

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های تنش اکسیداتیو گیاه اسفناج در رویشگاه‌های مختلف خوزستان

الناز جعفری^a، مریم کلاهی^{b*}، رویا آزادی^{c*}، الهام محجل کاظمی^{d,e}

^a دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^b دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^c دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^d دانشیار گروه علوم گیاهی، زیست سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^e پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۱/۱۷

چکیده

مقدمه: تنش اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر کیفیت و ترکیب بیوشیمیایی گیاهان است که تحت تأثیر شرایط محیطی متغیر قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های تنش اکسیداتیو در نمونه‌های اسفناج (*Spinacia oleracea*) جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف استان خوزستان بررسی شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌ها از شهرهای حمیدیه، آبادان، رامهرمز، شوش، شادگان و دزفول جمع‌آوری شدند. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) اندازه‌گیری شد. همچنین، شاخص‌های تنش اکسیداتیو شامل هیدروژن پراکسید، پروتئین کربونیل، تیول کل و میزان پرولین مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، میزان H_2O_2 در نمونه‌های حمیدیه نسبت به شوش ($FW\ 1.86\ \mu mol/g$) به‌طور معناداری افزایش یافت. تجمع پرولین در نمونه‌ی حمیدیه در مقایسه با دزفول ($FW\ 0.58\ \mu mol/g$) افزایش معناداری نشان داد. محتوای پروتئین کربونیل در نمونه رامهرمز بالاترین مقدار را در بین نمونه‌های بررسی شده نشان داد. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم CAT به ترتیب به نمونه‌های حمیدیه و دزفول تعلق داشت. فعالیت آنزیم SOD در نمونه حمیدیه نسبت به دزفول ($protein\ 0.14 \pm 1.54U/mg$) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تغییرات قابل توجهی در فعالیت GPX و GR، و همچنین محتوای GSH و GSSG مشاهده گردید که بیانگر نقش این آنزیم‌ها در پاسخ به شرایط محیطی است. فعالیت مهار رادیکال ABTS به میزان ۵۶٪ افزایش یافت که با ارتقای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همبستگی داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد، شرایط محیطی و جغرافیایی متفاوت، بر تولید و تجمع ترکیبات فیتوشیمیایی در اسفناج‌های کشت شده در مناطق مختلف نقش دارد. به نظر می‌رسد این تفاوت‌های محیطی با تعدیل مکانیسم‌های دفاعی گیاه، نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند. یافته‌ها حاکی از آن است، تنوع شرایط اقلیمی در استان خوزستان تأثیر چشمگیری بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی اسفناج دارد. این اطلاعات می‌تواند در شناسایی مناطق مستعد جهت کشت بهینه و بهبود کیفیت این گیاه موثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: اسفناج، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش اکسیداتیو، پراکسید هیدروژن، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز

مقدمه

اسفناج (*Spinacia oleraceae* L.) از تیره اسفناجیان (*Chenopodiaceae*) با ۱۰۵ جنس و ۱۴۰۰ گونه، یکی از متنوع‌ترین گیاهان این تیره محسوب به شمار می‌رود. این گیاه در سراسر ایران کشت می‌شود و گونه‌های خودروی آن در کوهپایه‌های الوند، البرز و زاگرس یافت می‌گردد. اسفناج به دلیل ارزش غذایی بالا، هم به صورت تازه و هم فرآوری شده به مصرف می‌رسد و دارای برگ‌هایی با اشکال و بافت‌های متنوع است (Hamed et al., 2025). ریشه این گیاه عمیق بوده و می‌تواند در خاک‌های شور رشد کند. اسفناج به صورت روزتی^۱ رشد کرده و در شرایط گلدهی، ساقه‌های آن طول می‌شوند. این گیاه دارای سیستم تولیدمثلی متنوعی شامل گونه‌های نر، ماده، نمراده و هرمافروdit است (Mehralizade et al., 2024). دو وارینه رایج این گیاه شامل اسفناج بذر خاردار (*Spinacia var. oleraceae Spinosa*) و بذر صاف (*Spinacia var. oleraceae Inermis*) هستند که هرکدام ویژگی‌های خاص خود را دارند. چین با تولید ۱۸/۷ میلیون تن، بزرگ‌ترین تولیدکننده اسفناج در جهان محسوب می‌شود و پس از آن آمریکا، ژاپن و ترکیه قرار دارند. ایران با تولید ۱۰۵ هزار تن، در رتبه هفتم جهانی قرار می‌گیرد، توده‌های بومی اسفناج ایران دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و از اهمیت ویژه‌ای در برنامه‌های اصلاح نژادی برخوردارند (FAO STAT, 2018). اسفناج به دلیل غنی بودن از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و ویتامین C، به عنوان یک سبزی پرخاصیت در رژیم غذایی شناخته می‌شود. این گیاه حاوی پروتئین، املاح معدنی و ترکیبات زیست فعال است که به کاهش رادیکال‌های آزاد و بهبود وضعیت سلامت کمک می‌کنند (Hao et al., 2024). مواد غذایی نقش حیاتی در تأمین نیازهای تغذیه‌ای و حفظ سلامت انسان‌ها دارند و کیفیت این محصولات تحت تأثیر عوامل زیست‌محیطی و فرآیندهای تولیدی قرار می‌گیرد. در بین عوامل زیست‌محیطی، تنش‌های غیر زیستی یکی از مهم‌ترین چالش‌هایی است که تولید محصولات کشاورزی را در مناطق خشک و نیمه‌خشک با مشکل مواجه کرده است

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های تنش اکسیداتیو گیاه اسفناج در رویشگاه‌های مختلف خوزستان

(Mahajan and Tuteja, 2005). تنش‌های محیطی نه تنها سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود، بلکه با ایجاد استرس اکسیداتیو، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را افزایش می‌دهد که این ترکیبات می‌توانند به تخریب سلول‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها منجر شوند (Cuypers et al., 2010). پاسخ گیاهان به این شرایط، فعال‌سازی سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) است. این آنزیم‌ها با خنثی‌سازی ROS، آسیب‌های سلولی را کاهش داده و باعث افزایش تحمل گیاه می‌شوند. همچنین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند گلوکاتایون احیا (GSH) و اکسید (GSSG)، پرولین و ترکیبات فنولی در حفظ تعادل اکسیداسیونی سلول نقش مهمی دارند (Gill et al., 2013). یکی از راهکارهای افزایش مقاومت گیاهان، استفاده از ترکیباتی مانند سالیسیلیک اسید است که به بهبود متابولیسم و افزایش تحمل به تنش‌های محیطی کمک می‌کند. شرایط محیطی تأثیرات قابل توجهی بر ترکیبات فیتوشیمیایی اسفناج دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که تنش‌های محیطی باعث تغییر در محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Parida and Das, 2005). اهمیت این مطالعه در بررسی تغییرات شاخص‌های تنش اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان اسفناج کشت شده در مناطق مختلف است که می‌تواند اطلاعات مهمی در رابطه با اثرات شرایط محیطی مختلف بر سلامت و عملکرد گیاهان فراهم کند. نتایج این تحقیق می‌تواند به درک بهتر مکانیزم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های محیطی نظیر آلودگی یا تغییرات اقلیمی کمک کند. همچنین، شناسایی مناطق با تنش اکسیداتیو بالا یا پایین و بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در این گیاهان می‌تواند راهکارهایی برای بهبود روش‌های کشاورزی پایدار و افزایش مقاومت گیاهان به شرایط نامساعد ارائه دهد. این مطالعه همچنین برای تحقیقات آینده در زمینه تغییرات زیست‌محیطی و اثرات آن بر تنش‌های گیاهی اهمیت بالایی دارد.

¹ Rosette

مواد و روش

- تهیه و آماده سازی نمونه ها

نمونه های گیاه اسفناج در اواخر سال ۱۴۰۰ از ۶ منطقه جغرافیایی استان خوزستان شامل شهرهای آبادان (30°20'N, 48°17'E, ارتفاع ۲ متر)، شادگان (30°39'N, 48°40'E)، رامهرمز (31°16'N, 49°36'E, ۱۵۰ متر)، حمیدیه (31°29'N, 48°25'E, ۱۷ متر)، شوش (32°11'N, 48°15'E, ۷۰ متر) و دزفول (32°23'N, 48°25'E, ۱۴۳ متر) در فصل زمستان در اندازه ها و راحل رویشی یکسان، جمع آوری شد. صحت گونه گیاهی اسفناج توسط بخش زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت. جهت سنجش ترکیبات فیتوشیمیایی فریز شده و سپس در هاون له گردید.

- عصاره گیری گیاه اسفناج به روش ماسیراسیون

عصاره گیری با دستگاه شیکر به صورت ۱/۳g وزن تر گیاه اسفناج و با ۱۵mL حلال اتانول ۷۰٪ به مدت ۲۴ h در دمای محیط انجام شد. سپس سوسپانسیون حاصل سانتریفیوژ و بعد صاف شد.

- سنجش شاخص های اکسیداتیو

کربونیل اسیون پروتئین بر اساس پروتکل اصلاح شده Levin و همکاران (۱۹۹۰) برآورد شد. جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۷۵ nm خوانده شد با استفاده از رابطه ی ۱ مقادیر کربونیل محاسبه و به صورت nm/mg وزن تر گزارش شد.

$$C \text{ (nm / well)} = (OD \text{ 375 nm} / 6.364) \times 1000$$

$$CP = C / P \times \text{Dilution Factor of Sample}$$

C: مقدار محتوای کربونیل در هر نمونه
P: مقدار پروتئین هر نمونه در مرحله آخر برحسب mg/mL
CP: مقدار نرمال شده ی محتوای کربونیل برحسب میلی گرم پروتئین

- اندازه گیری هیدروژن پراکسید

اندازه گیری هیدروژن پراکسید (H_2O_2) با استفاده از روش

Sergiv و همکاران (۱۹۹۷) با کمی تغییر انجام شد. جذب H_2O_2 در طول موج ۳۹۰nm با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای اندازه گیری پرولین آزاد از روش اصلاح شده باتس و همکاران استفاده شد. در این روش، پرولین با نین هیدرین در دمای $100^\circ C$ واکنش داده و ترکیب رنگی دی کتوهیدرین دی لیدین را تشکیل می دهد که در فاز آلی تولوئن استخراج شده و در ۵۲۰ nm جذب آن اندازه گیری می شود (Sharma and Thakur, 2005b). اندازه گیری میزان تیول کل تا حدودی مشابه روش اندازه گیری گلو تاتیون کل می باشد. در این پژوهش میزان تیول کل با استفاده از کیت اندازه گیری گروه های تیول آزاد (SH) کیازیست انجام شد.

- سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

فعالیت آنزیم CAT به روش Marcos و همکاران (۱۹۸۴) بر پایه تجزیه H_2O_2 توسط آنزیم CAT اندازه گیری شد. کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. سنجش فعالیت آنزیم SOD بر اساس روش Beauchamp و همکاران (۱۹۷۱) انجام شد. تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ۵۶۰ nm بیانگر فعالیت آنزیم SOD بر اساس واحد فعالیت آنزیم بر میلی گرم پروتئین می باشد. فعالیت آنزیم GPX به روش Bakalova (۲۰۰۴) اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از کیت Test GPx-96 Negpix توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ nm قرائت شد. سنجش فعالیت GR با روش Sgherri و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد. به منظور سنجش فعالیت آنزیم GR با استفاده از کیت Negpix Test GPx-96 در ۳۴۰ nm قرائت گردید

- سنجش ترکیبات آنتی اکسیدانی

گلو تاتیون کل و احیا به روش اصلاح شده ی المن و مطابق با روش Hu و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد. طبق روش هو محتوای GSH و محتوای گلو تاتیون تام عصاره ها به طور مستقیم اندازه گیری و مقدار GSSG با کم کردن مقدار گلو تاتیون احیا از گلو تاتیون کل به دست آمد.
معرف احیا کننده GSSG: $132/4 \text{ g}$ سدیم تترا هیدرو بورات، 60 g سود، 1000 mL متانول ۵۰٪.

معرف EDTA ۱۰ mM : ۳/۸ g EDTA، ۱۰۰۰ mL بافر تریس ۵۰۰ mM با pH= ۸/۲.

محلول DTNB - معرف المن ۱۰ mM : ۱۰ g / ۹۶ ۳ DTNB، ۱۰۰ mL متانول.

معرف متوقف کننده: ۱۲ M HCL (جهت حذف و توقف واکنش احیا NABH₄).

مقدار ۶۰۰ μL عصاره با ۱۵۰ μL معرف احیاکننده مخلوط شد و پس از ۱۵ min مقدار ۷۰ μL از معرف متوقف کننده جهت متوقف شدن واکنش اضافه شد. اولین مقدار گلوتاتیون قبل از این که EDTA و DTNB افزوده شوند توسط دستگاه الایزار و در طول موج ۴۱۲ nm اندازه‌گیری شد. بعد از اضافه شدن این معرف‌ها آخرین جذب گلوتاتیون اندازه‌گیری گردید. این جذب مربوط به گلوتاتیون کل می‌باشد.

معرف DTNB با گروه‌های سولفیدریل گلوتاتیون موجود در عصاره واکنش می‌دهد و به ۲-نیترو-۵-بنزوئیک‌اسید^۱ (TNB) احیا می‌شود که محلول زردرنگی تولید کرده و در ۴۱۲ nm جذب دارد. در نهایت میزان گلوتاتیون احیا و اکسید برحسب μmol/mg پروتئین گزارش شدند (Alisik, 1994; Hu et al., 2019).

- سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

به منظور بررسی تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، توانایی مهار رادیکال کاتیون^{۱۲} (ABTS+) مورد استفاده قرار گرفت و جذب محلول‌ها در طول موج ۷۴۰ nm قرائت شد و با استفاده از فرمول زیر درصد مهارکنندگی محاسبه گردید (Re et al., 1999).

رابطه ۲

جذب کنترل / ۱۰۰ × (جذب نمونه - جذب کنترل) = درصد مهارکنندگی

- تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل ۶ منطقه جغرافیایی و فاکتور دوم شاخص‌های بیوشیمیایی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (CAT، SOD، GPX، GR) و ترکیبات شاخص تنش

اکسیداتیو (پراکسید هیدروژن، پرولین، تیول کل، پروتئین کربونیل) بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS 20.0 شرکت Inc. (شیکاگو، ایالات متحده آمریکا) صورت گرفت. تمامی داده‌های آزمایشی به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) ارائه شدند. تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) بر روی داده‌ها انجام شد و برای تمامی آزمون‌ها، مقدار $P < 0.05$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

- بررسی تغییرات شاخص‌های تنش اکسیداتیو

بررسی تغییرات شاخص‌های اکسیداتیو در نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مورد مطالعه تفاوت‌های معناداری نشان داد. بیشترین و کمترین میزان پروتئین کربونیل به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. پس از حمیدیه، بیشترین میزان پروتئین کربونیل به ترتیب به نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای آبادان، رامهرمز، شوش و شادگان تعلق داشت. همچنین، مقایسه آماری نشان داد که تفاوت معناداری بین میزان پروتئین کربونیل در رویشگاه‌های شوش و شادگان و همچنین آبادان و حمیدیه وجود ندارد ($p < 0.05$) (شکل ۱-A). بررسی محتوای H₂O₂ در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مورد مطالعه، تفاوت معناداری را نشان داد. بیشترین و کمترین میزان H₂O₂ به ترتیب در نمونه اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. پس از حمیدیه، بالاترین میزان H₂O₂ در نمونه‌های مربوط به شهرهای رامهرمز، آبادان، شوش و شادگان اندازه‌گیری شد. همچنین، تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که میزان H₂O₂ در نمونه‌های اسفناج رویشگاه‌های شوش و شادگان تفاوت معناداری نداشت ($p < 0.05$) (شکل ۱-B). میزان محتوای پرولین کل نمونه اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مورد مطالعه، تفاوت معناداری را نشان داد؛ به طوری که بیشترین محتوای پرولین کل مربوط به شهرهای دزفول و شوش بود و کمترین میزان پرولین کل مربوط به نمونه اسفناج جمع‌آوری شده از شهر رامهرمز بود.

¹ 1-2-nitro-5-benzoic acid

² 2,20-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

بود، به طوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. پس از حمیدیه، بالاترین فعالیت CAT در نمونه‌های مربوط به آبادان، رامهرمز، شوش و شادگان ثبت گردید. همچنین، تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تفاوت معناداری بین فعالیت آنزیم CAT در نمونه‌های مربوط به رویشگاه‌های شوش و رامهرمز وجود ندارد ($p < 0.05$) (شکل ۲-۱). فعالیت آنزیم SOD نیز در بین مناطق مورد مطالعه دارای تفاوت معناداری بود. بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. در میان سایر مناطق، بیشترین میزان فعالیت SOD به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از آبادان، رامهرمز، شادگان و شوش ثبت گردید. علاوه بر این، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تفاوت معناداری بین فعالیت این آنزیم در نمونه‌های اسفناج مربوط به رویشگاه‌های شوش و شادگان وجود ندارد ($p < 0.05$) (شکل ۲-۲). میزان فعالیت آنزیم GR نیز در مناطق مختلف مورد بررسی، اختلاف معناداری داشت.

بیشترین محتوای پروتئین کل اسفناج جمع‌آوری شده بین سایر شهرها به ترتیب مربوط به شادگان، آبادان و حمیدیه بود. همچنین لازم به ذکر است که محتوای پروتئین کل در رویشگاه‌های حمیدیه و آبادان تفاوت معناداری نداشت ($p < 0.05$) (شکل ۱-۱). بررسی میزان تیول کل نمونه اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مورد مطالعه، تفاوت معناداری را نشان داد؛ به طوری که بیشترین و کمترین میزان تیول کل به ترتیب مربوط به نمونه اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول بود. بیشترین میزان تیول کل اسفناج جمع‌آوری شده بین سایر شهرها به ترتیب مربوط به آبادان، رامهرمز، شادگان و شوش بود، همچنین لازم به ذکر است که میزان تیول کل در رویشگاه‌های شوش و شادگان، همچنین رامهرمز و آبادان تفاوت معناداری نداشت ($p < 0.05$) (شکل ۱-۲).

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری نشان داد. میانگین میزان فعالیت آنزیم CAT در نمونه‌های مورد مطالعه به طور قابل توجهی متفاوت

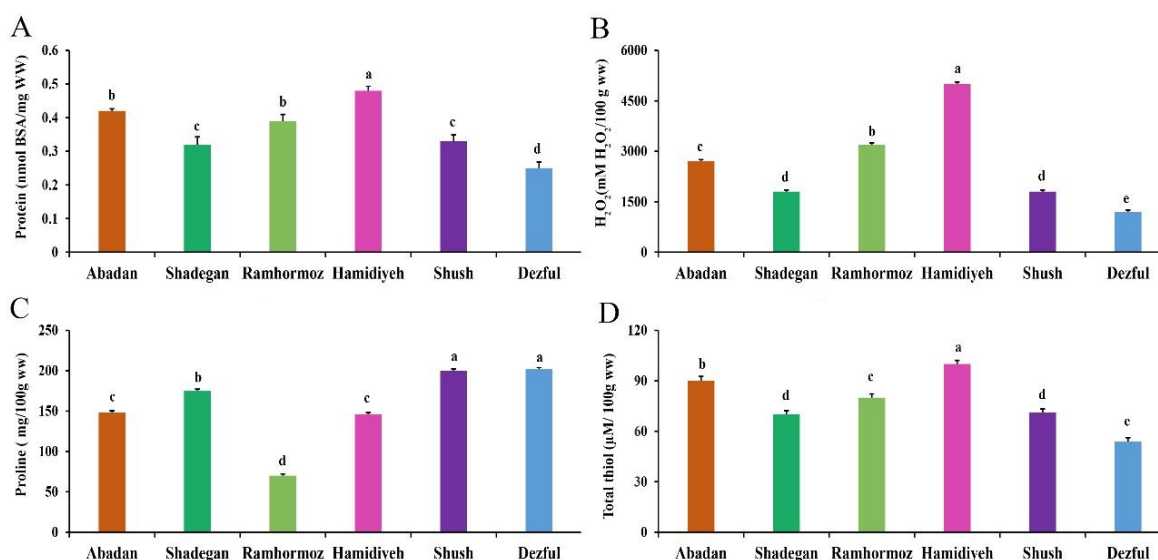


Figure 1- (A) Carbonylated protein content, (B) Hydrogen peroxide (H₂O₂) content, (C) Proline content, (D) Total thiol content. The values presented are the mean $\pm$ standard error (SE) of three replicates. Similar letters above the bars indicate no significant difference between the means.

شکل ۱-۱) میزان پروتئین کربونیل، (B) میزان پراکسید هیدروژن، (C) میزان پروتئین، (D) میزان تیول کل. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

GSH در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف نشان‌دهنده تفاوت معناداری بین مناطق مورد مطالعه بود. بیشترین و کمترین محتوای GSH به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. از میان سایر مناطق، بالاترین میزان GSH به ترتیب در نمونه‌های شهرهای آبادان، رامهرمز، شوش و شادگان ثبت گردید. علاوه بر این، تحلیل آماری نشان داد که محتوای GSH در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های آبادان و رامهرمز، همچنین شوش و شادگان تفاوت معناداری نداشت ($p < 0.05$) (شکل ۳-۱). از سوی دیگر، بررسی میزان GSSG در نمونه‌های اسفناج نیز تفاوت معناداری بین مناطق مختلف نشان داد. بیشترین میزان GSSG در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه دزفول مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن به نمونه‌های اسفناج شهرهای آبادان و حمیدیه تعلق داشت. از میان سایر شهرها، بیشترین میزان GSSG به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شوش، شادگان و رامهرمز مشاهده شد. همچنین، مقایسه آماری داده‌ها نشان داد که تفاوت معناداری بین میزان GSSG در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های شوش و شادگان وجود ندارد ($p < 0.05$) (شکل ۳-۲).

بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. پس از حمیدیه، بالاترین فعالیت آنزیم GR به ترتیب در نمونه‌های مربوط به آبادان، رامهرمز، شوش و شادگان اندازه‌گیری شد. همچنین، مقایسه داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم GR در نمونه‌های مربوط به رویشگاه‌های شوش و شادگان تفاوت معناداری نداشت ($p < 0.05$) (شکل ۲-۲). فعالیت آنزیم GPX نیز در بین مناطق مورد مطالعه دارای تغییرات معناداری بود. بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در نمونه‌های اسفناج جمع‌آوری شده از شهرهای حمیدیه و دزفول مشاهده شد. در میان سایر مناطق، بیشترین فعالیت آنزیم GPX به ترتیب در نمونه‌های مربوط به آبادان، رامهرمز، شوش و شادگان اندازه‌گیری گردید. علاوه بر این، تحلیل داده‌ها نشان داد که فعالیت این آنزیم در نمونه‌های مربوط به رویشگاه‌های شوش و شادگان، همچنین آبادان و رامهرمز تفاوت معناداری نداشت ($p < 0.05$) (شکل ۲-۳).

۶- بررسی تغییرات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی

بررسی تغییرات فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری نشان داد. نتایج حاصل از بررسی میزان

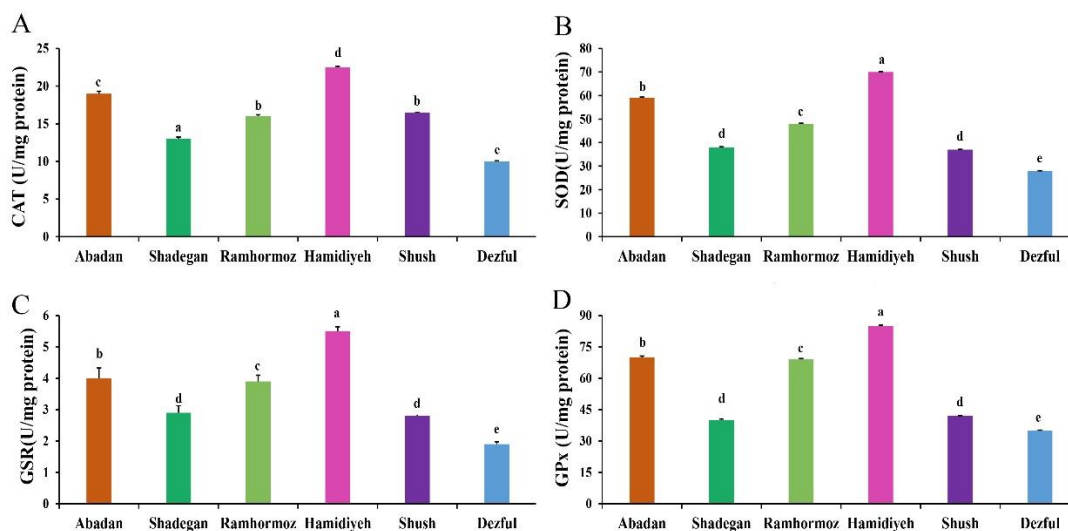


Figure 2- (A) Catalase (CAT) activity, (B) Superoxide dismutase (SOD) activity, (C) Glutathione reductase (GR) activity, (D) Glutathione peroxidase (GPX) activity. The values presented are the mean $\pm$ standard error (SE) of three replicates. Similar letters above the bars indicate no significant difference between the means.

شکل ۲-۱ (A) فعالیت آنزیم کاتالاز، (B) فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، (C) فعالیت آنزیم گلوکوتایون ردوکتاز، (D) فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

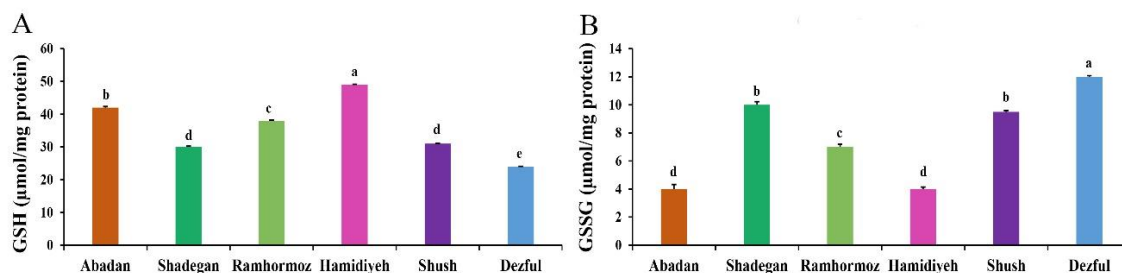


Figure 3- (A) Reduced glutathione (GSH) activity, (B) Oxidized glutathione (GSSG) activity. The values presented are the mean $\pm$ standard error (SE) of three replicates. Similar letters above the bars indicate no significant difference between the means.

شکل ۳- (A) فعالیت آنزیم گلوتاتیون احیا، (B) فعالیت آنزیم گلوتاتیون اکسید. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار $\pm$ خطای استاندارد می باشد. حروف مشابه در بالای ستون ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین ها می باشد.

- بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه اسفناج جمع آوری شده از رویشگاه های مورد مطالعه، تفاوت معناداری را نشان داد؛ به طوری که کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه اسفناج جمع آوری شده از شهر شادگان بود، همچنین لازم به ذکر است که ظرفیت آنتی اکسیدانی سایر رویشگاه ها تفاوت معناداری نداشتند ($p < 0.05$) (شکل ۴).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، بالاترین میزان H_2O_2 در نمونه ای اسفناج رویش یافته در منطقه حمیدیه و کمترین میزان در نمونه دزفول مشاهده شد. تنش های محیطی مانند خشکی و نور منجر به افزایش گونه های فعال اکسیژن (ROS) از جمله سوپراکسید (O_2^-)، H_2O_2 و رادیکال هیدروکسیل ($OH^\bullet$) می شوند که در نهایت آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی، پروتئین ها و DNA را به دنبال دارد. به نظر می رسد گیاهان به منظور سازگاری با شرایط محیطی، سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی خود را فعال می کنند که شامل آنزیم های آنتی اکسیدانی کلیدی نظیر SOD، CAT و GPX می باشد (Mittler, 2017). ترکیب خاک و سطح آلاینده ها از مهم ترین عوامل محیطی هستند که بر ترکیبات اسمولیتی مانند پرولین و گلیسین بتائین تأثیر می گذارند. مادمبا^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۳ با بررسی ارتباط بین تجمع پرولین در مرکبات کشت شده و ترکیب خاک نشان دادند، میزان پرولین به عنوان یک ترکیب

حفاظتی، نقش کلیدی در تنظیم فشار اسمزی و مقابله با تغییرات محتوای خاک دارد (Mademba-Sy et al., 2003). نتایج مطالعات دیگر نشان داد که گیاهان در غلظت های متوسط و بالای املاح خاک، به ترتیب از تجمع مواد اسمزی آلی گلیسین بتائین و پرولین به منظور تنظیم فشار اسمزی استفاده می کنند (Dhanapackiam and Muhammad Ilyas, 2010). به طور مشابه، با افزایش ارتفاع از سطح دریا بر غلظت پرولین افزوده شد. پرولین در رژیم غذایی انسان نیز دارای نقش های زیستی مهمی است، از جمله تقویت سیستم ایمنی، بهبود سلامت پوست و افزایش مقاومت سلول ها در برابر استرس اکسیداتیو. بنابراین، افزایش میزان پرولین در اسفناج می تواند ارزش تغذیه ای آن را برای مصرف انسانی ارتقا دهد (Rajmane and Gaikwad, 2015). مطالعات نشان دادند، تنوع در شرایط محیطی می تواند به طور قابل توجهی موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاهان شود. در مطالعه حاضر نیز، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در نمونه های اسفناج جمع آوری شده از مناطق مختلف استان خوزستان تفاوت معناداری نشان داد. این تغییرات را می توان ناشی از تأثیر شرایط محیطی مانند دما، میزان آلاینده ها، ترکیب خاک و دیگر فاکتورهای اکولوژیکی دانست که می تواند بر کیفیت تغذیه ای و سلامت محور این گیاه اثرگذار باشد. تنش های اکسیداتیو محیطی مانند شرایط اقلیمی، میزان آلاینده های محیطی و ترکیب خاک می تواند موجب ایجاد تغییرات در

¹ Mademba

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های تنش اکسیداتیو گیاه اسفناج در رویشگاه‌های مختلف خوزستان

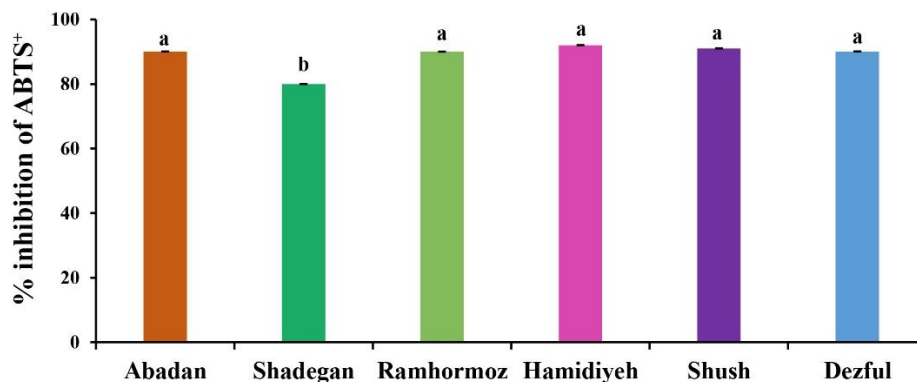


Figure 4- ABTS radical scavenging capacity. The values presented are the mean $\pm$ standard error (SE) of three replicates. Similar letters above the bars indicate no significant difference between the means.

شکل ۴- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ABTS. مقادیر ذکر شده میانگین $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

حاکمی از آن است که افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر شرایط محیطی، می‌تواند بر ارزش تغذیه‌ای اسفناج تأثیر مثبت بگذارد (Tóth et al., 2009). افزایش تغییرات محیطی منجر به فعال شدن مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌شود. در پژوهش‌های مختلف گزارش شد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی افزایش می‌یابد. به‌عنوان مثال، افزایش فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی در گیاهان کوهستانی نشان‌دهنده سازوکار دفاعی گیاهان برای مقابله با استرس‌های نوری، تغییرات دما و فشار اکسیژن در ارتفاعات بالا است (Mohammadi Bazargani, 2018). جهانبازی و همکاران نیز با بررسی تأثیر تنش اندام هوایی چهار گونه بادام وحشی نشان دادند، افزایش ارتفاع از سطح دریا سبب کاهش فاکتورهای رویشی و زیست‌توده گیاه می‌شود. این امر ممکن را می‌توان ناشی از کاهش دما، کاهش فشار اکسیژن و تغییر شدت نور در ارتفاعات بالاتر دانست که بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد (Jahanbazi et al., 2015). نور یک عامل غیرزنده مهم است که بر بیوسنتز ترکیبات زیست فعال در سبزیجات و میوه‌ها تأثیر می‌گذارد. متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه فنول‌ها و مشتقات آن‌ها به نور UV برای تجمع در سلول‌های اپیدرمی برای کاهش نفوذ UV در بافت‌های سلولی عمیق‌تر پاسخ می‌دهند. گیاه برای کاهش آسیب ناشی از افزایش ROS، تولید آنزیم SOD را تقویت می‌کند و این آنزیم در شرایط استرس اکسیداتیو نقش حیاتی دارد. در این پژوهش،

مکانیسم‌های دفاعی گیاه گردد (Foyer and Noctor, 2011). افزایش فعالیت GPX نشان‌دهنده نقش کلیدی آن در خنثی‌سازی H_2O_2 است. SOD اولین خط دفاعی گیاه در برابر استرس اکسیداتیو است و مسئول تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) به H_2O_2 و اکسیژن (O_2) می‌باشد (Ma et al., 2025). نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند، ارتفاع از سطح دریا نقش مهمی در تغییر ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان دارد. بررسی گونه‌ی *minutiflorum Epilobium* در ارتفاعات مختلف، تغییرات محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی مانند فلاونوئید کل، آنتوسیانین، ترکیبات فنلی کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدان را نشان داد. در نتایج مختلف، ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی به غلظت بالای فلاونوئیدها و فنل‌ها نسبت داده شده است (Monschein et al., 2015). محققین تأکید نمودند که شرایط محیطی از جمله ارتفاع بالا می‌تواند منجر به افزایش سطوح فلاونول‌ها در بافت‌های گیاهی شود. ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی موجود در اسفناج، دارای خواص ضدالتهابی و محافظتی در برابر بیماری‌های مزمن مانند سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی هستند. بنابراین، افزایش این ترکیبات در شرایط محیطی سخت می‌تواند ارزش تغذیه‌ای اسفناج را بهبود بخشد و مصرف آن را به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی توصیه کند. در این پژوهش نیز مشاهده شد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسفناج از رویشگاه‌های مختلف خوزستان تغییرات قابل‌توجهی داشته است. این یافته‌ها

می‌توان به میزان بارندگی و رطوبت، ارتفاع از سطح دریا، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، شدت نور و دمای محیط اشاره کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی اسفناج تحت تأثیر شرایط محیطی قرار دارد. شرایط محیطی می‌توانند موجب افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه اسفناج گردد. شرایط محیطی متفاوت می‌تواند بر ارزش تغذیه‌ای و خواص سلامت‌محور این گیاه تأثیر بگذارد. نتایج پژوهش حاضر نقش کلیدی شرایط محیطی در تغییر مسیرهای متابولیکی گیاه و تأثیر بر کیفیت محصول را تایید می‌کند. یافته‌ها حاکی از آن است که مدیریت صحیح شرایط محیطی نظیر ترکیبات خاک و آلاینده‌ها، همراه با استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم‌های دفاعی گیاه، می‌تواند به بهبود کیفیت و ارزش تغذیه‌ای محصولات کشاورزی منجر شود. این تحقیق می‌تواند پایه‌ای برای مطالعات آینده در زمینه‌ی بهبود مقاومت گیاهان به شرایط محیطی متفاوت و ارائه راهکارهای کاربردی در تولید مواد غذایی باکیفیت باشد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان مقاله حاضر مراتب قدردانی خود از دانشگاه شهید چمران اهواز و دانشگاه تبریز به خاطر حمایت‌های مادی و معنوی این کار پژوهشی اعلام می‌دارند.

منابع

- Alisik, M., Neselioglu, S. & Erel, O. (2019). A colorimetric method to measure oxidized, reduced and total glutathione levels in erythrocytes. *Journal of Laboratory Medicine*, 43, 269–277. <https://doi.org/10.1515/labmed-2019-0098>
- Bakalova, S., Nikolova, A. & 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.
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44, 276–287.
- Cuyper, A., Plusquin, M., Remans, T., Jozefczak, M., Keunen, E., Gielen, H.,

مشاهده شد که فعالیت SOD و CAT در اسفناج‌های مناطق دارای تنش محیطی، بالاتر از سایر مناطق بود که نشان‌دهنده افزایش توان دفاعی گیاه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو است (Lin et al., 2025). افزایش فعالیت CAT در این پژوهش نشان می‌دهد که گیاه برای کنترل H_2O_2 ، این آنزیم را فعال کرده است. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در اسفناج نشان‌دهنده افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود مقاومت گیاه در برابر شرایط محیطی است. این موضوع از نظر تغذیه‌ای نیز اهمیت دارد، زیرا مصرف مواد غذایی غنی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به کاهش اثرات استرس اکسیداتیو در بدن انسان، کاهش التهابات و پیشگیری از بیماری‌های دژنراتیو کمک کند (Dar et al., 2016). در این پژوهش مشاهده شد که فعالیت GPX افزایش یافت که نشان‌دهنده نقش این آنزیم در تنظیم تعادل اکسیداسیونی و کاهش اثرات مخرب ROS است. افزایش GPX در گیاهان، به حفظ ساختار غشای سلولی و بهبود رشد کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که GSH نقش مهمی در تقویت عملکرد سیستم ایمنی، سم‌زدایی از بدن و افزایش مقاومت سلولی در برابر استرس‌های محیطی دارد (Yadav et al., 2025).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، تغییرات فیتوشیمیایی گیاه اسفناج جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان خوزستان مطالعه شد. نتایج تغییرات فیتوشیمیایی گیاه اسفناج جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف، تفاوت معناداری را نشان داد. اسفناج مربوط به رویشگاه حمیدیه دارای بیشترین تنش اکسیداتیو پروتئین کربنیل، پراکسید هیدروژن، تیول کل و مقادیر آنزیم‌های CAT، SOD، GPX، GR و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود. همچنین در اسفناج مربوط به رویشگاه دزفول، بیشترین مقادیر پرولین، GSH و GSSG یافت شد. در بین اسفناج‌های مورد مطالعه کشت شده در استان خوزستان به لحاظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ارزش غذایی و فعال بودن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، نمونه مربوط به حمیدیه و از جهت غنای عناصر ضروری، نمونه‌های مربوط به رامهرمز و دزفول اهمیت بیشتری دارند. تولید و تجمع متابولیت‌های اولیه و ثانویه در گیاه اسفناج تحت عوامل متفاوت محیطی و جغرافیایی تغییر کرد. از جمله این عوامل

- Opdenakker, K., Nair, A.R., Munters, E., Artois, T.J., Nawrot, T., Vangronsveld, J. & Smeets, K. (2010). Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals*, 23, 927–940. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9329-x>
- Dar, M.I., Naikoo, M.I., Rehman, F., Naushin, F. & Khan, F.A. (2016). Proline Accumulation in Plants: Roles in Stress Tolerance and Plant Development, in: Iqbal, N., Nazar, R., A. Khan, N. (Eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*. Springer India, New Delhi, pp. 155–166. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1_9
- Dhanapackiam, S. & Muhammad Ilyas, M.H. (2010). Leaf area and ion contents of *Sesbania grandiflora* under NaCl and Na₂SO₄ salinity. *Indian Journal of Science and Technology*, 3, 561–563.
- FAO STAT. (2018). Global agro-ecological assessment for agriculture in 21st century. Land water digital media series 21 21.
- Foyer, C.H. & Noctor, G. (2011). Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant physiology*, 155, 2–18.
- Gill, S.S., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Macovei, A. & Tuteja, N. (2013). Importance of nitric oxide in cadmium stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 63, 254–261.
- Hamed, H.A., Mahmoud, G.A.E. & Abeed, A.H.A. (2025). Unraveling growth and metabolic dynamics in drought-stressed spinach plants: Exploring the contribution of biological gibberellin. *Scientia Horticulturae*, 340, 113924. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113924>
- Hao, P.M., Quoc, L.P.T., Thu, P.N.M., Dao, N.T.T. & Vy, L.B. (2024). A comprehensive review of *Moringa oleifera* Lam.: A valuable plant in food and medicine. *International Journal of Agricultural Technology*, 20, 1899–1916.
- Hu, M.L. (1994). Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 380–385.
- Jahanbazi, H., Hosseini Nasr, S.M., Saghebalebi, K. & Hojjati, S.M. (2015). Effect of salinity on growth factors, proline, pigments and absorption of elements in shoot of four wild Almond. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 27, 777–787.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.-G., Ahn, B.-W., Shaltiel, S. & Stadtman, E.R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 464–478.
- Lin, T., Haider, F.U., Liu, T., Li, S., Zhang, P., Zhao, C. & Li, X. (2025). Salt Tolerance Induced by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Is Associated with Modulations of the Photosynthetic Characteristics, Antioxidant System, and Rhizosphere Microbial Diversity in Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Agronomy*, 15, 341.
- Ma, H., Guo, J., Lu, S., Zhang, L., Chen, S., Lin, J., Zheng, T., Zhuang, F., Li, H. & Zhong, M. (2025). Overexpression of Suaeda salsa SsDHN Gene Enhances Salt Resistance in Tobacco by Improving Photosynthetic Characteristics and Antioxidant Activity. *Int. J. Mol. Sci* 26, 1185.
- Mademba-Sy, F., Bouchereau, A. & Larher, F.R. (2003). Proline accumulation in cultivated citrus and its relationship with salt tolerance. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78, 617–623. <https://doi.org/10.1080/14620316.2003.11511673>
- Mahajan, S. & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444, 139–158. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>
- Marcos-López, M., Espinosa, C.R., Rodger, H.D., O'connor, I., MacCarthy, E. & Esteban, M.A. (2018). Oxidative stress is associated with late-stage amoebic gill disease in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Fish Diseases*, 41, 383–387.
- Mehralizade, Z., Soorni, A. & Meratian Esfahani, S. (2024). Regulatory Network of Spinach Under Salt Stress: An Integrated Study of Long Non-coding RNAs and mRNAs. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11546-x>
- Mittler, R. (2017). ROS Are Good. *Trends in Plant Science* 22, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Mohammadi Bazargani, M. (2018). Comparative analyses of phytochemical compounds of *Epilobium minutiflorum* (*Onagraceae*) at different altitudes. *2018; 5 (4):466-478. nbr 5, 466–478.*
- Monschein, M., Jaendl, K., Buzimkić, S. & Bucar, F. (2015). Content of phenolic

compounds in wild populations of *Epilobium angustifolium* growing at different altitudes. *Pharmaceutical Biology*, 53, 1576–1582. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.993039>

Parida, A.K. & Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60, 324–349.

Rajmane, N.N. & Gaikwad, D.K. (2015). Effect Of NaCl Salinity on Some ASPECTS of Nitrogen Metabolism of *Simarouba Glauca* DC. Seedlings, 2, 290–293.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26, 1231–1237.

Sergiev, I., Alexieva, V. & Karanov, E. (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 51, 121–124.

Sgherri, C.L.M., Loggini, B., Puliga, S. & Navari-Izzo, F. (1994). Antioxidant system in

Sporobolus stapfianus: changes in response to desiccation and rehydration. *Phytochemistry* 35, 561–565.

Thakur, M. & Sharma, A.D. (2005a). Salt-stress-induced proline accumulation in germinating embryos: Evidence suggesting a role of proline in seed germination. *Journal of Arid Environments*, 62, 517–523.

Thakur, M. & Sharma, A.D. (2005b). Salt-stress-induced proline accumulation in germinating embryos: Evidence suggesting a role of proline in seed germination. *Journal of Arid Environments*, 62, 517–523. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.01.005>

Tóth, B.H., Blazics, B. & Kéry, Á. (2009). Polyphenol composition and antioxidant capacity of *Epilobium* species. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 49, 26–31.

Yadav, N.K., Patel, A.B., Priyadarshi, H. & Baidya, S. (2025). Salinity stress-induced impacts on biomass production, bioactive compounds, antioxidant activities and oxidative stress in watermeal (*Wolffia globosa*). *Discover Applied Sciences*, 7, 106. <https://doi.org/10.1007/s42452-024-06426-8>

Investigation of Antioxidant Enzyme Activity and Oxidative Stress Indicators in Spinach from Different Habitats of Khuzestan

E. Jafari^a, M. Kolahi^{b*}, R. Azadi^{c*}, E. Mohajel Kazemi^{d,e}

^a MSc of the Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

^b Associate Professor of the Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

^c Associate Professor of the Department of Chemistry, Faculty of Science Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

^d Associate Professor of the Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

^e Nuclear Agriculture School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEQI), Karaj, Iran.

Received: 6 April 2025

Accepted: 31 May 2025

Abstract

Introduction: Environmental stresses such as salinity and temperature fluctuations significantly impact plant metabolism. This study aimed to evaluate the activity of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in spinach (*Spinacia oleracea*) collected from various habitats in Khuzestan Province, Iran.

Materials and Methods: Samples were collected from Hamidiyeh, Abadan, Ramhormoz, Shoosh, Shadegan, and Dezful. The enzymatic activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione reductase (GR) were measured. Additionally, oxidative stress indicators, including hydrogen peroxide, carbonylated protein content, total thiol levels, and proline content, were evaluated.

Results: The findings demonstrated that H₂O₂ levels significantly increased in the Hamidiyeh samples compared to Shoosh (1.86 μmol/g FW). Proline accumulation in Hamidiyeh samples was higher than in Dezful (0.58 μmol/g FW), indicating osmotic adaptation. The highest carbonylated protein content was observed in Ramhormoz samples. The highest and lowest CAT enzyme activities were recorded in Hamidiyeh and Dezful samples, respectively. SOD activity in Hamidiyeh samples showed a significant increase compared to Dezful (1.54 ± 0.14 U/mg protein). Significant variations in GPX and GR activities, as well as GSH and GSSG levels, were observed, highlighting the role of these enzymes in the plant's response to environmental conditions. Furthermore, ABTS radical scavenging activity increased by 56%, which correlated with the enhanced activity of antioxidant enzymes.

Conclusion: This study revealed that environmental and geographical conditions influence the production and accumulation of phytochemical compounds in spinach grown in different regions. It appears that varying environmental factors modulate plant defense mechanisms, thereby enhancing plant tolerance to oxidative stress. The present study demonstrated that the diverse environmental conditions in Khuzestan significantly impact the antioxidant defense system of spinach. This information can be utilized for selecting suitable cultivation areas and optimizing the quality of this valuable plant.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Catalase, Hydrogen Peroxide, Oxidative Stress, Superoxide Dismutas, Spinach.

* Corresponding Author: m.kolahi@scu.ac.ir, r.azadi@scu.ac.ir