نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره ویژه: پژوهش‌های فیزیولوژی گیاهی، سال نهم، شماره ویژه بهار ۱۳۹۳ / صفحات: ۲۱۵-۲۰۵

بررسی اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی *Oenothera biennis* L.

مریم رجبی[۱]، مه لقاقربانلی*[۲]، علی جعفری مفیدآبادی[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان

[۲] استاد، گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان

[۳] دانشیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۵ تاریخ پذیرش:۹۳/۳/۲۰

چکیده

به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی گل مغربی، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار انجام شد. تنش خشکی در سه سطح بر اساس ظرفیت زراعی شامل۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد اعمال شد. نتایج نشان داد که تأثیر تنش خشکی بر میزان پرولین، قندهای محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. نتایج این بررسی نشان داد که گیاه، برای مقاومت به خشکی مقدار پرولین و قندهای محلول را افزایش داد. با اعمال سطوح مختلف خشکی، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز، افزایش در حالی که فعالیت پراکسیداز، کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، خشکی، کاتالاز، گل مغربی

مقدمه

گل مغربی با نام علمی *Oenothera biennis* و با نام عمومی Evening primrose، گیاهی است علفی، دوساله با گل‌های زرد رنگ، متعلق به خانواده Onagraceae که بومی مناطق شرقی و مرکزی آمریکای شمالی می‌باشد. بذر گل مغربی حاوی ۱۵ تا ۲۰ درصد روغن است. این گیاه حاوی اسیدهای چرب لینولئیک (۷۰ درصد) و گاما لینولنیک (۱۰ درصد) (Honermeier and Ghasemnezhad, 2008) می‌باشد که سنتز پروستاگلاندین E1 را تسهیل می‌کند (Cornish and Madrona, 2008). گل مغربی دارای ترکیبات پلی فنولیک و تانن نیز بوده که تحقیقات نشان می‌دهد دارای فعالیت ضدسرطانی می‌باشد (Miyamoto et al., 1987). برگ‌های گل مغربی حاوی ترکیب‌های قندی، اوانوترین (Oenotherine)، کامپفرول (kaempferol)، کوئرسیتین (quercetin) می‌باشد. گل‌ها نیز حاوی مواد رنگیزه‌ای زرد است (Artz, 2007). علاوه بر این روغن این گیاه دارای اثرات ضدالتهابی، ترمیم کننده سریع زخم‌ها، مهار تجمع پلاکت‌ها و نیز مؤثر در درمان بیماری‌های پوستی مانند اگزمای حساسیتی و درمان عفونت‌های ویروسی است. از آنجاییکه گیاه دارویی گل مغربی یک منبع فعال وابسته به رژیم غذایی طبیعی و زیستی از اسیدهای چرب اشباع نشده مخصوصاً گاما لینولنیک اسید می‌باشد؛ این گیاه در صنایع دارویی، بسیار پر اهمیت است (Cornish and Madrona, 2008). در اکوسیستم‌های زراعی و طبیعی، عواملی

*نویسنده مسئول: mahlaghaghorbanli@gmail.com

مانند رطوبت، آب، عناصر غذایی، نور، ارتفاع و... عوامل اساسی و تعیین کننده در کیفیت و کمیت گیاهان هستند. تنش آب همواره زیان آور نیست و در بعضی شرایط، تنش جزئی آب با وجودی که رشد را تقلیل می‌دهد می‌تواند در بهبود کیفیت محصولات گیاهی مؤثر واقع شود (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۷۱). گیاهان در تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، گرما و غیره با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می کنند. در حقیقت تنظیم اسمزی از طریق تولید بیشتر انواع مختلف مواد آلی مانند پرولین، پروتئین، بتائین و قندهای محلول، در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی صورت می‌گیرد (Johari-Pireivatlou, 2010; Ahmad and Sharma, 2010).

پرولین یکی از اسید آمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی می باشد که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به سزایی دارد. در برخی از گیاهان در مراحل اولیه تنش کم آبی، چندین اسید آمینه افزایش می یابد که با ادامه کم آبی فقط اسید آمینه پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می شود (Rajinder, 1987). پرولین علاوه بر اینکه یک ماده محافظ اسمزی می باشد، در حفظ تعادل آب، حفظ ثبات پروتئین‌ها، کاهش خطرات حاصل از تولید ROS، جاروب کردن رادیکال‌های هیدروکسیل، خاموش کردن اکسیژن یکتایی و تنظیم pH سلولی نقش دارد (Verbruggen and Hermans, 2008). Cunhua و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که میزان پرولین در شرایط تنش خشکی در گیاه تاج خروس افزایش یافت.

قندهای محلول به‌عنوان محافظت کننده‌های اسمزی در تنظیم اسمزی سلول نقش دارند و در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع می یابند و تعیین میزان قندهای محلول ممکن است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (Pagter et al., 2005). قندهای محلول به‌عنوان تنظیم کننده‌های اسمزی، ثبات‌دهنده غشاهای سلولی و حفظ کننده تورژسانس سلول‌ها، عمل می‌کنند. در حقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می‌یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می‌گیرد (Slama et al., 2007). تحقیقات نشان داده است که تحت شرایط تنش خشکی، افزایش میزان ساکارز به نشاسته و تجزیه نشاسته صورت گرفت که نقش مهمی در تنظیم اسمزی ایفا می‌کند (Farooq et al., 2009). Rahdari و همکاران (۲۰۱۲) طی پژوهشی اظهار داشتند با افزایش تنش خشکی در گیاه دارویی *Portulaca oleracea* میزان قندهای محلول به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. صفی خانی (۱۳۸۵) مشاهده کرد که با اعمال تیمارهای ٤٠، ٦٠ و ١٠٠ درصد ظرفیت زراعی بر روی گیاه دارویی بادرشبو، بیشترین میزان پرولین و قندهای محلول مربوط به تیمار ٤٠ درصد ظرفیت زراعی بود.

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مهمترین تر کیبات در سیستم‌های جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) هستند و اولین راه دفاعی در برابر صدمات اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند. آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از غشاها در مقابل اثرات مخرب ROSها که در برابر تنش غیر زنده تولید می‌شوند محافظت می کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی هم چون خشکی می شوند. Mohammad khani and Heidari(۲۰۰۷)، نشان دادند تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در دو گونه ذرت شد و همچنین همبستگی مثبتی بین سطوح تنش با فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی وجود داشت که این امر نشان دهنده میزان مقاومت گیاه در برابر خشکی می‌باشد. هدف از این بررسی ارزیابی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر میزان اسیدآمینه پرولین، قندهای محلول و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاه دارویی گل مغربی بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش بذر گل مغربی از مرکز تولید و فرآوری گیاهان دارویی (شرکت گیاه اسانس) دکتر سلیمانی واقع در جنگل توسکستان تهیه شد. در نیمه دوم اردیبهشت ماه، تعداد ۵۰ عدد بذر در گلدان‌هایی با اندازه متوسط، به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر و قطر دهانه، ۱۷ سانتی‌متر، حاوی خاک برگ و خاک پیت ماس پرلیت دار (به نسبت ۲:۱)، در عمق ۱ سانتی‌متری سطح خاک کاشته شد. مکان مورد آزمایش در محلی سرپوشیده، با آب و هوای معتدل و مرطوب در جنوب شهر گرگان قرار داشت. تارسیدن گیاهان به مرحله ۸ برگی، آبیاری به‌صورت روزانه و به میزان یکسان برای هر گلدان انجام شد. در این فاصله، به‌دلیل انبوه شدن گیاهچه‌ها، اقدام به تنک سازی گیاهچه‌ها شد. پس از رسیدن بیشتر گیاهان به مرحله ۸ برگی، تنش خشکی بر اساس ظرفیت زراعی خاک اعمال شد. تنش در سه سطح بر اساس ظرفیت زراعی (شامل: شاهد با آبیاری روزانه برابر ظرفیت زراعی که معادل ۲۵۵میلی‌لیترآب برای هرگلدان، تیمار تنش خشکی متوسط با آبیاری روزانه برابر ۷۵ درصد ظرفیت زراعی که معادل۱۹۰ میلی‌لیتر آب و تیمار تنش خشکی شدید با آبیاری روزانه برابر۵۰درصد ظرفیت زراعی که معادل ۱۲۷ میلی‌لیتر آب برای هر گلدان تعیین شده بود) به مدت ۱۵ روز اعمال شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار انجام شد.

سنجش میزان پرولین (Bates, 1973): ۰/۲ گرم وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه، پس از توزین، در ۵ میلی‌لیتر اسید سولفو سالیسیلیک ۳ درصد (آبی) سائیده شد و همگن حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن، صاف گردید. از عصاره حاصل، ۱ میلی‌لیتر در لوله آزمایش ریخته شد و بر روی آن ۱ میلی‌لیتر اسید نین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک خالص اضافه گردید. لوله‌های آزمایش، در حمام آب گرم به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. بلافاصله بعد از خارج کردن لوله‌ها از حمام آب گرم به درون ظروف محتوی آب یخ (جهت متوقف شدن واکنش) منتقل شدند. در این مرحله به هر لوله آزمایش ۲ میلی لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه به شدت تکان داده شد تا اینکه دو لایه مجزا از یکدیگر تشکیل گردید. بخش رنگی بالایی دارای تولوئن از بخش پایینی (آبی) توسط سرنگ جدا شده و در دمای آزمایشگاه خنک گردید. میزان جذب بخش بالایی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از شاهد تولوئن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین براساس وزن تر محاسبه گردیدند. اسید نین هیدرین بوسیله گرم کردن تدریجی ۱/۲۵ گرم نین هیدرین در۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک خالص حل شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار اضافه شد. برای محاسبه غلظت نمونه‌ها، محلول‌های شاهد از ۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومول بر لیتر پرولین تهیه و کلیه مراحل کار بر روی یک میلی‌لیتر از هر کدام آنها تکرار گردید. سپس با استفاده از اعداد جذب خوانده شده منحنی استاندارد مقدار پرولین نمونه‌ها ارزیابی گردید.

سنجش میزان قندهای محلول (Kochert, 1978)

روش فنل – اسید سولفوریک: مقدار مشخصی از برگ و ریشه گیاه در درجه حرارت ۷۰ سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت داخل آون خشک شدند. سپس به ۰/۱ گرم برگ خشک شده ی خرد شده، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ افزوده و در یخچال به مدت یک هفته قرار داده شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول بالایی برداشته و با آب مقطر به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به محلول فوق اضافه گردید و در نهایت جذب در

طـول مـوج ٤٨٥ nm در مقابـل شـاهد مناسـب (١ میلی‌لیتـر اتـانول ٧٠٪ + ١ میلی‌لیتـر آب مقطـر + ١ میلی‌لیتر فنل ٥٪ + ٥ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ) بعد از نیم ساعت جهت خنک شدن، قرائت شد. برای یـافتن غلظـت قنـدهای محلـول (C) توسـط منحنـی استاندارد، از گلـوکز بـا غلظت‌هـای مختلـف اسـتفاده گردید. پس از ترسیم منحنی، معادله C = (b. ABS)+a مشخص گردید. سپس جـذب‌هـای خوانـده شـده در اسپکتروفتومتر در معادله فوق جایگزین و مقـدار قنـد در گرم وزن خشک نمونه گیاهی (M) محاسبه گردید.

سنجش آنزیم‌های آنتی اکسـیدانی: جهـت سـنجش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ابتدا عصاره آنزیمی استخراج گردید. جهت تهیه محلـول عصـاره گیـری، ١/٢ گـرم تریس و ٢ گرم اسید آسکوربیک و ٣/٨ گرم بـوراکس (دی سدیم تترا بورات) و ٢ گـرم $EDTANa_2$ و ١٦/٦ گرم پلی اتیلن گلیکول ٦٠٠٠ با هم مخلوط گردیـد و به حجم ١٠٠ میلی لیتر رسانیده شد. جهـت اسـتخراج عصاره آنزیمی، ١ گرم نمونه بـا ٤ میلـی لیتـر محلـول عصاره گیری فوق همگن سازی شد. پس از قرار دادن محلول در دمای ٤ درجه به مدت ٢٤ ساعت، به مدت نـیم سـاعت بـا دور ٤٠٠g، سـانتریفیوژ ودر یخچـال، جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسـیداز و پلی فنل اکسیداز نگهداری شد.

سـنجش فعالیـت آنـزیم کاتـالاز (Chance and Maehly, 1995): ٢/٥ میلی‌لیتـر بـافر فسـفات ٠/٠٥ مولار با ٠/٢ میلی‌لیتـر آب اکسـیژنه ٣ درصـد بـا ٠/٢ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلـوط گردیـد و جـذب در طول موج ٢٤٠ نانومتر خوانده شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (Koroi, 1989): ٢ میلی‌لیتـر تـامپون اسـتات ٠/٢ مـولار (pH 5)، بـا ٠/٤ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ٣ درصد و ٠/٢ میلی‌لیتر بنزیدین محلول در الکل ٥٠ درجه ٠/٠١ مولار با هـم مخلـوط گردید. سپس پـس از افـزودن ٠/١ میلـی‌لیتـر عصـاره آنزیمی، جـذب محلـول در طـول مـوج ٥٣٠ نـانومتر قرائت گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (Kar and Mishra, 1976): ١/٥ میلی‌لیتر بافر فسفات ٠/٢ مولار با ٠/٤ میلی‌لیتر پیروگالل ٠/٠٢ مـولار و ٠/١ میلی‌لیتـر عصاره آنزیمی مخلوط شد یه مدت ٣ دقیقه در دمـای اتاق گذاشته سپس جـذب آن را در طـول مـوج ٤٣٠ نانومتر خوانده شد.

تجزیه واریانس داده‌ها به کمک نرم افزار Spss بـا نسخه ١٦ و مقایسه میانگین داده‌ها بـه کمـک آزمـون دانکن در سطح ٥ درصـد انجـام شـد و نمودارهـا بـا استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج

نتایج نشان داد که تـأثیر تـنش خشـکی بـر میـزان پرولین، قندهای محلول و آنزیم‌های آنتـی اکسـیدانی، در سطح ٥ درصد معنی دار بود (جدول ١).

بررسی اثر تـنش خشـکی بـر محتـوای پـرولین و قندهای محلول: با اعمال تنش خشکی میزان پـرولین و قندهای محلول در اندام هوایی و ریشـه، نسـبت بـه شاهد افزایش یافـت. میـزان پـرولین ریشـه، در تـنش خشـکی متوسـط معـادل آبیـاری ٧٥ درصـد ظرفیـت زراعی، افزایش یافت و با افزایش سطح تنش، تغییری نسبت به تنش متوسـط مشـاهده نشـد. در واقـع بـین تیمار تنش متوسط و شدید از لحـاظ آمـاری، تفـاوت معنی‌داری در سطح ٥ درصد دیده نشد. میزان پـرولین اندام هوایی، در تنش متوسط نسبت به شـاهد تغییـری نداشت اما در تنش شدید، افزایش داشت. بـه عبـارت دیگر بین تیمارهـای شـاهد و تـنش متوسـط، تفـاوت معنی داری نبود در حالیکه بین تنش متوسط و شدید، این تفاوت، معنی‌دار بود. میزان تجمع پرولین در همـه تیمارها در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود (شـکل ١). میزان قندهای محلول اندام هـوایی، در تـنش خشـکی

متوسط معادل آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت و با افزایش سطح تنش، تفاوت معنی‌داری نسبت به تنش متوسط مشاهده نشد. میزان قندهای محلول ریشه در تنش متوسط نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد اما در تنش شدید، اختلاف معنی‌داری دیده شد. تجمع قندهای محلول در تیمار خشکی شدید معادل آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود اما در سایر تیمارها، مقدار آن در اندام هوایی بالاتر بود (شکل ۲).

بررسی اثر تنش خشکی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز اندام هوایی و ریشه در تنش خشکی شدید، افزایش یافت. میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز در تنش شدید معادل آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود، بین شاهد و تیمار خشکی متوسط، در اندام هوایی و ریشه از لحاظ آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. (شکل ۳). فعالیت آنزیم کاتالاز، با اعمال تنش، در هر دو بخش اندام هوایی و ریشه، افزایش یافت. البته سطح این افزایش در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود. در میزان فعالیت کاتالاز ریشه و اندام هوایی، اختلاف معنی‌داری بین سطوح خشکی متوسط و خشکی شدید، دیده نشد (شکل ٤).

طبق نتایج بدست آمده (شکل ۵)، فعالیت پراکسیداز اندام هوایی و ریشه با اعمال تنش خشکی، کاهش یافت. در واقع بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در شاهد، مشاهده شد. در پراکسیداز اندام هوایی، بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. اما در پراکسیداز ریشه، بین تیمارها تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد وجود نداشت.

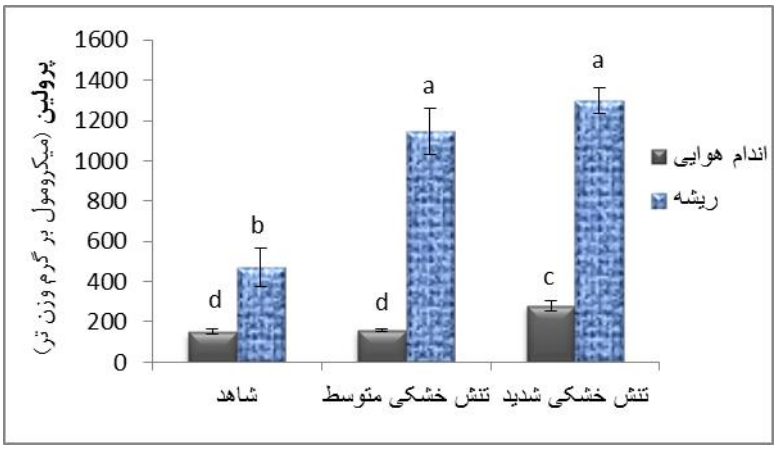
جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی گل مغربی تحت تأثیر تنش خشکی

صفات مورد اندازه‌گیری	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F بدست آمده	Sig. سطح معنی داری
پرولین (اندام هوایی)					
بین تیمارها	٤٢٥٣١/٧٢٨	٢	٢١٢٦٥/٨٦٤*	١٨/٠٠٢	٠/٠٠١
درون تیمارها	١٠٦٣١/٤٨٥	٩	١١٨١/٢٧٦		
کل	٥٣١٦٣/٢١٣	١١			
پرولین (ریشه)					
بین تیمارها	١٥٥٠٧٢٤/٩٧٧	٢	٧٧٥٣٦٢/٤٨٨*	٢٢/٩٧٣	٠/٠٠٠
درون تیمارها	٣٠٣٧٦٤/٠٠٤	٩	٣٣٧٥١/٥٥٦		
کل	١٨٥٤٤٨٨/٩٨١	١١			
قندهای محلول (اندام هوایی)					
بین تیمارها	٠/١٦٦	٢	٠/٠٨٣	٣/٤٧٢	٠/٠٧٦
درون تیمارها	٠/٢١٥	٩	٠/٠٢٤		
کل	٠/٣٨٠	١١			
قندهای محلول (ریشه)					
بین تیمارها	٠/٨٣٠	٢	٠/٤١٥*	١٩/٢٨٤	٠/٠٠١
درون تیمارها	٠/١٩٤	٩	٠/٢٢		
کل	٠/٠٢٣	١١			

ادامه جدول ۱:

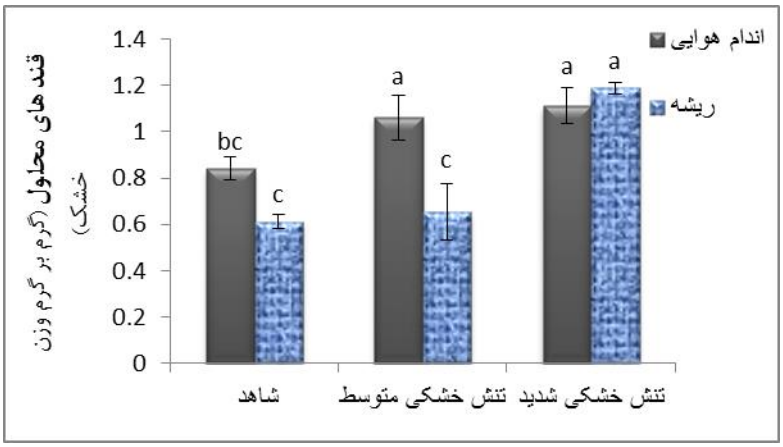
کاتالاز(اندام هوایی)					
بین تیمارها	۰/۰۰۷	۲	۰/۰۰۳	۲/۹۸۷	۰/۱۰۱
درون تیمارها	۰/۰۱۰	۹	۰/۰۰۱		
کل	۰/۰۱۷	۱۱			
کاتالاز (ریشه)					
بین تیمارها	۰/۰۴۹	۲	۰/۰۲۴*	۴/۸۵۳	۰/۰۳۷
درون تیمارها	۰/۰۴۵	۹	۰/۰۰۵		
کل	۰/۰۹۴	۱۱			
پراکسیداز(اندام هوایی)					
بین تیمارها	۰/۰۹	۲	۰/۰۰۴*	۲۱/۲۶۲	۰/۰۰۰
درون تیمارها	۰/۰۲	۹	۰/۰۰۰		
کل	۰/۰۱۰	۱۱			
پراکسیداز(ریشه)					
بین تیمارها	۰/۰۰۵	۲	۰/۰۰۳	۲/۶۷۴	۰/۱۲۳
درون تیمارها	۰/۰۰۹	۹	۰/۰۰۱		
کل	۰/۰۱۴	۱۱			
پلی فنل اکسیداز(اندام هوایی)					
بین تیمارها	۰/۶۹۲	۲	۰/۳۴۶*	۳۶/۷۴۹	۰/۰۰۰
درون تیمارها	۰/۰۸۵	۹	۰/۰۰۹		
کل	۰/۷۷	۱۱			
پلی فنل اکسیداز(ریشه)					
بین تیمارها	۰/۰۱۴	۲	۰/۰۰۷*	۱۳/۵۸۲	۰/۰۰۲
درون تیمارها	۰/۰۰۵	۹	۰/۰۰۱		
کل	۰/۱۸	۱۱			

*sig≤0.05، وجود اختلاف معنی‌دار



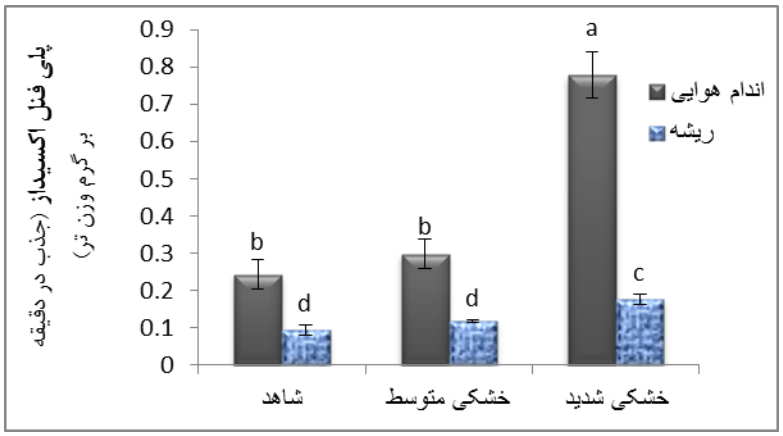
شکل ۱: مقایسه اثر سطوح تنش خشکی بر میزان پرولین اندام هوایی و ریشه گل مغربی

(شاهد= ظرفیت زراعی، تنش خشکی متوسط= ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، تنش خشکی شدید = ۵۰ درصد ظرفیت زراعی)



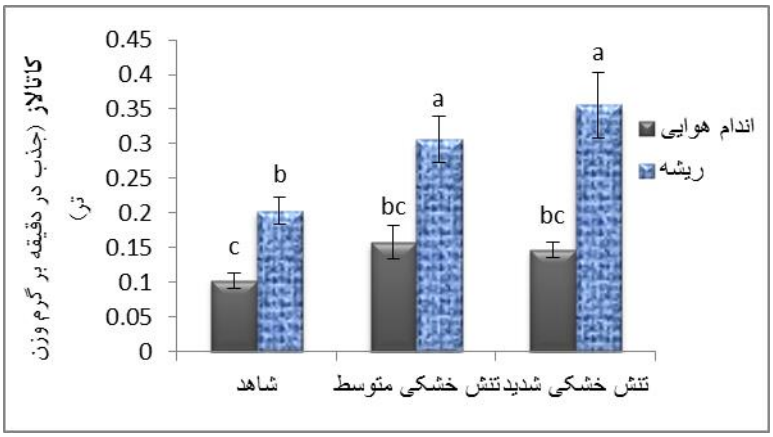
شکل ۲: مقایسه اثر سطوح تنش خشکی بر محتوای قندهای محلول اندام هوایی و ریشه گل مغربی

(شاهد= ظرفیت زراعی، تنش خشکی متوسط= ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، تنش خشکی شدید= ۵۰ درصد ظرفیت زراعی)



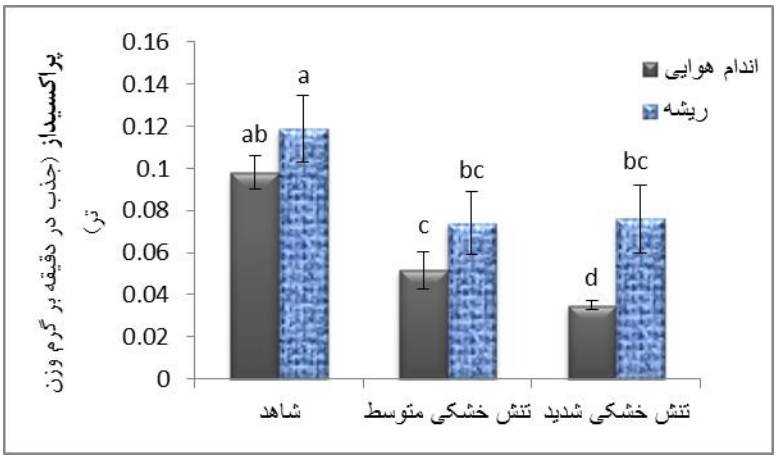
شکل۳: مقایسه اثر سطوح تنش خشکی بر میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز اندام هوایی و ریشه گل مغربی

(شاهد= ظرفیت زراعی، تنش خشکی متوسط= ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، تنش خشکی شدید= ۵۰ درصد ظرفیت زراعی)



شکل٤: مقایسه اثر سطوح تنش خشکی بر میزان فعالیت کاتالاز اندام هوایی و ریشه گل مغربی

(شاهد= ظرفیت زراعی، تنش خشکی متوسط= ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، تنش خشکی شدید= ۵۰ درصد ظرفیت زراعی)



شکل ۵: مقایسه اثر سطوح تنش خشکی بر میزان فعالیت پراکسیداز اندام هوایی و ریشه گل مغربی
(شاهد= ظرفیت زراعی، تنش خشکی متوسط= ۷۵درصد ظرفیت زراعی، تنش خشکی شدید= ۵۰درصد ظرفیت زراعی)

بحث

در این پژوهش به نظر می‌رسد، افزایش مقدار پرولین تحت تنش خشکی هم مربوط به خاصیت اسمولیتی آن و هم مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی آن در شرایط تنش باشد. نقش ویژه پرولین در گیاهانی که در معرض خشکی قرار گرفته اند، به اثبات رسیده است و میزان تجمع آن در گیاهان متحمل به تنش بیش از ارقام حساس است (Bates et al., 1973).

Rahdari و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند با افزایش تنش خشکی توسط غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول، افزایش قابل توجه ای در میزان پرولین برگ‌های گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) دیده شد. افزایش میزان پرولین در گیاهان مختلف تحت تنش خشکی مانند بامیه (Baghizadeh et al., 2009)، ریحان (Soha et al., 2010)، مرزه (Yazdanpanah et al., 2011) به اثبات رسیده است.

در شرایط تنش، گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله قندهای محلول، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد و به عبارتی تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد (Johari-Pireivatlou, 2010; Ahmad and Sharma, 2010). طبق نتایج این پژوهش، خشکی موجب افزایش قندهای محلول نیز گردید. به نظر می‌رسد علت افزایش قندهای محلول در شرایط تنش، بالا بردن مقاومت گیاه به دلیل تنظیم فشار اسمزی سلول می‌باشد. Cunhua و همکاران (۲۰۱۱) بیان داشتند که میزان قندهای محلول درشرایط تنش خشکی در گیاه تاج خروس افزایش یافت. Pirzad و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که با اعمال تیمارهای ۵۵، ۷۰، ۸۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بر روی گیاه دارویی *Matricaria chamomilla*، بیشترین میزان پرولین و قندهای محلول مربوط به تیمار ۵۵ درصد ظرفیت زراعی بود.

تحقیقات نشان داده که پلی فنل اکسیدازها بیشتر در حضور دی فنل‌ها فعال می شوند. Dicko و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی پنجاه واریته از سورگوم به این نتیجه رسیدند که دی فنل‌ها بیشتر از مونو فنل‌ها باعث افزایش فعالیت پلی‌فنل اکسیدازی می‌شوند و قابل توجه این که واریته‌هایی که میزان فعالیت پلی‌فنل اکسیدازی آن‌ها بیشتر بود مقاومت بیشتری نسبت به تنش‌ها نشان دادند، که تأیید می‌کند این آنزیم در بردباری تنش‌های زنده و غیرزنده و رقابت با دیگر گیاهان درگیر است. در این بررسی نیز

فعالیت پلی فنل اکسیداز، با افزایش شدت تنش خشکی، افزایش یافت.

در پژوهش حاضر میزان فعالیت کاتالاز با افزایش تنش خشکی افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرد. به نظر می‌رسد فعالیت آنزیم کاتالاز از این جهت افزایش یافت تا به عنوان اسمولیت سازگار و آنزیم ضد رادیکال‌های آزاد اکسیژن، ضمن محافظت از ماکرو مولکول‌ها و غشاهای سلول، آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در اثر تنش خشکی به وجود آمده را خنثی کند. چنین به نظر می‌رسد که در شرایط تنش خشکی، افزایش غلظت پراکسید هیدروژن توسط فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای تجزیه پراکسید هیدروژن می گردد (مدرس ثانوی و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی در گیاه *Macrotyloma uniflorum* توسط Bhardwaj و Yadav (۲۰۱۲) نیز گزارش شده است.

نتایج نشان داد میزان فعالیت پراکسیداز با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌دلیل عدم تعادل بین اجرای مکانیسم‌های دفاعی است که سبب عملکرد ضعیف آنها می شود. بدین ترتیب با تجمع فرم‌های فعال اکسیژن، نقاط کلیدی متابولیسم و مکانیسم‌های دفاعی سلول مورد حمله قرار گرفته و این عامل سبب می‌شود تا این گیاه به تنش خشکی نسبتاً حساس باشد. Esfandiari و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه بر روی اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدی گیاهچه‌های گندم اظهار داشتند که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز وآسکوربات پراکسیداز در ارقام الوند و زرین با افزایش تنش خشکی، کاهش یافت و دلیل آن را نیز حساس تر بودن این ارقام به خشکی دانستند. در گیاه ذرت مشاهده شده است که در تنش ملایم، میزان فعالیت پراکسیدازی کاهش و فعالیت کاتالازی افزایش و سپس با افزایش میزان تنش، کاهش یافت (Chugh et al., 2011).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تنش خشکی منجر به افزایش میزان پرولین، قندهای محلول و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در سطح ۵ درصد گردید. به نظر می‌رسد تغییر در میزان این ترکیبات جهت تنظیم فشار اسمزی سلول و بالا بردن سطح مقاوت گیاه جهت مقابله با کم آبی می باشد. اما در این میان دیده شد، آنزیم پراکسیداز به‌عنوان یکی از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، در سطوح بالای تنش، کاهش یافت. عدم تعادل در بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش کارایی مکانیسم‌های جمع‌آوری کننده فرم‌های فعال اکسیژن می‌شود. عدم تعادل موجود، سبب تجمع فرم‌های فعال اکسیژن در سلول می‌گردد. تجمع انواع اکسیژن فعال نیز نقاط کلیدی متابولیسم و مکانیسم‌های دفاعی سلول را مورد حمله قرار می دهند. در نتیجه این امر، تنش اکسیداتیو در سلول شدت بیشتری می‌یابد. بنابراین، به نظر می‌رسد احتمالاً گیاه دارویی گل مغربی، قادر به تحمل خشکی در سطوح بالا نمی‌باشد و تا حد کنترل شده‌ای، کم آبی را تحمل می‌کند.

سپاسگزاری

از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق همکاری لازم را داشته اند تشکر و قدردانی می‌نماییم. به ویژه از مسئول محترم آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان سرکار خانم دکتر کیایی به خاطر راهنمایی و همکاری صمیمانه شان بی نهایت سپاسگزاریم.

منابع

سرمدنیا، غ. و کوچکی، ع. (۱۳۷۱). جنبه‌های فیزیولوژیکی زراعت دیم. (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ٤٠٠ صفحه.

صفی خانی، ف. (۱۳۸۵). بررسی جنبه‌های فیزیولوژیک مقاومت به خشکی در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.). پایان نامه دکتری، دانشگاه شهید چمران، مجتمع آموزش عالی کشاورزی و منابع طبیعی رامین.

مدرس ثانوی، ح.، دولت آبادیان، آ.، شریفی، م. (۱۳۸۸). اثر تنش کم آبی و محلول پاشی اسیدآسکوربیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی تغییرات بیوشیمیایی در برگ ذرت دانه‌ای (*Zea maize* L.). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۲. شماره ۳. صفحات ٤٢٢-٤٠٧.

Ahmad, P. and Sharma, S. (2010). Physiobiochmical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO3 stress. International Journal of Plant Production, 4: 79- 86.

Artz, M.B. (2007). Evening primrose. In: Herbal products, toxicology and clinical pharmacology.

Baghizadeh, A., Ghorbanli, M., Haj Mohammad Rezaei, M. and Mozafari, H. (2009). Evaluation of interaction effect of drought stress with ascorbate and salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters in okra (*Hibiscus esculentus* L.). Research Journal of Biological Sciences. 4(4):380-387.

Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39:205-207.

Bhardwaj, J. and Yadav, S.K. (2012). Comparative study on biochemical parameters and antioxidant enzymes in a drought tolerant and a sensitive variety of Horsegram (*Macrotyloma uniflorum*). American Journal of Plant Physiology. 7(1):17-29.

Cornish, S. and Madrona, ML. (2008). The role of vitamins and minerals in psychiatry. Integrative Medicine Insights. 3: 33-42.

Cunhua, S., Jian-jie, S., Dan, W., Bai-wei, L. and Don, S. (2011). Effects on physiological and biochemical characteristics of medicinal plant pigweed by drought stresses. Journal of Medicinal Plants Research. 5(17): 4041-4048.

Chance, B. and Maehley, A. (1955). Assay of catalases and peroxidase. Methods in Enzymology. 2: 764-775.

Chugh, V., Kaur, N. and Gupta, AK. (2011). Evalution of oxidative stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to drought. Journal of Biochemistry and Biophysics. 48: 47-53.

Dicko, M., Gruppen, H., Barro, C., Traore, A., Berkel, W. and Voragen, A. (2005). Impact of phenolic compounds and related enzymes in Sorghum varieties for resistance and susceptibility to biotic and abiotic stresses. Journal of Chemical Ecology. 31: 2671-2688.

Esfandiari, E.A., Shakiba, M.R., Mahboob, S.A., Alyari, H. and Toorchi, M. (2007). Water stress,
antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. Journal of Food, Agriculture and Environment. 5: 149-153.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujrita, P., and Basra, S.A. (2009). Drought stress effects mechansims and management. Agronomy for Sustainable Development. 29:195-212.

Honermeier, B. and Ghasemnezhad, A. (2008). Seed yield, oil content and fatty acid composition of *Oenothera biennis* L. affected by harvest date and harvest method . Industrial crops and products, 25: 274-281.

Johari-Pireivatlou, M. (2010). Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. African Journal of Biotechnology. 9: 36-40.

Kar, M. and Mishra, D. (1976). Catalase, Peroxidase, and Polyphenol oxidase activities during Rice leaf senescence. Plant Physiology. 57(2):315–319.

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol sulphuric acid method.In: Helebust, J.A. Craig, J.S. (ed): Hand book of Phycological Method. Cambridge University. Press. Cambridge. 56-97.

Koroi, S.A.A. (1989). Gele electrophores tishe and spectrophoto metrscho unter uchungen zomeinfiuss der tempelature auf straktur der amylase and peroxidase isoenzyme. Physiologie Vegetale. 20: 15-23.

Rahdari, P., Hoseini, SM. and Tavakoli, S. (2012). The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.) leaves. Journal of Medicinal Plant Research. 6(9): 1539-1547.

Rajinder, S.D. (1987). Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehydration in *Torula rulis*. Plant Physiology. 83: 816-819.

Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savoure, A. and Abdelly, C. (2007). Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. Environmental and Experimental Botany. 61:10-17.

Soha, E., Khalil Nahed, G., El- Aziz, A., Bedour, H. and Abou, L. (2010). Effect of water stress, ascorbic acid and spraying time on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. Journal of American Science. 6(12):33-44.

Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. Amino acids .35(4):753-759.

Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A. and Abbassi, F. (2011). The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. African Journal of Agricultural Research. 6(4): 798-807.

Mohammad Khani, N. and Heidari, R. (2007). Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Journal of Biological Sciences. 10(21): 3835-3840.

Miyamoto, K., Kishi, N., Koshiura, R., Yoshidat, T., Hatano, T. and Okuda, T. (1987). Relationship between the structures and the antitumor activities of tannins. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 35: 814-822.

Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005). Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. Aquatic Botany. 81:285-299.

Pirzad, A., Shakiba, M., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, A., Darvishzadeh, R. and Samadi, A. (2010). Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. Journal of Medicinal Plants Research. 5(12): 2483-2488.