Archive of SID

تاثیر تنش دما بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ساختمان تشریحی گیاه گون گچی (*Astragalus fridae Rech.f.*) در منطقه شمال‌غرب سمنان (روستای افتر)

مریم پیوندی* ، نیره جانجانی و صدیقه اربابیان

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ١٣٩٣/٠٣/١٣، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٣/١٢/٠٥)

چکیده:

گیاه گون گچی با نام علمی *Astragalus fridae* از تیره *Fabaceae* است. این گیاه بومی استان سمنان و رویشگاه اصلی آن روستای افتر واقع در شمال‌غرب سمنان می باشد که در حال حاضر در لیست گیاهان در معرض خطر انقراض قرار دارد. در این پژوهش تاثیر دما بر محتوای کربوهیدرات محلول، پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) برگ های گیاه گون گچی در شرایط مختلف فصلی (بهار و تابستان ١٣٩٢) بررسی شد. همچنین ساختار تشریحی اندام‌های هوایی (برگ و دمبرگ) این گیاه مطالعه شد نتایج بررسی‌ها نشان داد که سطح پروتئین و میزان کربوهیدرات محلول مرداد نسبت به اردیبهشت کاهش یافت اما تفاوت بین میانگین‌ها معنی‌دار نبود. میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ های مرداد نسبت به اردیبهشت افزایش معنی‌داری را نشان دادند. برای مطالعات بافت شناسی از روش سلول – بافت شناسی با برش گیری دستی و رنگ آمیزی مضاعف سبز متیل– کارمن زاجی استفاده شد. بررسی‌های تشریحی دمبرگ و برگ افزایش وسعت بافت استحکامی فیبر، بافت اسکلرانشیم و آوند چوبی و کاهش تعداد روزنه ها را در نمونه‌های مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه نشان داد که حاکی از سازگاری گیاه با تنش گرما و خشکی می-باشد.

واژه‌های کلیدی: گون گچی، آنزیم آنتی‌اکسیدان، کربوهیدرات، تنش گرما

مقدمه:

گون بزرگترین سرده گیاهان آوندی با حدود ٣٠٠٠ گونه یک ساله و چندساله در ٢٥٠ بخش رده‌بندی شده است (Podlech, 1998). این سرده از اعضای قبیله Galegeae در تیره Fabaceae می‌باشد (Polhill, 1981) و به شاخه Inverted Repeat (IRLC) Lacking Clade تعلق دارد. در حال حاضر در ایران حدود ٨٠٤ گونه گون رویش دارد که از آن میان ٥٢٧ گونه معادل ٦٥٪ اندمیک ایران و ٢٧٧ گونه مشترک با کشورهای همسایه ترکیه، عراق، افغانستان و پاکستان می‌باشند که بعضی از آنها با پراکنش وسیع تر به خاورمیانه، آسیای مرکزی، آفریقا و اروپا کشیده می‌شوند (معصومی، ١٣٧٩).

اگرچه مصرف عمده گون به عنوان علوفه برای دامها و حیوانات وحشی می‌باشد، ولی از ٣٢ گونه آن برای مصارف غذایی، دارویی، آرایشی و جانشینی برای چای و قهوه یا به عنوان منبع صمغ‌های گیاهی استفاده می‌شود. در جنس گون ترکیبهای دارویی نظیر پلی ساکاریدها، ساپونین‌ها و ترکیب های سمی مانند آلکالوئیدهای ایندوزولیدین و ترکیب‌های نیتروآلیفاتیک و سلنیوم وجود دارند. از گون‌ها مواد دارویی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: m_peyvandi@iau-tnb.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مختلفی از جمله آنتی اکسیدان، محرکهای سیستم ایمنی، حفاظت کننده‌های کبدی، مواد ضد ویروس و باکتری و مواد موثر بر رگهای قلبی استخراج شده است (عیسوند و همکاران، ۱۳۸٤). ترکیبهای آنتی اکسیدان بدست آمده از ریشه از کاهش محتوی گلیکوژن کبدی جلوگیری کرده، پروتئین و آلبومین کل سرم را افزایش می‌دهد. جدیدترین خواص دارویی شناخته شده گون‌ها در زمینه اثرات ضد ایدزی و ضد سرطانی آنها است که در این راستا ترکیبهای کاستانوسپرمین و آستراگالوزوئید نوع دوم مورد بررسی قرار گرفته است (Rios and Waterman,1997). ارزش داروئی گیاه گون گچی تا کنون بررسی نشده است.

تنش‌های محیطی نظیر گرما و خشکی منجر به افزایش میزان‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شوند (Ashraf and Ali. 2008) . در گیاهان جاروب گونه‌های فعال اکسیژنی توسط چندین آنزیم آنتی اکسیدان انجام می‌گیرد که مهم‌ترین آن‌ها شامل: گلوتاتیون اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشند (Bakalova, *et al.* 2004). این آنزیم‌ها از غشاءها در مقابل اثرات مخرب ROS ها که در برابر تنش‌های غیر زنده تولید می‌شوند محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مختلف می‌گردند (Bor *et al.*, 2003; Mohamad khani and Heidari, 2007; Tan *et al.*, 2006). البته مقاومت گیاه در برابر انواع تنش‌ها بستگی به تاثیر پذیری بیشتر سیستم آنتی اکسیدانی گیاه دارد (پیوندی و همکاران ۱۳۹۰).

زیستگاه اصلی گونه گون گچی محدود به حاشیه معادن گچ منطقه افتر شهرستان سرخه می‌باشد. به دلیل گرمای شدید و خشکسالی در این منطقه، این گیاه یکی از گونه‌های در معرض خطر انقراض معرفی شده است. هدف از این پژوهش بررسی میزان سازگاری گیاه به شرایط گرم و خشک می‌باشد. به این منظور میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گرمترین روزهای سال در مقایسه با روزهای معتدل بررسی شد.

مواد و روش‌ها:

برگ‌های نسبتا جوان گیاه گون گچی در اواسط ماه‌های اردیبهشت (دمای حدود^{o}C ۲± ۲۵) و مرداد (دمای ^{o}C ۲±٤٤) ۱۳۹۲ از چهار بوته علامت‌گذاری شده واقع در منطقه افتر(شمال غرب استان سمنان) جمع آوری شدند. برگ‌های هر نمونه پس از جدا شدن از گیاه توزین و در فویل بسته بندی شده و سپس در دمای ^{o}C۲۰- فریز شدند تا برای سنجش پروتئین و آنزیم مورد استفاده قرار گیرند. به منظور سنجش میزان کربوهیدرات محلول تعدادی از برگ‌ها در دمای اتاق خشک گردید.

استخراج عصاره گیاهی جهت سنجش پروتئین و فعالیت آنزیمی: برای استخراج پروتئین ۰/۵ گرم ماده تر را در ۵ میلی لیتر بافر تریس گلایسین ساییده شد تا محلولی هموژن به دست آمد. عمل ساییدن به مدت ۱۰ دقیقه در ظرف یخ انجام شد سپس عصاره شفاف روی آن را درون چند اپندرف ریخته و توسط سانتریفوژ یخچال دار در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه دردمای ٤ درجه سانتی‌گراد، سانتریفوژ شد. عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش پروتئین: برای سنجش پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۹) استفاده شد. به ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره پروتئین، ۵ میلی‌لیتر محلول براد فورد اضافه شد، سپس چند ثانیه ورتکس صورت گرفت و پس از ۱۰ تا ۱۵ دقیقه جذب هر مورد در ۵۹۵ نانومتر در برابر شاهد فاقد عصاره، با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (لوله بلانک فاقد عصاره بود و به جای عصاره ۱۰۰ میکرو لیتر بافر استخراج داشت). در نهایت غلظت پروتئین‌های مجهول بر اساس منحنی استاندارد بدست آمد. مقدار پروتئین کل به صورت میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Pereira و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی میزان کاهش مقدار H_2O_2 اندازه‌گیری شد. ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس HClو ٦ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ با هم مخلوط شده و سپس به آن ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن۰/۱٪ افزوده شد. بلافاصله عدد جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV – 2101PC، Shimadzo در طول موج ۲٤۰ نانومتر ثبت گردید. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف بر اساس فعالیت آنزیم در یک دقیقه در هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش Korori (۱۹۸۹) سنجیده شد. ابتدا ۲ میلی لیتر بافر استات و ۲۰۰ میکرولیتر محلول بنزیدین و ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن را در حمام یخ مخلوط کرده و بلافاصله پس از اضافه شدن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن، عدد جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم در نمونه‌های مختلف مختلف بر اساس فعالیت آنزیم در یک دقیقه در هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با روش Asada (۱۹۹٤) اندازه گیری شد. ابتدا ۲ میلی لیتر بافر فسفات تهیه شده را با ۲۰۰ میکرو لیتر(۰/۲ میلی لیتر) محلول اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی مولار مخلوط کرده به آن ۲۰۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن می‌افزاییم. این مواد در حمام یخ با هم مخلوط شده بلافاصله ۲۵ میکرولیتر عصاره‌های برگی نمونه‌ها به آن افزوده شده پس از چند ثانیه ورتکس جذب نمونه‌ها در ۲۹۰ نانو متر خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پر اکسیداز در نمونه‌های مختلف بر اساس فعالیت آنزیم در یک دقیقه در هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از مهار احیای نوری NBT به روش Giannopolities و Ries (۱۹۷۷) و در طول موج ۵٦۰ نانو متر سنجیده شد. به این ترتیب که متیونین ۱۳ میلی مولار ،NBT (نیترو بلو تترازولیوم) ۷۵ میکرومولار ، EDTA ۰/۱ میلی مولار ، ریبو فلاوین ۲ میکرو مولار را وزن کرده و حجم نهایی را به ۱۵۰ سی‌سی رساندیم. محلول ریبوفلاوین را محلول اصلی اضافه کرده بلافاصله آزمایش را انجام دادیم. از این محلول ۳ میلی لیتر در لوله‌های آزمایش ریخته شد، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره‌ی برگی نمونه‌ها، به آن افزوده شد، سپس همه‌ی لوله‌ها، در معرض نور LUX ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت، پس از گذشت زمان مذکور و قطع نور جذب نمونه‌ها در ٥٦۰ نانومتر ثبت گردید. (محلول شاهد و کنترل فاقد عصاره ی برگی بودند. محلول شاهد طی آزمایش در تاریکی قرار داشت و محلول کنترل همانند نمونه های حاوی عصاره پروتئین برگ در معرض نور قرار گرفت. پس از محاسبه واحد آنزیمی (هر واحد آنزیم موجب ۵۰ درصد ممانعت احیایی NBT می‌شود)، فعالیت آنزیم بر اساس واحد آنزیمی در هر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

سنجش قندهای محلول: برای سنجش قندهای محلول از روش فنل –سولفوریک Kochert (۱۹۷۸) استفاده شد. برگ های گیاه را در آون با دمای ۷۰ درجه خشک کرده (در دمای اتاق) و پس از پودر کردن، ۱g/. آن را با ml ۱۰ اتانول ۸۰٪ مخلوط و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد بعد از گذشت یک هفته محلول رویی برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت. ۲ml محلول را با ۱ml فنل ۵٪ مخلوط کرده وبه آن ۵ml سولفوریک اسید اضافه شد بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Jenway Genova در طول موج ٤٨٥nm مورد سنجش قرار گرفت. سپس میزان قند های محلول عصاره برگ‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. مقدار قندهای محلول برحسب میلی گرم در هر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: چهار بوته به طور تصادفی در منطقه انتخاب وعلامت‌گذاری شد. برگ‌های این چهار بوته برای این پژوهش استفاده و هر آزمایش دست کم با ٤ بار تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل تمام داده‌های حاصل از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم افزارتحلیل آماری SPSS (ver.16) و آنالیز واریانس با برنامه (ANOVA) انجام پذیرفت.

بررسی ساختار تشریحی گیاه: جهت برش‌گیری دستی، برگ‌ها و دمبرگ‌های گیاه *Astragalus fridae* در مخلوط الکل- گلیسیرین (۱:۱)تثبیت شد. پس از تثبیت قطعات برگ و دمبرگ، برش دستی ار آن‌ها تهیه و برای مراحل شفاف سازی و رنگ آمیزی آماده شدند رنگ آمیزی با سبز متیل – کارمن زاجی انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج:

میزان پروتئین کل و کربوهیدرات محلول: بر اساس نتایج به دست آمده مشاهده شد میزان پروتئین و کربوهیدرات محلول در نمونه مرداد نسبت به اردیبهشت کاهش داشته است. اما تفاوت بین میانگین نمونه در دو زمان معنی‌دار نیست (شکل ۱) .

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: آنالیز واریانس داده های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو ماه اردیبهشت و مرداد، تفاوت معنی‌داری در میانگین فعالیت آن‌ها را در دو ماه نشان داد. فعالیت این آنزیم‌ها در مردادماه نسبت به اردیبهشت دو تا سه برابر افزایش یافت. به‌طوریکه فعالیت کاتالاز در هر دقیقه در هر میلی گرم پروتئین از ۰/۷۸ به ۱/۸۷، فعالیت پر اکسیداز در هر دقیقه در هر میلی گرم پروتئین از ۲۱/۱۲ به ٦٦/۳۰، فعالیت آسکوربات پر اکسیداز در هر دقیقه در هر میلی گرم پروتئین از ٦/۱۵ به ۳۰/ ۱۹و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز برحسب واحد آنزیمی در هر گرم وزن تربرگ از ۵۰/ به ۱/۰۵ در نمونه‌های مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه افزایش داشت (شکل ۲).

ساختار تشریحی برگ: در سطح هر دو اپیدرم زبرین و زیرین کرک‌های غده‌ای، محافظ و روزنه‌ها دیده می‌شوند. در گیاه گون گچی روزنه از نوع هم سطح با اپیدرم است. تیپ روزنه‌ها از نوع نامشخص سلولی (Anomocytic، تیپ آلاله) می‌باشند. تیپ آنیزوسیتیک نیز در این گونه مشاهده شد ولی تیپ آنموسیتیک غالبیت داشت (شکل ۳). مزوفیل به شکل متقارن و ناهمگن است بطوری‌که در فضای بین دو اپیدرم سلول‌های پارانشیم به طور متراکم قرار دارند. پارانشیم مزوفیل از زیر اپیدرم شروع شده ودر سطح زبرین شامل دو تا سه ردیف سلول‌های کشیده پارانشیم نردبانی (P.p)، در سطح میانی از نوع اسفنجی (S.p) و پارانشیم سطح زیرین هم مانند سطح زبرین از نوع نردبانی می‌باشد. دسته‌های آوندی توسط غلاف آوندی احاطه شده‌اند(شکل۲). منطقه رگبرگ اصلی نیز دارای اپیدرم زبرین و زیرین است که بافت‌های پارانشیمی و هادی را در برگرفته است. دسته‌های آبکش بزرگ‌تر و بیشتر مشاهده شده و به طور کامل چوب را در بر گرفته است، در اطراف آوندهای آبکش کلاهک‌های فیبر اسکلرانشیمی مشاهده می شوند. همچنین در این بخش بدلیل فشردگی بافتی بیشتر سلول‌های پارانشیم به حالت اسفنجی قرار دارند. فیبر و اسکلرانشیم در مر مرداد ماه وسعت بیشتری داشت(شکل۵).

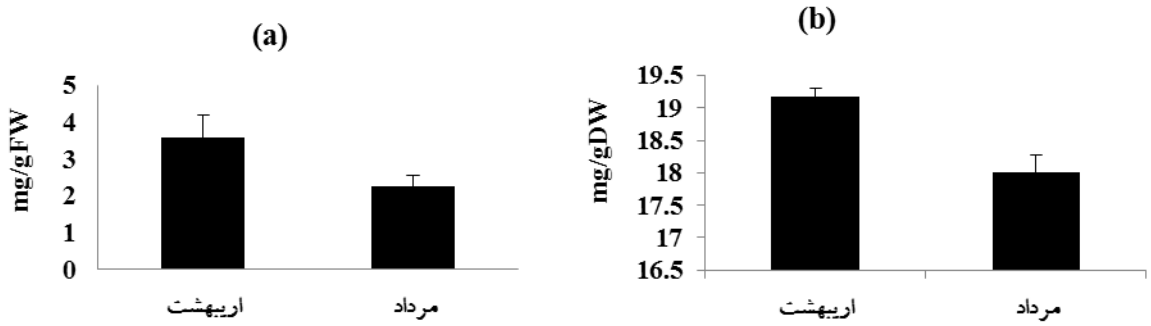
ساختار تشریحی دمبرگ: ساختار دمبرگ گیاه گون گچی از خارج توسط یک ردیف سلول اپیدرمی احاطه شده است که سطح آن‌ها کوتینی شده و پوشیده از کرک‌های غده‌ای می‌باشد. در زیر اپیدرم یک ردیف سلول‌های کلانشیم مشاهده شده و در زیر کلانشیم در ناحیه میان پوست، پارانشیم پوستی قرار دارد و سپس دسته‌های آوندی که درآن‌ها بافت آبکش در خارج و بافت چوب به سمت درون قرار گرفته است و در اطراف آوندهای آبکش کلاهک‌های فیبری مشاهده می شوند. در وسط هم پارانشیم مغز قرار دارد. مقایسه ساختمان تشریحی دمبرگ در دو ماه مختلف، نشان از افزایش وسعت بافت‌های چوبی شده در مرداد داشت (شکل ٦).

بحث:

پژوهش حاضر کاهش در میزان پروتئین محلول و افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را نشان داد. این نتایج با تحقیقات امینی و همکارانش (۱۳۷۸) در مورد بررسی اثر تنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مراحل رشد زایشی گیاه جو همسویی نشان می‌دهد. امینی و همکاران (۱۳۸۷) نشان داده‌اند که با افزایش سن گیاه و همچنین در اثر تنش کم آبی میزان پروتئین محلول کل کاهش می‌یابد. طبق بررسی Saez (1995) برروی گیاه رزماری مشخص شده است که بعضی از ترکیبات آلی تحت تاثیر فاکتورهای محیطی تغییر می‌یابد. با توجه به نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که بیشترین مقدار برای این زمان (مرداد ماه) بوده است، کاهش پروتئین می‌تواند به علت افزایش مقدار آنزیم‌ها از جمله آنزیم های تجزیه کننده قندها و یا به دلیل سنتز پروتئین‌ها و پلی پپتیدهای در گیر در سیستم دفاعی یاخته در برابر تنش باشد

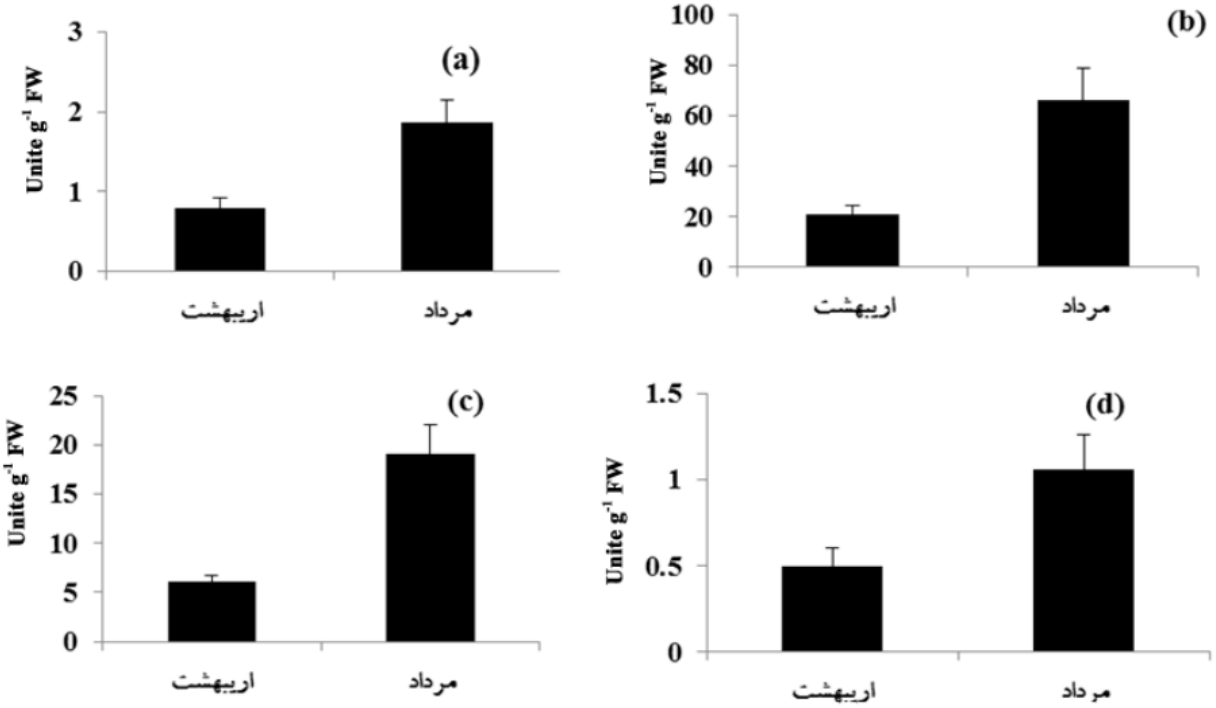
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار های شکل

شکل ۱- میانگین مقدار پروتئین ($mg.mg^{-1}$ FW) (a) و کربو هیدرات محلول ($mg.g^{-1}$ D.W) (b) دربرگ گیاه گون گچی(Bar = SE)



شکل ۲- فعالیت کاتالاز (a) ، پر اکسیداز(b) ، آسکوربات پر اکسیداز (c) در هر میلی گرم پروتئین در دقیقه و سوپراکسید دیسموتاز بر حسب واحد آنزیمی در هر گرم برگ گیاه گون گچی (Bar = SE)

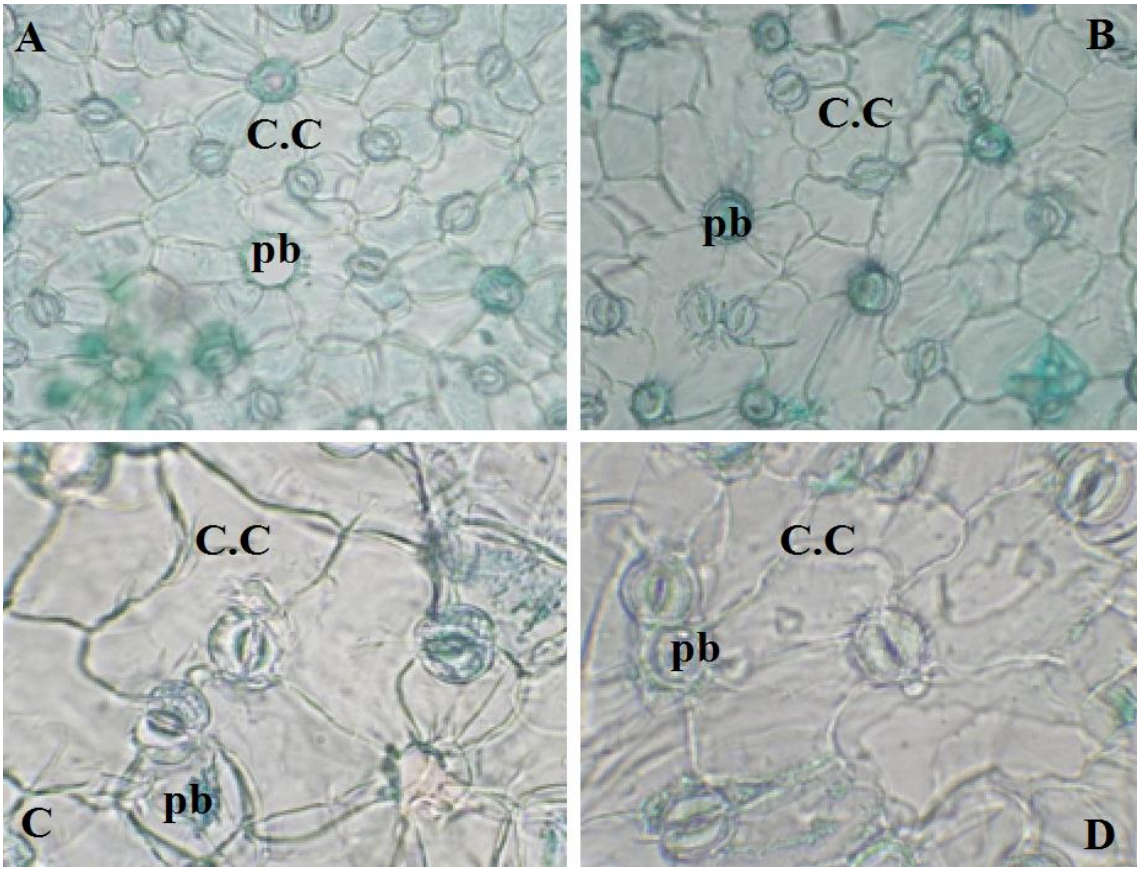
(Fediuc and Frdei, 2002).

در گیاهان پیشرفته جاروب گونه‌های فعال اکسیژنی از چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان تشکیل شده است که مهم‌ترین آن‌ها شامل: گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشند که می‌توانند ROS ها را که در شرایط تنش تولید می‌شوند از بین ببرند. بنابراین تنش موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی افزایش معنی‌داری را در مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه دارد. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها، مقابل تنش ناشی از کمبود آب در گیاهان مختلف نظیر گندم(Neidzwiedz *et al.*, 2004) و چغندر قند (ایلکایی و همکاران، ۱۳۹۱) نشان داده شده است.

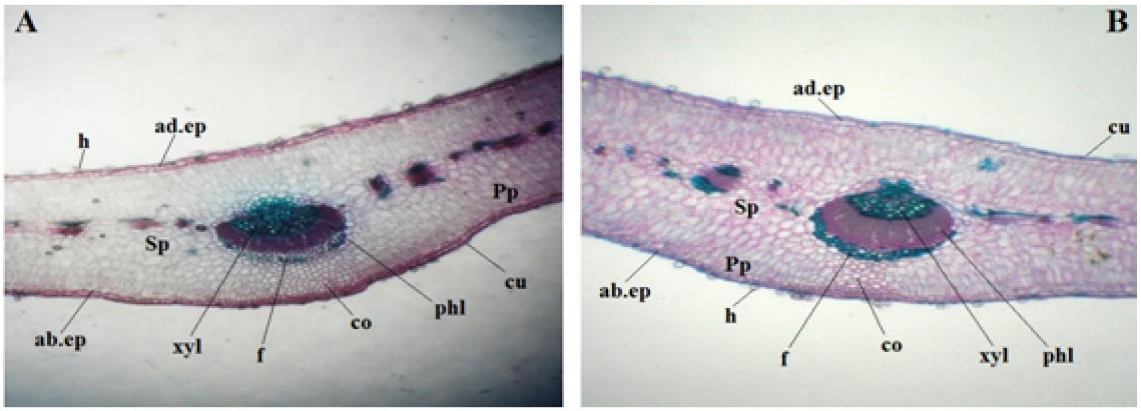
فعالیت آنزیم کاتالاز در مردادماه بیش از دوبرابر فعالیت آن در اردیبشت ماه بود. این نتایج با تحقیقات حداد و جلالی در مورد بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تنش کمبود آب در لاین‌های جو (حداد و جلالی، ۱۳۸۸)، فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۳- اپیدرم برگ گیاه گون گچی A : اپیدرم تحتانی اردیبهشت ماه (بزرگنمای X400). B: اپیدرم تحتانی مرداد ماه (بزرگنمایی X400) C: اپیدرم فوقانی اردیبهشت ماه (بزرگنمایی X1000). D: اپیدرم فوقانی مرداد ماه (بزرگنمایی X1000) . سلول همراه (C.C)، پایه کرک (pb).



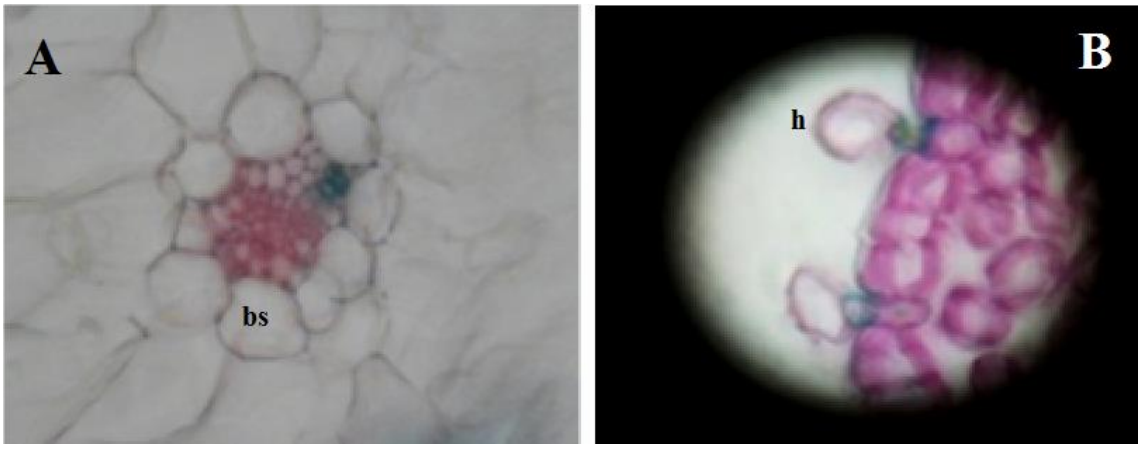
شکل٤- برش عرضی برگ گیاه گون گچی A: اردیبهشت ماه (بزرگنمایی X100) B: مرداد ماه (بزرگنمایی X100) h : کرک، ad.ep: اپیدرم فوقانی، ab.ep: اپیدرم تحتانی، co: کلانشیم، phl: آوند آبکش،xyl: آوند چوب، P.p: پارانشیم نردبانی، S.p: پارانشیم اسفنجی، cu: کوتیکول، f: فیبرو اسکلرانشیم.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تنش خشکی در گیا آرابیدوپسیس(Jung, 2004) و تاثیر تنش خشکی بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم (Celina *et al*., 2004) مطابقت دارد.

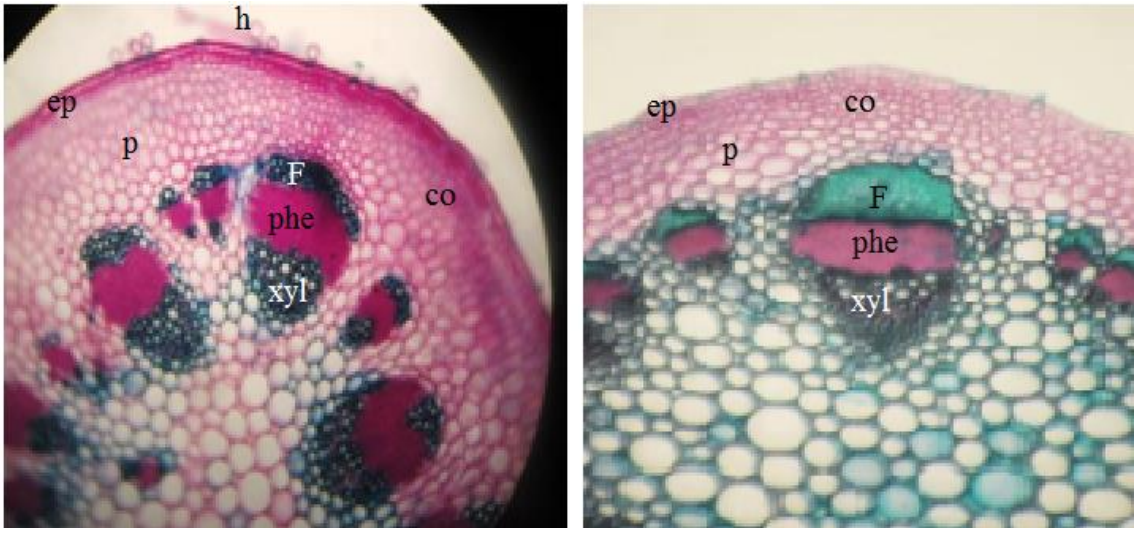
نتایج فعالیت آنزیم پراکسیداز با تحقیقات ضرابی و همکارانش در رابطه با نقش فیزیولوژیکی و تغییرات

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۵- تصاویری ازدسته‌های آوندی و کرک‌های غده‌ای در برگ گیاه گون گچی در اردیبهشت A: غلاف آوندی(bs) (بزرگنمایی 1000x) وB: کرک‌های غده‌ای(h) (بزرگنمایی 1000 ×)



شکل٦- برش عرضی دمبرگ گیاه گون گچی. A: اردیبهشت ماه (بزرگنمایی100X). B: مرداد ماه (بزرگنمایی100X)– h: کرک، ep: اپیدرم، co: کلانشیم، p: پارانشیم، phl: آوند آبکش xyl: آوند چوب، pi: پارانشیم مغز، F: کلاهک فیبری

بیوشیمیائی شش رقم زیتون در برابر تنش خشکی مطابقت دارد. آنها در این بررسی نشان داده اند که تنش خشکی موجب تجمع معنی‌دار میزان آنزیم پراکسیداز در برگ گیاه زیتون می شود (ضرابی و همکاران، ۱۳۸۹). در گزارش دیگر توسط Egert و Tevini (۲۰۰۲) مشاهده شده است که در پیاز کوهی ۹ روز پس از قطع آبیاری فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز با کمک اسید آسکوربیک باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود، بالا بودن فعالیت این آنزیم به معنی حذف بیشتر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه کاهش مرگ سلولی و افزایش مقاومت به خشکی است (Halliwell, 1982). نتایج این پژوهش با تحقیقات کبیری و همکاران نیت در مورد بررسی اثر تنش خشکی بر پروتئین و سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه سیاهدانه همسو می‌باشد (کبیری و همکاران، ۱۳۹۲).

سنتز و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان دهنده اثرات مفید این آنزیم در کاهش صدمات تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی می‌باشد. نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از بررسی صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های نخود درشرایط تنش خشکی(ابریشم‌چی و همکاران، ۱۳۹۱) مطابقت دارد.

نتایج حاضر نشان داد با افزایش دمای محیط وسعت بافت-

www.SID.ir

Archive of SID

های استحکامی افزایش وتعداد روزنه ها در مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه کاهش یافته است. ربیعی و همکاران (۱۳۹۱) اثر عوامل اقلیمی (شرایط مزرعه با آبیاری مناسب و محیط طبیعی) را بر ویژگی‌های تشریحی برگ در جمعیت‌های درمنه دشتی بررسی نمودند. نتایج این تحقیقات نشان داد ساختمان تشریحی برگ (ضخامت پارانشیم، ضخامت برگ، تعداد و طول روزنه ها) وابسته به شرایط محیطی است. نتایج بررسی ساختمان تشریحی برگ و دمبرگ با تحقیقات اربابیان و مقانلو (۱۳۸۸) همسویی دارد.

نتیجه گیری:

نتایج حاضر نشان داد فعالیت چهار آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در مرداد دو تا سه برابر بیشتر از اردیبهشت است. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها و نیز کاهش تعداد روزنه‌ها وافزایش وسعت بافت های استحکامی شامل فیبر، کلانشیم و چوب در نمونه های مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه سازگاری گونه گون گچی به شرایط تنش کم آبی و دمای بالا را نشان می‌دهد.

سپاسگزاری:

از همکاران بخش تنوع زیستی گیاهی سازمان حفاظت محیط زیست و نیز اداره کل حفاظت محیط زیست استان سمنان به خاطر همکاری صمیمانه شان در پیشبرد این تحقیق تشکر وقدردانی می گردد.

منابع:

ابریشم‌چی، پ.، گنجعلی، ع. و ساکنی، ه. (۱۳۹۱) بررسی صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) درشرایط تنش خشکی، نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران ۲: ۳۰-۱۷.

اربابیان، ص. و مقانلو، م. (۱۳۸۸) بررسی نوع و غلظت برخی تیمارهای هورمونی در کشت بافت گونه در معرض خطر انقراض، فصلنامه زیست شناسی تکوینی ۲: ۳٤-۲۵.

امینی، ز.، حداد، ر. و مرادی، ف.(۱۳۸۷) بررسی اثرتنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده در مراحل رشد زایشی گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.)، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ٤٦ :٦۵-۷٤.

ایلکایی، م.، فروزش، پ.، حبیبی، د.، طالقانی، د.ف.، رجبی، ا.، عروج نیا، س.، داوودی فرد.، م. (۱۳۹۱) بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف چغندر قند تحت شرایط خشکی، مجله زراعت و اصلاح نباتات۸: ۸۷-۹۹

حداد، ر.جلالی، م. (۱۳۸۸) بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تحت تنش کمبود آب در لاین‌های جو، فنآوری تولیدات گیاهی۲: ۱۰-۱.

پیوندی، م.، پرنده، ه.، میرزا، م.(۱۳۹۰) مقایسه تاثیر نانوکلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ریحان *Ocimum Basilicum*، تازه‌های بیوتکنولوژی٤: ۹۹-۸۹

ربیعی، م.، عصری، ی.، عباس عظیمی، ر. و دهقان، م.(۱۳۹۱) اثر عوامل اقلیمی بر ویژگی‌های تشریحی برگ در جمعیت‌های درمنه دشتی، زیست شناسی گیاهی ۱۳: ۷۰-۵۷.

ضرابی، م.م.، طلائی، ع. سلیمانی، ع. و حداد، ر. (۱۳۸۹) نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیائی شش رقم زیتون در برابر تنش خشکی، نشریه علوم باغبان (علوم و صنایع کشاورزی) ۲: ۲٤٤-۲۳٤.

عیسوند، ح.ر.، مداح عارفی، ح. و توکل افشاری، ر. (۱۳۸٤) بررسی شکستن خواب و جوانه زنی بذر در گون *Siligosus*، فصلنا مه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱: ۸٤-٦۷.

کبیری، ر.، نصیبی، ف. و فرح بخش، ح. (۱۳۹۲) مطالعه برخی پارامترهای اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه سیاهدانه در شرایط کشت هیدروپونیک، فرایند و کارکرد

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهی ۱: ۱۹-۱۱.

Asada, K. (1994) Photoinhibition of photosynthesis. From molecular mechanisms to the field. Bios Scientific Publishers, Oxford.

Ashraf, M., and Ali, Q. (2008) Relative memberane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola. Journal of Environmental and Experimental Botany 63: 266-273.

Bakalova, S., Nikolova, A. and Nedeva, D. (2004) Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. Journal of Plant Physiology 30: 64-77

Bor, M., Özdemir,F. and Türkan,I. (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritime* L. Plant Science, 164: 77-84.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. 72: 248-254.

Celina, M. L., Gabriela, M. P. and Simon, D. (2004) Drought and CAT gene expression in wheat. Journal of experimental Botany 56: 417-423.

Egert, M. and Tevini, M. (2002) Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoeenoprasum*). Environmental and Experimental Botany48: 43-49

Fediuc, E. and Erdei, L. (2002) Physiological and biochemical aspects of cadmium toxicity and protective mechanisms induced in *Phragmites Australis* and *Typha latifolia*. Journal of Plant Physiology 159: 265-271.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Halliwell, B. (1982) Superoxide dismutase (Vol.1). CRC press Inc., Florida.

Jung, S. (2004) Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of Arabidopsis thaliana subjected to drought. Plant Science 166: 459-466.

Kochert, G. (1978), Handbook of phycological Methods. Cambridge Univ . Press, Cambridge.

Korori, S. A. A. (1989) Gelelektrophores tische and spectral photometrischoe unter uchungen zomeinfiuss der temperature auf straktur and aktrits der amylase and peroxidase isoenzyme, Physiologie Vegetale 20: 15-23.

Mohamad khani, N. and Heidari, R. (2007) andTan et al. (2006) Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences 10: 3835-3840.

Neidzwiedz, I., Bogatek, R., Come, D. and Coibineau, F. (2004) Effects of drying rate on dehydration sensitivity of excised wheat seedling shoots as related to sucrose metabolism and antioxidant enzyme activities. Plant Science 167: 879-888.

Pereira, G. J. G., Molina , S. M. G., Lea, P. J. and Azevedo , R. A. (2002) Activity of antioxydaunt enzeme in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. Plant and Soil 239: 123-132.

Podlech, D. (1998) Phylogeny and progression of characters in Old World Astragali (Leguminosae)., in: 407Floristic characteristics and diversity of East Asian plants. (eds Zhang AL, Wu SG, and others). Pp 405- Springer Verlag Beijing: China Higher Education Press; Berlin

Polhill, R. M. (1981) Galegeae. In: Polhill (eds. R. M., Raven P. H.), Pp. 371-374, Advances in legume systematic, part 1. Royal Botanical Gardens, Kew,.

Rios, J. L. and Waterman, P. G. (1997) A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. Phytotherapy Research 11: 411-418.

Saez, F. (1995) Essential oil variability of Thmus hyemalis growing wild in south estern Spin Biochemical Systematic and Ecology 23: 431-438.

Tan, H., Liu, X. H., Ma, N., Xue, J. Q., Lu, W. J., Bai, J. H. and Gao, J. P. (2006) Ethylene-influenced flower opening and expression of genes encoding ETRs, CTRs, and EIN3s in two cut rose cultivars. Postharvest Biology and Technology 40: 97–105.

www.SID.ir