

تاثیر تنش دما بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ساختمان تشریحی گیاه گون گچی (*Astragalus fridae* Rech.f.) در منطقه شمال غرب 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: ۱۳۹۳/۰۳/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۲/۰۵)

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 شمال غرب 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 ۱۳۹۲) 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 سوپر اکسید 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:

پراکنش وسیع تر به خاورمیانه، آسیای مرکزی، آفریقا و اروپا کشیده می‌شوند (معصومی، ۱۳۷۹). اگرچه مصرف عمده گون به عنوان علوفه برای دامها و حیوانات وحشی می‌باشد، ولی از ۳۲ 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 ایندولزولیدین و ترکیب‌های نیتروآلیفاتیک و سلنیوم وجود دارند. از گون‌ها مواد دارویی

گون بزرگترین سرده گیاهان آوندی با حدود ۳۰۰۰ گونه یک ساله و چندساله در ۲۵۰ 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 ۸۰۴ گونه گون رویش دارد که از آن میان ۵۲۷ گونه معادل ۶۵٪ اندمیک ایران و ۲۷۷ گونه مشترک با کشورهای همسایه ترکیه، عراق، افغانستان و پاکستان می‌باشند که بعضی از آنها با

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: m_peyvandi@iau-tmb.ac.ir

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، ۱۳۸۴). 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 کاستانوسپرین 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: گلوکاتایون اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز 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 نسبتاً جوان گیاه گون گچی در اواسط ماه‌های

اردیبهشت (دمای حدود $25 \pm 2^\circ\text{C}$) و مرداد (دمای $25 \pm 2^\circ\text{C}$) 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 20°C 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 گلیسین 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 $12000 \times g$ دور به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفوژ شد. عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر -20°C 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. $2/5$ میلی لیتر بافر تریس HCl و ۶ میکرو لیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ با هم مخلوط شده و سپس به آن ۵۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن $1/1\%$ افزوده شد. بلافاصله عدد جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu, UV – 2101PC در طول موج ۲۴۰ نانومتر ثبت گردید. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های

به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت، پس از گذشت زمان مذکور و قطع نور جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ 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 احیای 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 ۱۰ ml 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 و به آن ۵ml سولفوریک اسید اضافه شد بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Jenway Genova در طول موج ۴۸۵nm 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 و علامت‌گذاری شد. برگ‌های این چهار بوته برای این پژوهش استفاده و هر آزمایش دست کم با ۴ 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 - گلیسرین (۱:۱) تثبیت شد. پس از تثبیت قطعات برگ و دمبرگ، برش دستی از آن‌ها تهیه و برای مراحل شفاف سازی و رنگ آمیزی آماده شدند رنگ آمیزی با سبز متیل - کارمن زاجی انجام شد.

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 (۱۹۹۴) 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 ۵۶۰ نانو متر سنجیده شد. به این ترتیب که متیونین ۱۳ میلی مولار، NBT، (نیترو بلو تترازولیوم) ۷۵ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار، ربیو فلاوین ۲ میکرو مولار را وزن کرده و حجم نهایی را به ۱۵۰ سی سی رساندیم. محلول ربیوفلاوین 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 ۵۰۰۰ LUX

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 معنی دار نیست (شکل ۱).

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: آنالیز واریانس داده های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو ماه اردیبهشت و مرداد، تفاوت معنی داری در میانگین فعالیت آن‌ها را در دو ماه نشان داد. فعالیت این آنزیم‌ها در مردادماه نسبت به اردیبهشت دو تا سه برابر افزایش یافت. به طوریکه فعالیت کاتالاز در هر دقیقه در هر میلی گرم پروتئین از 0.78 به 1.87 ، فعالیت پر اکسیداز در هر دقیقه در هر میلی گرم پروتئین از 21.12 به 66.30 ، فعالیت آسکوربات پر اکسیداز در هر دقیقه در هر میلی گرم پروتئین از 6.15 به 19.30 و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز برحسب واحد آنزیمی در هر گرم وزن تر برگ از 50 به 105 در نمونه‌های مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه افزایش داشت (شکل ۲).

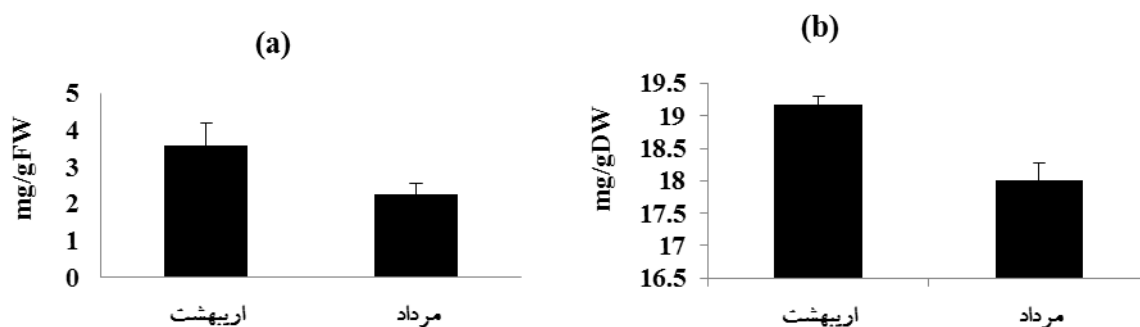
ساختار تشریحی برگ: در سطح هر دو اپیدرم زیرین و زیرین کرک‌های غده‌ای، محافظ و روزنه‌ها دیده می‌شوند. در گیاه گون گچی روزنه از نوع هم سطح با اپیدرم است. تیپ روزنه‌ها از نوع نامشخص سلولی (Anomocytic، تیپ آلاله) می‌باشند. تیپ آنیزوسیتیک نیز در این گونه مشاهده شد ولی تیپ آنموسیتیک غالبیت داشت (شکل ۳). مزوفیل 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 و در سطح زیرین 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 زیرین از نوع نردبانی می‌باشد. دسته‌های آوندی توسط غلاف آوندی احاطه شده‌اند (شکل ۲). منطقه رگبرگ اصلی نیز دارای اپیدرم زیرین و زیرین است که بافت‌های پارانشیمی و هادی را در بر گرفته 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 می‌شوند. همچنین در این بخش بدلیل فشردگی بافتی بیشتر سلول‌های پارانشیم به حالت اسفنجی قرار دارند. فیبر و اسکلرانشیم در مرداد ماه وسعت بیشتری داشت (شکل ۵).

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 در آن‌ها بافت آبکش در خارج و بافت چوب به سمت درون قرار گرفته است و در اطراف آوندهای آبکش کلاهک‌های فیبری مشاهده می‌شوند. 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 ۶).

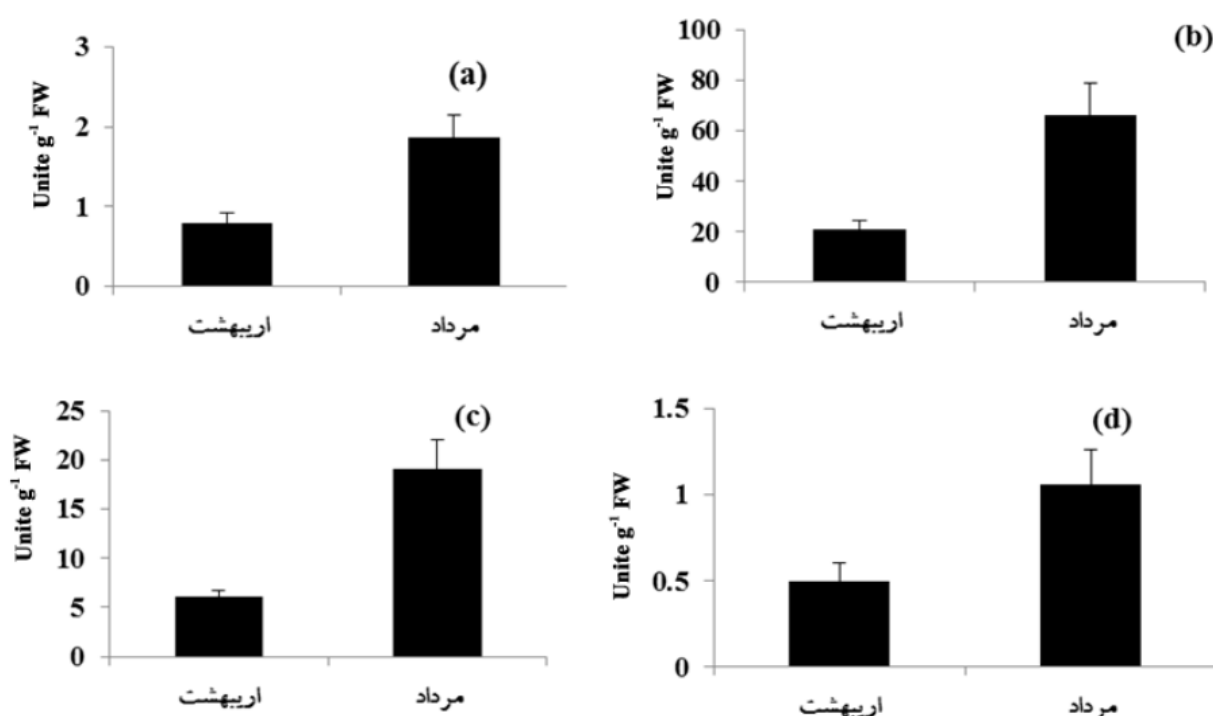
بحث:

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) بر روی 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



نمودارهای شکل

شکل ۱- میانگین مقدار پروتئین (a) و کربو هیدرات محلول (b) (mg.g⁻¹ D.W) در برگ گیاه گچی (Bar = SE)

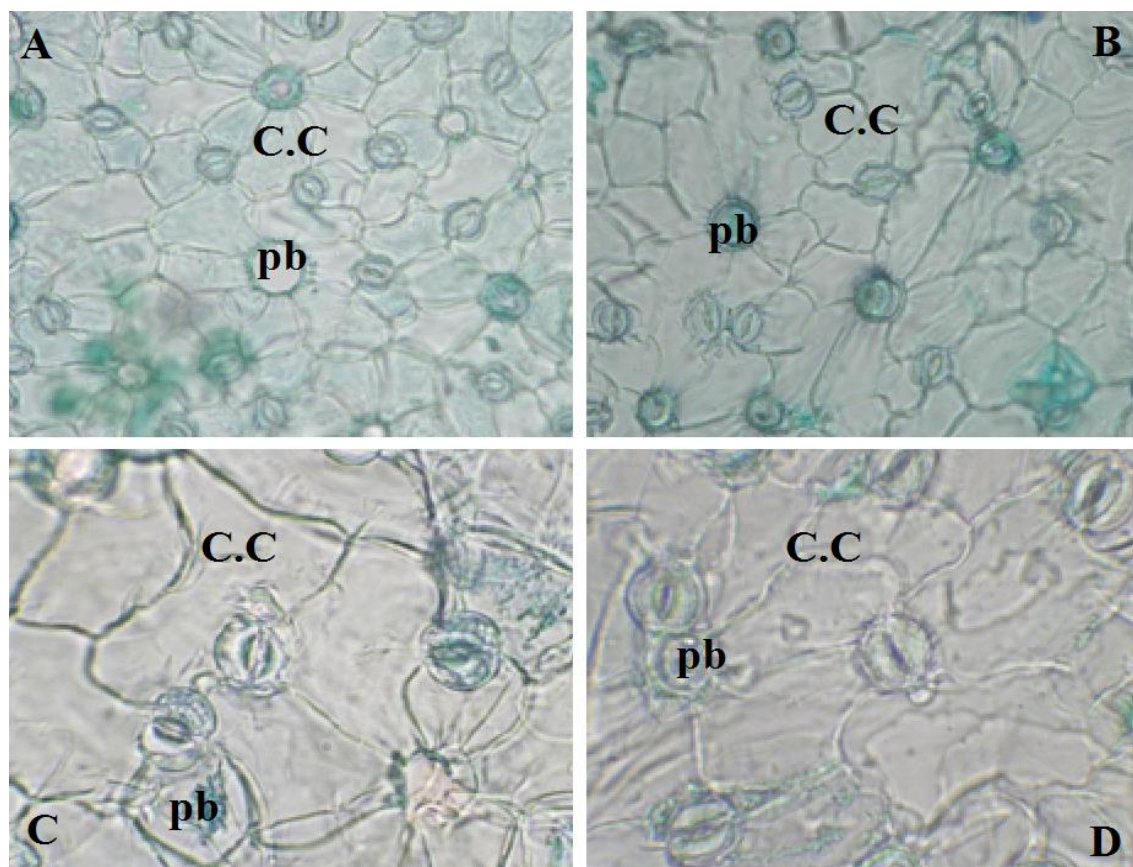


شکل ۲- فعالیت کاتالاز (a) ، پر اکسیداز (b) ، آسکوربات پر اکسیداز (c) در هر میلی گرم پروتئین در دقیقه و سوپراکسید دیسموتاز بر حسب واحد آنزیمی در هر گرم برگ گیاه گچی (Bar = SE)

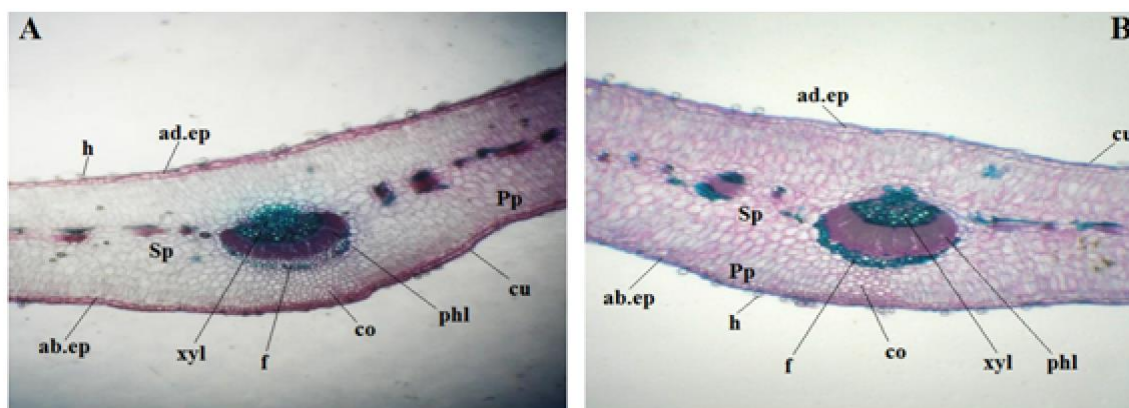
افزایش معنی‌داری را در مرداد ماه نسبت به اردیبهشت ماه دارد. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها، مقابل تنش ناشی از کمبود آب در گیاهان مختلف نظیر گندم (Neidzwiedz *et al.*, 2004) و چغندر قند (ایلکایی و همکاران، ۱۳۹۱) نشان داده شده است. فعالیت آنزیم کاتالاز در مردادماه بیش از دوبرابر فعالیت آن در اردیبهشت ماه بود. 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

(Fediuc and Frdei, 2002).

در گیاهان پیشرفته جاروب گونه‌های فعال اکسیژنی از چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان تشکیل شده است که مهم‌ترین آن‌ها شامل: گلوکاتیون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز 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



شکل ۳- اپیدرم برگ گیاه گون گچی A: اپیدرم تحتانی اردیبهشت ماه (بزرگنمایی 400X). B: اپیدرم تحتانی مرداد ماه (بزرگنمایی 400X) C: اپیدرم فوقانی اردیبهشت ماه (بزرگنمایی 1000X). D: اپیدرم فوقانی مرداد ماه (بزرگنمایی 1000X). سلول همراه (C.C)، پایه کرک (pb).

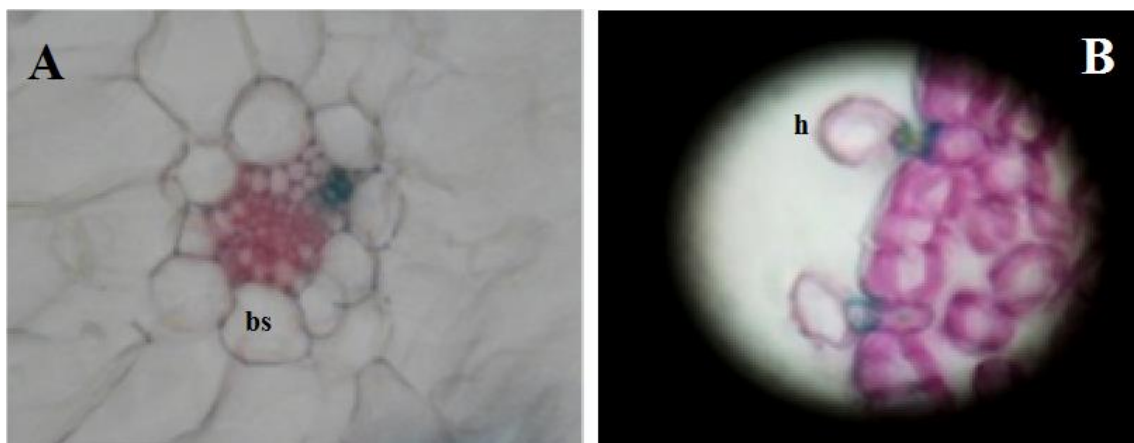


شکل ۴- برش عرضی برگ گیاه گون گچی A: اردیبهشت ماه (بزرگنمایی 100X) B: مرداد ماه (بزرگنمایی 100X) h: کرک، ad.ep: اپیدرم فوقانی، ab.ep: اپیدرم تحتانی، co: کلانشیم، phl: آوند آبکش، xyl: آوند چوب، P.p: پارانشیم نردبانی، S.p: پارانشیم اسفنجی، cu: کوتیکول، f: فیبرو اسکلرانشیم.

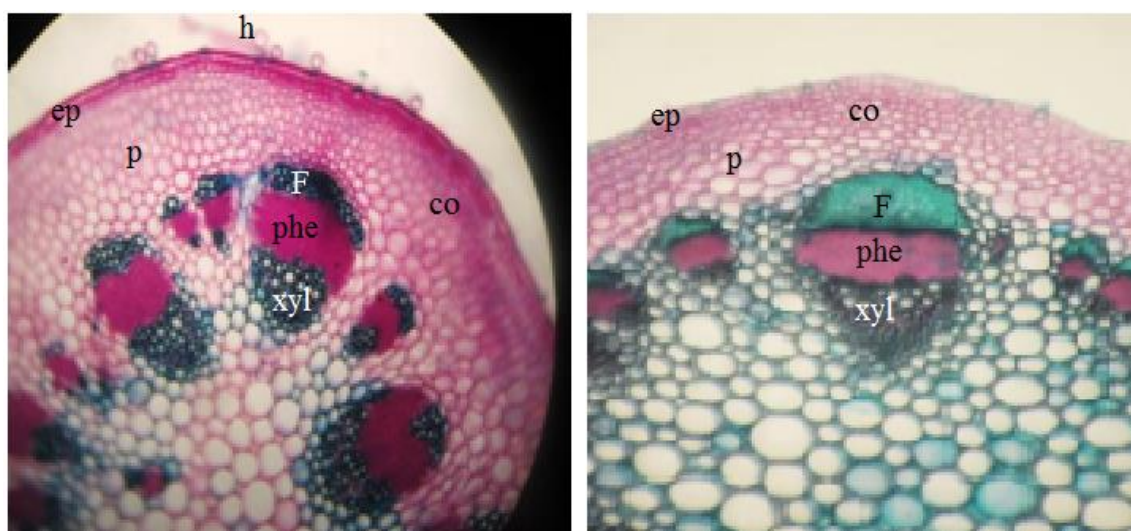
دارد.

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

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



شکل ۵- تصاویری از دسته‌های آوندی و کرک‌های غده‌ای در برگ گیاه گون گچی در اردیبهشت A: غلاف آوندی (bs) (بزرگنمایی 1000×) و B: کرک‌های غده‌ای (h) (بزرگنمایی 1000×)



شکل ۶- برش عرضی دمبرگ گیاه گون گچی. A: اردیبهشت ماه (بزرگنمایی 100×). B: مرداد ماه (بزرگنمایی 100×) - h: کرک، ep: اپیدرم، co: کلانشیم، p: پارانشیم، phe: آوند آبکش xyl: آوند چوب، pi: پارانشیم مغز، F: کلاهک فیبری

(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 در شرایط تنش خشکی (ابریشم‌چی و همکاران، ۱۳۹۱) مطابقت دارد.

نتایج حاضر نشان داد با افزایش دمای محیط وسعت بافت-

بیوشیمیایی 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 می‌شود (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

های استحکامی افزایش و تعداد 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 ویژگی های تشریحی برگ در جمعیت های 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 مقالو (۱۳۸۸) همسویی دارد.

نتیجه گیری:

نتایج حاضر نشان داد فعالیت چهار آنزیم کاتالاز، پراکسیداز،

منابع:

- ابریشم چی، پ.، گنجعلی، ع. و ساکنی، ه. (۱۳۹۱) بررسی صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ژنوتیپ های نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط تنش خشکی، نشریه پژوهش های حبوبات ایران ۳۰: ۱۷-۳۰.
- اربابیان، ص. و مقالو، م. (۱۳۸۸) بررسی نوع و غلظت برخی تیمارهای هورمونی در کشت بافت گونه در معرض خطر انقراض، فصلنامه زیست شناسی تکوینی ۲: ۳۴-۲۵.
- امینی، ز.، حداد، ر. و مرادی، ف. (۱۳۸۷) بررسی اثر تنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیم های ضد اکسنده در مراحل رشد زایشی گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.)، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۴۶: ۶۵-۷۴.
- ایلکایی، م.، فروزش، پ.، حبیبی، د.، طالقانی، د. ف.، رجبی، ا.، عروج نیا، س.، داوودی فرد، م. (۱۳۹۱) بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ های مختلف چغندر قند تحت شرایط خشکی، مجله زراعت و اصلاح نباتات ۸: ۸۷-۹۹.
- حداد، ر. جلالی، م. (۱۳۸۸) بررسی میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تحت تنش کمبود آب در لاین های جو، فناوری

آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در مرداد دو تا سه برابر بیشتر از اردیبهشت است. افزایش فعالیت این آنزیم ها و نیز کاهش تعداد روزنه ها و افزایش 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 می دهد.

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 و قدردانی می گردد.

تولیدات گیاهی ۲: ۱۰-۱.

- پیوندی، م.، پرنده، ه.، میرزا، م. (۱۳۹۰) مقایسه تاثیر نانوکلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ریحان *Ocimum Basilicum*، تازه های بیوتکنولوژی ۴: ۹۹-۸۹.
- ربیعی، م.، عصری، ی.، عباس عظیمی، ر. و دهقان، م. (۱۳۹۱) اثر عوامل اقلیمی بر ویژگی های تشریحی برگ در جمعیت های درمنه دشتی، زیست شناسی گیاهی ۱۳: ۷۰-۵۷.
- ضرابی، م. م.، طلائی، ع.، سلیمانی، ع. و حداد، ر. (۱۳۸۹) نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی شش رقم زیتون در برابر تنش خشکی، نشریه علوم باغبان (علوم و صنایع کشاورزی) ۲: ۲۴۴-۲۳۴.
- عیسونند، ح. ر.، مداح عارفی، ح. و توکل افشاری، ر. (۱۳۸۴) بررسی شکستن خواب و جوانه زنی بذر در گونه *Siligosus*، فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱: ۸۴-۶۷.
- 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

- Kochert, G. (1978), Handbook of phycollogical Methods. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Korori, S. A. A. (1989) Gelelektrophores tische and spectral photometrischoe unter uchungen zomeinfluss der temperature auf straktur and aktrits der amylase and peroxidase isoenzyme, Physiologie Vegetale 20: 15-23.
- Mohamad khani, N. and Heidari, R. (2007) and Tan 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: 407 Floristic 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.
- 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 Botany 48: 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.