعی و برای خشکی شدید، ۱/۳ ظرفیت زراعی به مدت ۱۰ روز. بعد از ۱۰ روز اعمال تیمار، گیاهان از بستر لیکا خارج و برای زدودن بقایای لیکا از سطح ریشه گیاهان، ریشه‌ها ابتدا با آب جاری و سپس با آب مقطر به خوبی شستشو داده شدند و خشک گردیدند. بعد از خشک شدن سطحی ریشه‌ها، اندام هوایی و ریشه‌ها از محل یقه از کلیه گیاهان جدا و آزمایشهای مطابق روشهای زیر انجام گردید.

سنجش کاروتنوئید

سنجش میزان کاروتنوئید بر طبق روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد و میزان کاروتنوئید با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{کاروتنوئید} = \frac{(\text{جذب نوری} \times ۱۰۰۰ - ۸۵/۰۲\times\text{کلروفیل a} - ۱/۸\times\text{کلروفیل b})}{۱۹۸}$$

سنجش آنتوسیانین

سنجش میزان آنتوسیانین بر طبق روش Wagner (۱۹۷۹) انجام گردید و میزان آنتوسیانین با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$A = \varepsilon bc$$

A: جذب خوانده شده

b: عرض کووت

ε : ۳۳۰۰۰cm/mol

c: غلظت محلول مورد نظر

سنجش فلاونوئید

سنجش میزان فلاونوئیدها بر طبق روش Krizek و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد و میزان فلاونوئید با استفاده از فرمول زیر بر حسب درصد محاسبه گردید:

$$Fla = ABS\ (300nm)\ \frac{V}{700}100$$

V: حجم عصاره

سنجش ترکیب‌های فنلی

اندازه‌گیری ترکیب‌های فنلی با استفاده از روش Seevers & Daly (۱۹۷۰) انجام گرفت. سپس درصد جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومترخوانده شده و بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر اعلام شد.

سنجش مقدار پرولین

اندازه‌گیری مقدار پرولین طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت و جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار این ماده محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر اعلام شد.

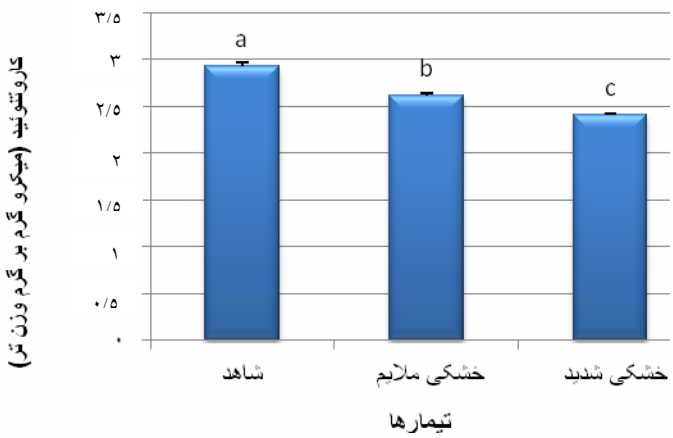
نتایج

پس از انجام محاسبات و اعمال اختلافات آماری در سطح ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار SPSS، نتایج زیر بدست آمد. مقدار کاروتنوئید در سطوح مختلف خشکی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۱). مقدار آنتوسیانین در سطوح مختلف خشکی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را داشت (شکل ۲). مقدار فلاونوئید در خشکی ۱/۳ افزایش معنی‌داری پیدا کرد، اما در ۲/۳ این افزایش تا حدی معنی‌داری بود (شکل ۳). مقدار ترکیب‌های فنلی در خشکی ۲/۳ افزایش معنی‌داری را با شاهد نشان داد (شکل ٤). غلظت پرولین هم در اندام هوایی و ریشه افزایش معنی‌داری را با شاهد نشان داد، اما این افزایش در اندام هوایی مشهودتر بود (شکل ۵).

جدول ۱- تجزیه واریانس مقدار کاروتنوئید

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
تیمار	۰/٤۲۱	۲	۰/۲۱۱	۹۳/۳٤۰	۰/۰۰۰
خطا	۰/۰۱٤	٦	۰/۰۰۲		
کل	۰/٤۳۵	۸			

$F(2, 6) = 93.340;\ p \leq 0.05$



شکل ۱- اثر خشکی بر مقدار کاروتنوئید

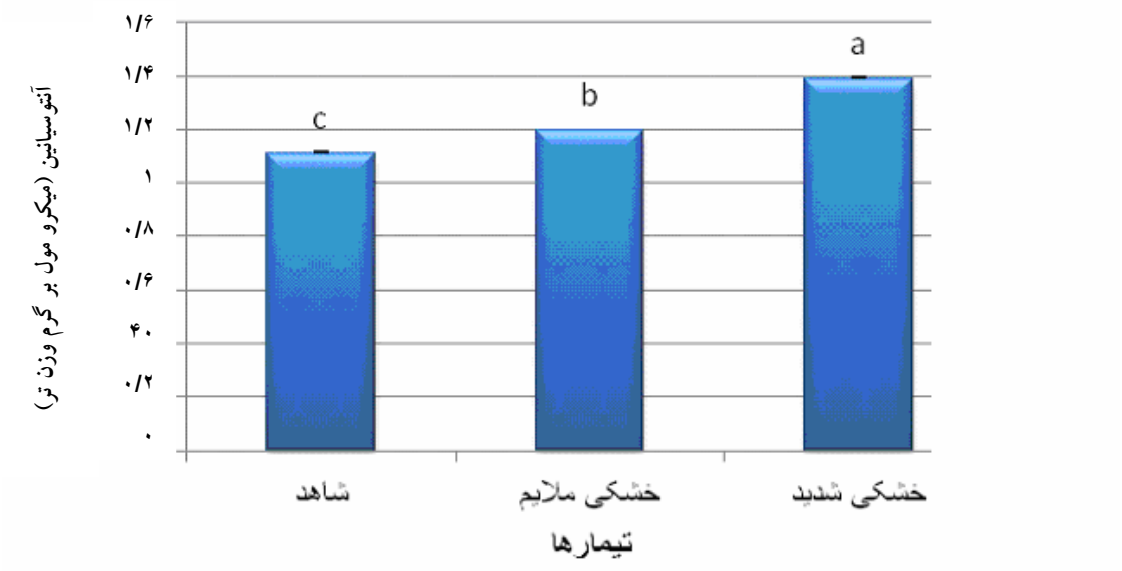
مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن p≤۰/۰۵

حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. خط عمود نشان‌دهنده SD است.

جدول ۲- تجزیه واریانس مقدار آنتوسیانین

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
تیمار	۰/۱۱۹	۲	۰/۰۵۹	۸۳۱/۱۰۹	۰/۰۰۰
خطا	۰/۰۰۰	٦	۰/۰۰۰		
کل	۰/۱۱۹	۸			

$F(2, 6) = 831.109; p \leq 0.05$



شکل ۲- اثر خشکی بر مقدار آنتوسیانین

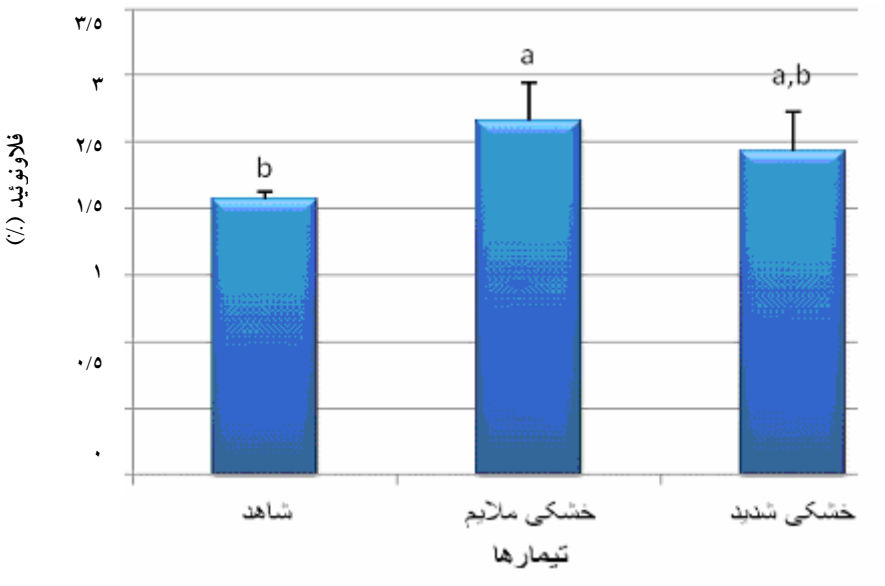
مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن $p \leq ۰/۰۵$

حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. خط عمود نشان‌دهنده SD می‌باشد.

جدول ۳- تجزیه واریانس مقدار فلاونوئید

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
تیمار	۰/۵۱۸	۲	۰/۲۵۹	۱/۵۰۶	۰/۲۹۵
خطا	۱/۰۳۲	٦	۰/۱۷۲		
کل	۱/۵۵۱	۸			

$F(2, 6) = 1.506; p \leq 0.05$



شکل ۳- اثر خشکی بر مقدار فلاونوئید

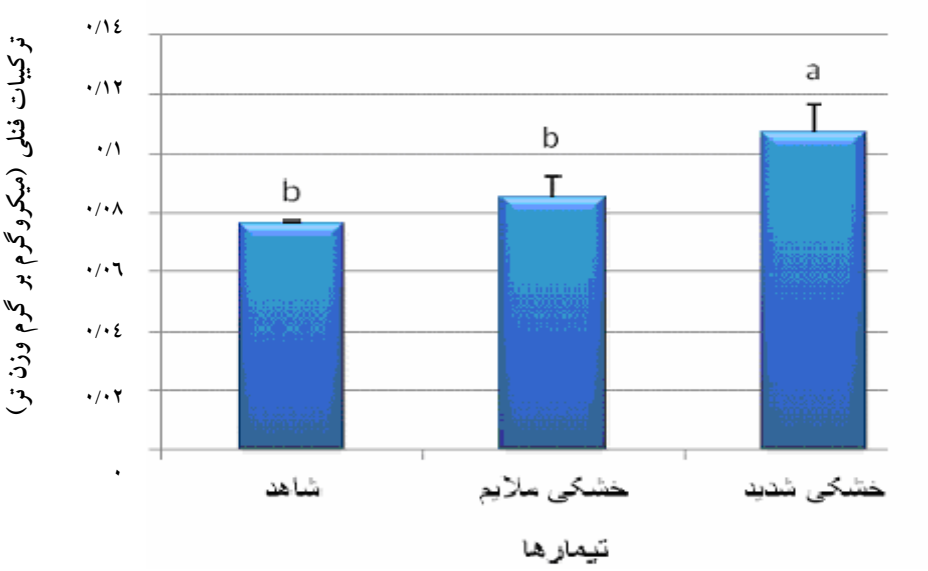
مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن $p \leq$ ۰/۰۵

حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. خط عمود نشان‌دهنده SD می‌باشد.

جدول ٤- تجزیه واریانس مقدار ترکیب‌های فنلی

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
تیمار	۰/۰۰۱	۲	۰/۰۰۱	۱٦/٤۸٤	۰/۰۰٤
خطا	0	٦	0		
کل	۰/۰۰۲	۸			

$F(2, 6) = 16.484; p \leq 0.05$



شکل ٤- اثر خشکی بر میزان ترکیب‌های فنلی

مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن $p \leq ۰/۰۵$

حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. خط عمود نشان‌دهنده SD می‌باشد.

جدول ٥- تجزیه واریانس مقدار پرولین اندام هوایی

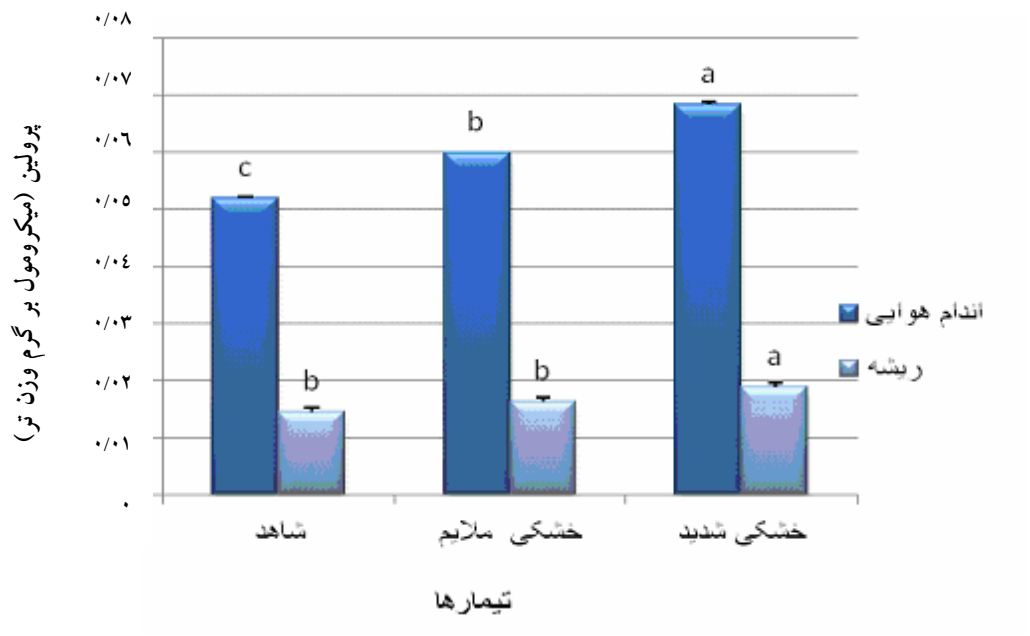
ساقه	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
تیمار	۰/۰۰۰	۲	۰/۰۰۰	٦٧۰/۱۱۸	۰/۰۰۰
خطا	۰/۰۰۰	٦	۰/۰۰۰		
کل	۰/۰۰۰	۸			

$F(2,6) = 670.118; P \leq 0.05$

جدول ٦- تجزیه واریانس مقدار پرولین ریشه

ریشه	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی‌داری
تیمار	۰/۰۰۰	۲	۰/۰۰۰	۷/۲۹٤	۰/۰۲٥
خطا	۰/۰۰۰	٦	۰/۰۰۰		
کل	۰/۰۰۰	۸			

$F(2, 6) = 7.294; p \leq 0.05$



شکل ۵- اثر خشکی بر مقدار پرولین در اندام هوایی و ریشه

مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن $p \leq ۰/۰۵$

حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد. خط عمود نشان‌دهنده SD می‌باشد.

بحث

باتوجه به این که امروزه نقش دفاعی متابولیت‌های ثانویه برای همه تقریباً پذیرفته شده‌است، اما هنوز بررسی سازوکار تأثیر استرس‌های محیطی بر تولید این مواد تصویر پیچیده و پر ابهامی پیش روی ما می‌گذارد. شواهد زیادی نشان می‌دهد که در شرایط تنشی تولید برخی از این ترکیب‌ها تا چندین برابر افزایش می‌یابد (Koc *et al.*, 2010؛ Efeoğlu *et al.*, 2009).

ازجمله متابولیت‌های ثانویه می‌توان به ترکیب‌های فنلی- فلاونوئیدها اشاره کرد. فلاونوئیدها به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی خود به‌طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و به‌طور غیرمستقیم به‌وسیله شلاته کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند و مانند بسیاری دیگر از پلی‌فنل‌ها جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد هستند، زیرا به‌عنوان گروه‌های قوی الکترون‌دهنده و پروتون‌دهنده عمل می‌کنند (Seyoum *et al.*, 2006؛ Blokhina *et al.*, 2003؛ Yang *et al.*, 2001). فلاونوئیدها با شناسایی تعداد و موقعیت گروه‌های OH فنلی حاضر، کار پاک‌سازی رادیکالی را انجام می‌دهند (Middleton Jr *et al.*, 2000؛ Pannala *et al.*, 2001؛ Chen *et al.*, 2002؛ Heim *et al.*, 2002؛ Amic *et al.*, 2003؛ Lugasi *et al.*, 2003).

مقدار فلاونوئید در اثر افزایش تنش در گیاه کتان بالا رفت و البته این افزایش در تنش FC ۲/۳ بیشتر از FC ۱/۳ مشاهده شد، زیرا زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد مقدار زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود. در بسیاری از گیاهان سیستم‌های آنزیمی برای از بین بردن این رادیکال‌ها فعال می‌شوند (Jubany-Mari *et al.*, 2010). پس می‌توان نتیجه گرفت پیش از آن‌که سیستم آنزیمی وارد عمل شود فلاونوئیدها دست بکار شدند، اما با افزایش تنش، سیستم آنزیمی وارد عمل شده و از میزان فلاونوئیدها کمی کاسته شد. زمانی که

Brassica napus را تحت تنش آبی قرار دادند به بررسی میزان فلاونوئید این گیاه پرداختند و مشاهده کردند که در اثر تحت تأثیر قرار دادن گیاه در تنش خشکی مقدار فلاونوئید آن به‌عنوان متابولیت ثانویه افزایش یافت (Sangtarash *et al*., 2009b). البته محققان نتایج مشابهی را نیز روی گیاه *Stellaria longipes* بدست آوردند. آنها دریافتند که فلاونوئیدها به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدان در تنش خشکی که یک تنش اکسیداتیو است وارد عمل شده و میزان آن زیاد می‌شود (Seyoum *et al*., 2006). این نتایج بیانگر آنست که فلاونوئیدها توانایی پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن را دارند. خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به اثر بازدارندگی آنها در تنفس میتوکندریایی برمی‌گردد (Sangtarash *et al*., 2009b).

افزایش پرولین در هنگام تنش نشان‌دهنده نقش این اسید آمینه در تنظیم فشار اسمزی است (Ashraf & Foolad., 2007). تنظیم اسمزی در گیاهان مکانیسم عمده اجتناب از تنش‌های آبی در محیط‌های خشک و شور است. بررسی روی برگ بالغ و نابالغ لیموترش تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که اگر چه میزان پرولین در اندام هوایی در اثر تنش بالا رفت ولی میزان آن در برگ نابالغ (جوان) بیشتر از میزان آن در برگ بالغ (پیر) بود، که این افزایش نشان می‌دهد برگ جوان در این شرایط نسبت به برگ مسن دچار صدمه و آسیب بیشتری شده‌است (Perez-Perez *et al*., 2009). در پژوهش حاضر غلظت پرولین تحت تأثیر تنش افزایش یافت که با نتایج کار انجام شده روی *Saccharum officinarum* L. همخوانی دارد (Suriyan & Chalermpol, 2009). تجمع پرولین در نتیجه تنش آبی در گندم و جو و گوجه‌فرنگی نیز گزارش شده‌است (Tynakova, 1967؛ Taylor *et al*., 1980).

علاوه بر افزایش غلظت پرولین در سطوح مختلف خشکی نسبت به شاهد، محتوای پرولین اندام هوایی نیز بیش از ریشه‌ها بوده و دلیل بالاتر بودن، این است که پرولین در قسمت رأسی و منطقه طویل‌شدگی ریشه سنتز شده و از طریق تعرق به بخش‌های هوایی منتقل می‌شود، از این‌رو میزان تجمع آن در برگ‌ها بیشتر است (Verslues & Sharp, 1999).

در پژوهش حاضر افزایش میزان ترکیب‌های فنلی بر اثر افزایش تنش خشکی مشاهده شد که این امر ارتباط مستقیم با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها دارد (Kim *et al*., 1997). تحقیقاتی که روی سیب‌زمینی انجام شد، نشان داد که ژن تولیدکننده فنل در گیاه در شرایط تنش خشکی، بیان، و میزان این ترکیب‌ها افزایش می‌یابد (André *et al*., 2009). در تحقیقاتی مشابه روی Red Pine که با *Sphaeropsis sapinea* پوشیده شده بود، مشاهده شد که میزان ترکیب‌های فنلی در تنش آبی افزایش پیدا کرد. در سایر تنش‌های غیرزیستی و زیستی نیز این افزایش مشاهده شده‌است. برای مثال، در دو واریته از فلفل (*Capsicum annuum* L.) در تنش سرما میزان این ترکیب در گیاه افزایش پیدا کرد (Koc *et al*., 2010).

در گیاه کتان با افزایش تنش مقدار این رنگیزه محافظ نیز افزایش می‌یابد که این افزایش احتمالاً به دلایل ذکر شده در بالاست. بررسی گیاه آرابیدوپسیس نیز نتیجه مشابهی را نشان داد (Jung, 2004).

در طول تنش خشکی، میزان کاروتنوئید کاهش یافته و نتوانسته‌است نقش حفاظتی خود را ایفا کند. کاهش محتوی کاروتنوئیدها می‌تواند به‌دلیل اکسید شدن آنها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آنها باشد. بررسی روی زیتون نشان داد که مقدار کاروتنوئید با افزایش تنش

خشکی کاهش می‌یابد (Ben Ahmed *et al*., 2009). البته نتایج مشابهی روی گیاهان *Helianthus annuus* L.، *Saccharum officinarum* L. و *Erythrina variegate* هم بدست آمده که حکایت از کاهش این رنگیزه در اثر تنش آبی دارد و با کار انجام شده روی گیاه کتان مطابقت دارد (Manivannan *et al*., 2007؛ Manoharan *et al*., 2010؛ Suriyan & Chalermpol., 2009).

منابع مورد استفاده

- ایران‌نژاد، ح.، ۱۳۸۶. زراعت گیاهان دارویی و روغنی (شاهدانه، کتان روغنی و کرچک). انتشارات آییژ، تهران، ۱۲۸ صفحه.
- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D. and Trinajstic, N., 2003. Structure radical scavenging activity relatuinships of flavonoids. Croatica Chemica Acta, 76(1): 55-61.
- André, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C.A.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Larondelle, Y. and Evers, D., 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. Phytochemistry, 70(9): 1107-1116.
-Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59(2): 206-216.
- Bandyopadhyay, U., Das, D. and Banerjee, R.K., 1999. Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. Current Science, 77(5): 658-666.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teare, D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant And Soil, 39(1): 205-207.
- Ben Ahmed, Ch., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhris, M. and Ben Abdallah, F., 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany, 67(2): 345-352.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants,oxidative damage and oxygen deprivation stress:a review. Annals of Botany, 91(2): 179-194.
- Chalker-Scott, L., 2002. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues?. Advances in Botanical Research, 37: 103-106.
- Chen, J.W., Zhy, Z.Q., Hu, T.X. and Zhu, D.Y., 2002. Structure-activity relationship of natural flavonoids in hydroxyl radical-scavenging effects. Acta Pharmacologica Sinica, 23(7): 667-672.
- Efeoğlu, B., Ekmekçi, Y. and Çiçek, N., 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany, 75: 34-42.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, 13(10): 572-584.
- Hong, S.W., Kwon, S.J., Sohn, S.I., Kim, N.S. and Kim, J.C., 2003. Characterization of embryogenesis-related *Pbmyb* genes during in vitro differentiation of *Pimpinella brachycarpa*. Korean Journal of Genetics, 25(4): 293-300.
- Inze, D. and Montagu, M.V., 2000. Oxidative Stress in Plant. Tj International Ltd, Padstow, Cornawall, Great Britain, 321p.
-Jubany-Marí, T., Munné-Bosch, S. and Alegre, L., 2010. Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. Plant Physiology and Biochemistry, 48(5): 351-358.
- Jung, S., 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. Plant Science, 166(2): 466-459.
- Kim, B.J., Kim, J.H., Kim, H.P. and Heo, M.Y., 1997. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): Antioxidative activity and free radical scavenging activity. International Journal of Cosmetic Science, 19(6): 299-307.
- Koc E., İslek, C. and Üstun, A.S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University Journal of Science, 23: 1-6.
- Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M., 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiologia Plantarum, 103: 1-7.
- Kuzentsov, V.I. and Shevyakova, N.I., 1999. Proline under stress: biological role, metabolism, and regulation, Russ. Journal of Plant Physiology, 46: 274-287.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V. and Biro, L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta Boilogica Szegediensis, 47: 119-125.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M.A. and Panneerselvam, R., 2007. Growth,

- Seevers, P. M. and Daly, J. M. 1970. Studies on wheat stem rust resistance control at Sr6 locus. 1- The role of phenolic of stemrust and wheat containing resistance genes Sr5, Sr6, Sr8,Sr22. Canadian Journal Of Botany, 57: 324-331.
- Seyoum, A., Asres, K. and El-Fiky, F.K., 2006. Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid. Phytochemistry, 67(18): 2058-2070.
- Suriyan, Ch. and Chalermpol, K., 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. Agricultural Sciences in China, 8: 51-58.
- Taylor, A.G., Kirkham, M.B. and Motes, J.E., 1980. The effect of water stress on germination and seedling growth of three species of tomato. Hort Science, 15: 310-317.
- Tynakova, L.A., 1967. Distribution of the free and baund proline and of the free hydroxyl proline in the separate organs of wheat plants during drought. Academic Bulgarian Science Journal, 20: 583-586.
- Valliyodan, B. and Nguyen, H.T., 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. Current Opinion in Plant Biology, 9: 1-7.
- Verslues, P.E. and Sharp, R.E., 1999. Proline accumulation in Maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. II. Metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. Plant Physiology, 119(4): 1349-1360.
- Wagner, G.J., 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology, 64: 88-93.
- Yang, B., Kotani, A., Aria, K. and Kusu, F., 2001. Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from their oxidation potentials. Analytical Sciences, 17(5): 599-604.
- Yin, C.X., Pang, X. and Lei, Y., 2009. *Populous* from hight altitude has more efficient protective mechanisms under water stress than from low-altitude habitats: a study in greenhouse for cuttings. Physiologia Plantarum, 137: 22-35.
- Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. and Xia, X.J., 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. Plant Science, 179(3): 202-208.
biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 59(2): 141-149.
- Manoharan, P.T., Shanmugaiah, V., Balasubramanian, N., Gomathinayagam, S., Mahaveer, P., Sharma, K. and Muthuchelian, K. 2010. Influence of am fungi on the growth and physiological status of *Erythrina variegata* Linn. grown under different water stress conditions. European Journal of Soil Biology, 46(2): 151-156.
- Middleton Jr, E., Kandaswami, C. and Theoharides, T.C., 2000. The Effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological Reviews, 52(4): 673-751.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I., 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. Environmental and Experimental Botany, 66(3): 487-492.
- Pannala, A.S., Chan, T.S., Obrien, P.J. and Rice-Evans, C.A., 2001. Flavonoid b-ring chemistry and antioxidant activity:fast reaction kinetics. Biochemical and Biophysical Research Communications, 282(5): 1161-1168
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., Tovar, J.C. and Botía, P., 2009. Response to drought and salt stress of lemon 'Fino 49' under field conditions: Water relations, osmotic adjustment and gas exchange. Scientia Horticulturae, 122: 83-90.
- Sangtarash, M.H., Qaderi, M.M., Chinnappa, C.C. and Reid, D.M., 2009a. Differential responses of two *Stellaria longipes* ecotypes to ultraviolet-B radiation and drought stress Flora-Morphology, Distribution. Flora Morphology Functional Ecology of Plants, 204(8): 593-603.
- Sangtarash, M.H., Qaderi, M.M., Chinnappa, C.C. and Reid, D.M., 2009b. Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus)* seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. Environmental and Experimental Botany, 66(2): 212-219.
- Schwambach, J., Ruedell, C.M., de Almeida, M.R., Penchel, R.M., de Araújo, E.F. and Fett-Neto, A.G., 2008. Adventitious rooting of *Eucalyptus glubus*× *maidennii* mini-cutting derived from mini-stumps grown in sand bed and intermittent flooding trays: a comparative study. New Forests, 36(3): 261-271.

Investigation on the effects of water stress on antioxidant compounds of *Linum usitatissimum* L.

M. Ghorbanli[1*], Gh,Bakhshi Khaniki[2] and A. Zakeri[3]

1*- Corresponding author, Biology Department, Faculty Of Science, Islamic Azad University Gorgan Branch, Gorgan, Iran
E-mail: mghorbanli@gorganiau.ir
2- Payame Nour University Tehran Central, Tehran, Iran
3- Msc. student, Payame Nour Tehran Central, Tehran, Iran

Received: August 2010 Revised: December 2010 Accepted: January 2010

Abstract

Water deficit is one of the most important factors affecting the growth of plants. In this research, *Linum usitatissimum* L. seeds were sown in plastic pots containing sand, clay and peat (2: 1: 1). When the third leave was appeared, water stress was done at three levels of control, 1/3 field capacity and 2/3 field capacity for 10 days in three duplication on the basis completely randomized design. The amount of carotenoid, anthocyanin, flavonoid, phenolic compound and proline was measured to study the effect of drought stress on non-enzymatic defense mechanisms. Data were subjected to analysis of variance by SPSS statistical software and means were compared by Duncan's test at $p \leq 0.05$ significance level. It is noteworthy to state that proline accumulation in aerial parts of the Linum was more than that of the root. The results showed that the amount of praline, phenolic compound and anthocyanin significantly increased but the amount of flavonoid in 2/3 FC increased and then slightly decreased however it increased as compared with the control. In the current study, the amount of carotenoid in the leaves of Linum significantly decreased.

Key words: *Linum usitatissimum* L., phenolic compound, proline, flavonoid, carotenoid, anthocyanin.