نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره پیاپی ۳۴، سال نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳ / صفحات: ۲۱-۱۱

بررسی تغییرات فصلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان درسه گونه گلسنگ *Lecanora muralis* (Schaerer)Rebenh.، *Xanthoria parietina* (L.)Th.fr. و *Ramalina farinacea*(L.)Ach. از منطقه مغان

ملاحت رهبری بیله سوار[۱]، مه‌لقا قربانلی*[۲] و صدیقه اربابیان[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، تهران

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

[۳] دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، تهران

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۲۸

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی چگونگی سازگاری سه گونه گلسنگ در سه فصل بهار، تابستان و زمستان بود برای نشان دادن این سازگاری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سه گونه گلسنگ از دشت مغان مورد سنجش قرار گرفت در این تحقیق گلسنگ *Ramalina farinacea* و *Lecanora muralis* از مرکز شهرستان انگوت (شهر تازه کند استان اردبیل) به‌صورت تصادفی از کوه‌ها جمع‌آوری و گلسنگ *Xanthoria parietina* نیز از اطراف تالاب شهرک پارس‌آباد مغان استان اردبیل به‌طور تصادفی از روی درخت جوالدوز (*Catalpa bignonioides*) جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در هر سه گونه گلسنگ در فصل زمستان (سرما) و تابستان (گرما) بیشتر از فصل بهار بود. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پلی‌فنل اکسیداز در دو گونه *R. farinacea* و *L. muralis* در تابستان و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در این دو گونه در زمستان افزایش معنی‌داری داشتند و در گونه *X. parietina* آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تابستان افزایش معنی‌داری نشان دادند. بنابراین با توجه به بررسی‌های به عمل آمده احتمالاً تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باعث سازگاری فصلی در این گونه‌ها می‌شود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تغییرات فصلی گلسنگ، *Ramalina farinacea*،*Lecanora muralis* و *Xanthoria parietin*

مقدمه

گلسنگ‌ها موجودات مرکبی هستند که پیدایش آنها بر اساس شواهد موجود به چهار صد میلیون سال پیش (دونین) می‌رسد. Tulasne (۱۸۹۲) گلسنگ‌ها را به عنوان گروهی از گیاهان معرفی کرد. در حالیکه Keeton (۱۸۹۶) گلسنگ‌ها را تحت عنوان قارچ‌ها رده بندی کرده است (Hale, 1963). گلسنگ‌ها تقریباً در همه جا وجود دارند و یکی از بهترین نمونه‌های همزیستی بین دو یا چند موجود زنده می‌باشند. آنها رشد سریع داشته در تمام فصول قابل مشاهده می‌باشند (حاجی‌منیری، ۱۳۸۳) و تقریباً ۸ درصد اکوسیستم‌های خاکی را گلسنگ‌ها به خود اختصاص می‌دهند (Larson, 1987). گلسنگ‌ها از همزیستی قارچ (میکوبیونت) و بخش فتوسنتیک

*نویسنده مسئول: mahlagh.ghorbanli@yahoo.com

(فتوبیونت) به وجود آمدند. همزیست فتوبیونت معمولاً جلبک سبز یا سیانوباکتری می‌باشد و تعداد کمی از گلسنگ‌ها دارای جلبک قهوه‌ای یا زرد–قهوه‌ای هستند. ارتباط دراز مدت بین واحدهای زیستی گلسنگ، نیازمند تطابق متقابل شرکا در هنگام آغاز همزیستی می باشند (حاجی منیری، ۱۳۸۳). سلول‌های جلبکی یا سیانوباکتری‌ها فتوسنتز می‌کنند و مانند گیاهان عالی دی اکسید کربن اتمسفری را احیاء و به قند تبدیل می‌کنند، تا هر دو همزیست تغذیه کنند. هر دو آب و مواد معدنی را به‌طور مستقیم از هوا،خاک و باران بدست می‌آورند. شریک قارچی با ذخیره کردن آب از جلبک محافظت می‌کند و سطح جذب کننده وسیعی را برای مواد معدنی ایجاد می‌کند. اسامی که برای نامیدن گلسنگ‌ها به کار می‌رود به بخش قارچی آن اشاره می‌کند که نقش اساسی در مشخص کردن شکل گلسنگ دارد در حقیقت قارچ بخش اساسی گلسنگ را شامل می‌شود. اگر چه در گلسنگ‌های رشته‌ای و ژلاتینی این مورد صدق نمی‌کند. عضو قارچی این مجموعه که بیشترین توده زنده آن را تشکیل می‌دهد از آسکومیست و در موارد معدود از بازیدیومیست‌هاست (Ghorbanli et al., 2012). بدن گلسنگ‌ها از رشته‌هایی به نام هیف تشکیل شده است. رشته‌های هیف در گلسنگ‌ها حاوی تعدادی از متابولیت‌های تولید شده می‌باشند (عرفانیان، ۱۳۷٤). تا کنون ساختار بیش از ۱۰۵۰ مادهٔ مختلف گلسنگی گزارش شده است.این ساختارها به خودی خود توسط قارچ‌ها یا جلبک‌ها تولید می‌شوند (Mitrovic et al., 2011)

گلسنگ‌ها می‌توانند در شرایط سخت به‌دلیل توانایی مواجه با شرایط نامطلوب مثل تابش زیاد، خشکی و دمای متفاوت زنده بمانند. گلسنگ‌ها از سیستم‌های دفاعی کاملاً پیشرفته در برابر گونه‌های واکنش گر اکسیژن برخوردارند. با وجود اینکه واکنش‌های اکسیداسیون برای زندگی حیاتی هستند، اما زیان آور و مخرب نیز هستند، از این رو گلسنگ‌ها شامل انواع متعددی از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند (Vecerova, 2010). گیاهان از جمله گلسنگ‌ها وقتی تحت تاثیر دمای پایین قرار می‌گیرند در واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آنها تغییراتی رخ می‌دهد. این تغییرات که در سطح میزان فعالیت آنزیم‌ها صورت می‌گیرد باعث تجمع آمینواسیدها، قندها و پروتئین‌های محلول می‌شود (Apostolova and Yaneva, 2006). دمای پایین تولید گونه‌های واکنش گر اکسیژن را که سبب تخریب جدی سلول مانند تخریب پروتئین‌ها، لیپید و DNA می‌شود را القا می‌کند (Guerrero et al., 2010; Sattler et al., 2000).

گیاهان توسط تعدادی از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی محافظت می‌شوند که عمل جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند. مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی در گیاهان شامل دو جزء است: جزء آنزیمی و غیرآنزیمی. اجزاء غیر آنزیمی شامل آنتی اکسیدان‌هایی نظیر توکوفرول، کاروتنوئیدها، آسکوربات و گلوتاتیون و اجزای آنزیمی شامل آنزیم‌هایی مثل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، مونودهیدرو آسکوربات ردوکتاز، دهیدروآسکوربات ردوکتاز و گلوتاتیون ردوکتاز می‌باشند (Mittler et al., 2004). Rankovic و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی و ضدسرطانی گلسنگ *Cladonia furcata*، *Lecanora atra* و *Lecanora muralis* پرداختند. مطالعهٔ فوق نشان داد که عصاره‌های گلسنگ‌های بررسی شده اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی و ضدسرطانی و ضدمیکروبی قوی دارند. آنها نشان دادند که گلسنگ‌ها می‌توانند به‌عنوان عوامل ضدسرطانی، آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدان

طبیعی در کنترل بیماری‌های مختلف انسانی، حیوانی و گیاهی مورد استفاده قرار بگیرند (Rankovic et al., 2011). Trigiani و همکاران (۲۰۰۹) دریافتند که *Xanthoria parietina* از فعالیت ضدسرطانی قوی برخوردار است.

استفاده از گلسنگ‌ها در طب سنتی از روزگاران قدیم در بسیاری از کشورها مرسوم بوده و در درمان بیماری‌هایی مثل تب زرد، صرع، تشنج، نقرس، سل ریوی و عفونت‌های میکروبی کاربرد داشته‌اند (نخعی‌مقدم و ذکایی، ۱۳۸۸). بعضی از ترکیبات آنها در تغذیه انسان و حیوان، برخی برای ایجاد رنگ، عطر، الکل و عده‌ای در صنعت پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین متابولیت‌های ثانویه، آنها در مقابل قارچ‌های انگل یا باکتری‌ها و چرای حیوانات از گلسنگ‌ها حفاظت می‌کنند. *L. pulmonaria* کاربرد گسترده ایی در طب سنتی در درمان بیماری‌های مختلف مثل اگزما، بیماری‌های ریوی و تنفسی و آرتریت دارد. این گلسنگ علاوه بر این به‌عنوان غذا و مصارف آرایشی نیز به‌کار برده می‌شود. به‌عنوان مثال، *L. pulmonaria* مدت‌ها قبل به‌عنوان غذا در رفع یبوست و درمان اختلالات تنفسی در طب سنتی ترکیه مورد استفاده بوده است. همچنین خواص ضدانعقادی و ضد التهابی آن نیز گزارش شده است (Atalay et al., 2011).

اخیراً توجه زیادی به گلسنگ‌ها به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی شده است. تحقیقات نشان داده است برخی از گلسنگ‌ها نظیر *Cetraria islandica, Parmelia saxatilis, Platismatia glauca, Ramalina pollinaria* و *R. polymorph* از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردارند (Sharma and Kalikotay, 2012). لذا با توجه به پراکنش گلسنگ‌ها در فصول مختلف سال هدف از این پژوهش بررسی تغییرات فصلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سه گونه گلسنگ *Lecanora muralis* (Schaerer) Rebenh. *Xanthoria parietina* (L.) Th.fr. و *Ramalina farinacea* (L.) Ach. در منطقه مغان بود.

مواد و روش‌ها

دشت مغان ایران، در شمال شرقی آذربایجان و شمال استان اردبیل بین ۳۸ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۳۹ درجه و ٤٧ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و ٤٧ درجه و ۳ دقیقه تا ٤٨ درجه و ۱۷ دقیقه طول شرقی از نصف النهار مبدا، واقع شده است. قسمت‌های جنوبی مغان که نواحی مرتفع و کوهپایه‌ای را شامل می‌شود دارای آب و هوای معتدل‌تر نسبت به نواحی شمالی آن است. زمستان نسبتاً سرد و تابستان‌های معتدل و گرم از ویژگی‌های آب و هوایی این قسمت مغان است. بارش در این منطقه از اواخر پاییز تا اوایل بهار بیشتر به‌صورت برف و در بقیه ماه‌های سال به‌صورت باران است و میانگین بارش سالانه آن حدود ٤٠٠ تا ۵۰۰ میلی‌متر می‌باشد. اما قسمت‌های شمالی مغان دارای آب و هوای گرم است، زمستان‌های معتدل و تابستان‌های گرم و همچنین وجود مه غلیظ و شبنم در فصل زمستان از ویژگی‌های آب و هوایی این منطقه می‌باشد. در این قسمت برف به‌ندرت می‌بارد و میانگین بارش سالانه بین ۲۰۰ تا ٤٠٠ میلی‌متر می‌باشد.

گلسنگ *Ramalina farinacea* و *Lecanora muralis* از مرکز شهر انگوت (شهر تازه کند) واقع در استان اردبیل به‌صورت تصادفی از کوه‌ها جمع‌آوری شد. این منطقه در ٤٧ درجه و ٤٥ دقیقه طول شرقی و ۳۹ درجه و ۲ دقیقه عرض شمالی واقع شده است. گلسنگ *Xanthoria parietina* نیز از اطراف تالاب شهرک پارس‌آباد مغان استان اردبیل به‌طور تصادفی از روی درخت جوالدوز (*Catalpa bignonioides*) جمع‌آوری شد. این تالاب در مختصات جغرافیایی ۳۹ درجه و ۳۵ دقیقه و ۳۱ ثانیه عرض شمالی و ٤٧

درجه و ٤٤ دقیقه و ٥٥ ثانیه طول شرقی قرار دارد و دارای آب و هوای معتدل است.هر سه گونه گلسنگ در فصل تابستان و بهار و زمستان جمع‌آوری و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی با هم مقایسه شد. شناسایی جنس و گونه توسط موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کرج انجام شد.

گلسنگ‌های از روی پوست و چوب درختان به کمک یک چاقوی تیز جدا شدند به‌طوری‌که به بافت‌های زنده درخت آسیب نرسد. گلسنگ *Ramalina farinacea* از صخره‌ها با توجه به اینکه رشد بیشتری داشت به وسیله دست جمع‌آوری شد ولی گلسنگ نوع *Lecanora muralis* با توجه به رشد کمتر توسط چاقو از سطح صخره‌ها خراشیده شده و جمع آوری گشتند. سپس نمونه‌ها خشک و در پاکت‌های کاغذی نگه داری شدند. علت خشک نمودن نمونه‌ها نگهداری آسان تر ومقاومت در مقابل آفات بود (پورویس، ١٣٨٨).

تهیه محلول عصاره‌گیری: برای عصاره‌گیری در این مرحله ٠/٥ گرم از گلسنگ را توزین کرده و آن را در ٠/٥ میلی‌لیتر بافر تریس گلایسین ساخته شده سائیده تا محلول هموژن بدست آید. عمل سائیدن به‌مدت ١٠ دقیقه در هاون چینی که درون ظرف پر از یخ قرار گرفته بود انجام شد. پس از سائیده شدن کامل نمونه، عصاره شفاف و سبز رنگ روئی به اپندورفی که دارای بر چسب مشخصات کامل بود انتقال یافت. سپس اپندروف‌ها درون سانتریفیوژ یخچال‌دار و در دور rpm ١٥٠٠٠به‌مدت ١٠ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از جدا نمودن محلول روئی اپندرف‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر نگهداری شدند.

سنجش فعالت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش Giannopolitis و Ries (١٩٧٧) سنجیده شد.مخلوط واکنش شامل متیونین ١٣ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT)٧٥ میکرومولار، ٠/١ میلی‌مولار EDTA و ریبوفلاوین ٢ میکرومولار می‌باشد. فعالیت آنزیم برحسب U/mg بیان شد. برای انجام آزمایش ٣ میلی‌لیتر از مخلوط بالا با ١٠٠ میکرولیتر از عصاره آنزیمی تهیه شده مخلوط و در مقابل نور ٥٠٠ لوکس به‌مدت ١٥ دقیقه قرار داده شد. سپس باقطع نور جذب نمونه در طول موج ٥٦٠ نانومتر خوانده شد. مقدار سوپراکسید دیسموتاز برحسب U/mg بیان شد

سنجش فعالت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Pereira و همکاران (٢٠٠٢) با بررسی میزان کاهش مقدار H_2O_2 در ٢٤٠ نانومتر، سنجیده شد. ٢/٥ میلی‌لیتر بافر تریس HCl (٥٠ میلی‌مولار pH7) با ٠/٣ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن در حمام یخ به دور از نور با یکدیگر مخلوط گردید و بلافاصله ٦٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی که از قبل آماده شده بود به لوله‌های آزمایش افزوده پس از چند ثانیه ورتکس جذب آنها در طول موج ٢٤٠ نانومتر خوانده شد.

سنجش آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش Korori (١٩٨٩) در طول موج ٥٣٠ نانومتر سنجیده شد، مخلوط مورد استفاده شامل ٢ میلی‌لیتر بافر استات ٠/٠٢ میلی‌مولار، ٢٠٠ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ٣ درصد و ٠/٢ میلی‌لیتر بنزیدین ٠/٠٤ مولار محلول در متانول ٥٠ درصدبود که همه مواد فوق در حمام یخ به دور از نور با یکدیگر مخلوط و بلافاصله ٠/١ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به لوله‌های آزمایش اضافه و برای چند ثانیه ورتکس شد. برای صفر کردن از لوله فاقد عصاره آنزیمی استفاده گردید و فعالیت آنزیم بر حسب میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد.

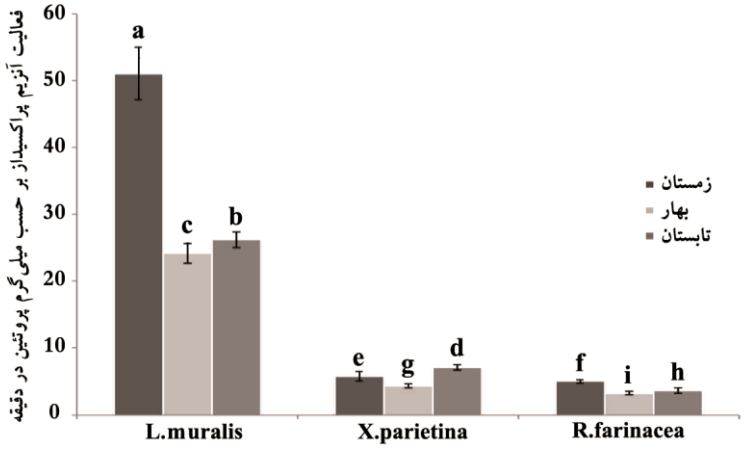
سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با پیگیری میزان اکسیداسیون آسکوربات در ۲۹۰ نانومتر سنجیده شد. مخلوط مورد استفاده شامل ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH۷)، ۰/۰۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۳ درصد (حجمی- حجمی) و ۰/۲ میلی‌لیتر اسیدآسکوربیک ۰/۵ میلی‌مولار بود. مواد فوق در حمام یخ بدون نور یا یکدیگر مخلوط و بلافاصله عصاره‌های آنزیمی تیمارهای مختلف به مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر به لوله‌های آزمایش که از قبل نامگذاری شده بودند اضافه شد. تمامی لوله‌ها به مدت چند ثانیه ورتکس شدند و جذب آنها در طول موج ۲۹۰ خوانده شدند. برای تهیه شاهد از ترکیبات بالا به غیر عصاره آنزیمی استفاده شد. فعالیت آنزیم بر حسب میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Nakona and Asad, 1987).

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز: جهت انجام این آزمایش ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH۷/۶ با ۰/٤ میلی‌لیتر پیروگالول ۰/۰۲ مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و در بن ماری ۲۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ دقیقه قرار گرفت. سپس تغییرات جذب در طول موج ٤۳۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم بر حسب $FWg^{-1}ODmin^{-1}$ محاسبه گردید (Manoranjan and Bandhumishra, 1975).

آنالیزهای آماری در این پژوهش بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون T با ضریب اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم گردید.

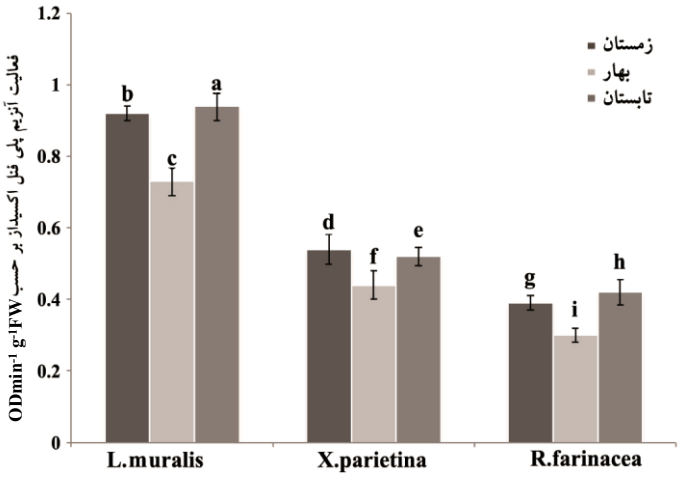
نتایج

نتایج بدست آمده نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو گلسنگ *L. muralis* و *R. farinacea* در زمستان افزایش معنی‌داری نسبت به بهار و تابستان داشت ولی در گونه *X. parietina* در تابستان افزایش معنی‌داری نسبت به فصل زمستان و بهار نشان داد. همچنین این آنزیم در بهار کاهش معنی‌داری نسبت به فصل زمستان و تابستان داشت (شکل ۱).



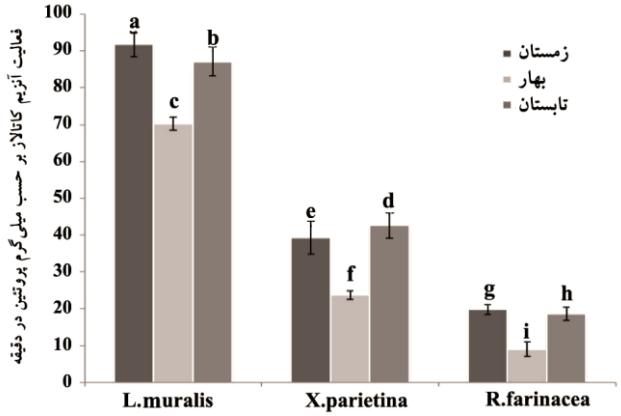
شکل ۱: فعالیت آنزیم پراکسیداز در فصول مختلف سال در سه گونه *Xanthoria parietina*، *Lecanora muralis* و *Ramalina farinacea*

چنانچه در شکل ۲ مشاهده می‌شود آنزیم پلی فنل اکسیداز در دو گونه *L. muralis* و *R. farinacea* در فصل تابستان افزایش معنی‌داری نسبت به دو فصل زمستان و بهار نشان داد ولی این آنزیم در گونه *X. parietina* در فصل زمستان، بیشتر و تفاوت معنی‌داری با دو فصل دیگر داشت (شکل ۲).



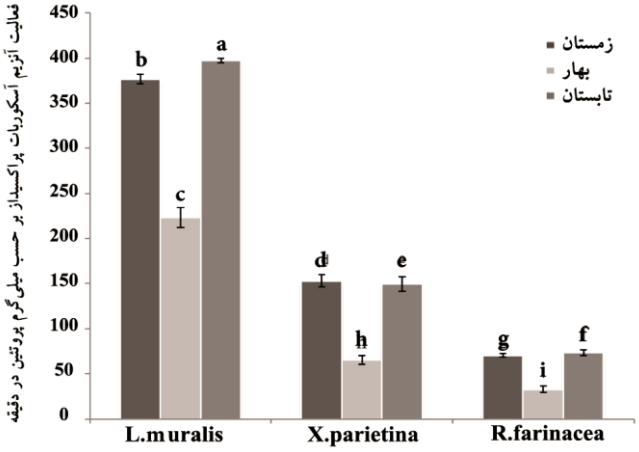
شکل ۲: فعالیت آنزیم پلی فنل کسیداز در فصول مختاف سال در سه گونه گلسنگ *Lecanora muralis, Xanthoria parietina* و *Ramalina farinacea*

طبق نتایج بدست آمده فعالیت آنزیم کاتالاز در دو گلسنگ *R. farinacea* و *L. muralis* در زمستان افزایش معنی‌داری نسبت به دو فصل بهار و تابستان داشت در حالی که در گلسنگ *X. parietina* این آنزیم در تابستان افزایش معنی‌داری نسبت به بهار و زمستان نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳: فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول مختاف سال در سه گونه گلسنگ *Lecanora muralis Xanthoria parietina* و *Ramalina farinacea*.

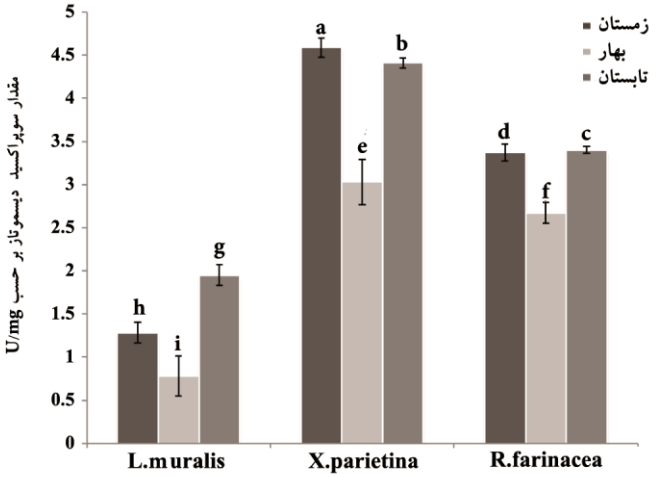
در بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد فعالیت آنزیم در هر سه گلسنگ *L. muralis, X. parietina, R. farinacea* در تابستان نسبت به دو فصل بهار و زمستان افزایش معنی‌داری یافت (شکل ٤).



شکل٤: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در فصول مختاف سال در سه گونه گلسنگ

Lecanora muralis، *Xanthoria parietina* و *Ramalina farinacea*.

نتایج این تحقیق نشان داد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در دو گونه *L. muralis, R. farinacea* در فصل تابستان نسبت به دو فصل زمستان و بهار افزایش معنی‌داری نشان داد در حالی که در گونه *X. parietina* در زمستان نسبت به دو فصل دیگر افزایش معنی‌داری یافت (شکل ٥).



شکل ٥: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در فصول مختاف سال در سه گونه گلسنگ

Lecanora muralis، *Xanthoria parietina* و *Ramalina farinacea*

بحث

برای جلوگیری از اثرات مخرب گونه‌های واکنش گر اکسیژن مکانیسم‌های حفاظتی در گلسنگ‌ها وجود دارد که شامل آنزیم‌های آنتی اکسیدان مثل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با وزن مولکولی کم می‌باشند (Weissman et al., 2005). در پژوهش انجام شده میزان سوپراکسید دیسموتاز در دو گونه گلسنگ *R. farinacea* و *L.muralis* در فصل تابستان تفاوت معنی‌داری با دو فصل دیگر داشت در حالی که در

گونه *X.parietina* در فصل زمستان بیشتر بود در هر سه گونه نیز فعالیت آنزیم در فصل تابستان و زمستان بیشتر از فصل بهار مشاهده شد که این تفاوت از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بود. در طی گزارشی اعلام شد فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در زمستان در گیاه هلو *Prunus persica* افزایش می‌یابد (Szalay et al., 2005). در پژوهش حاضر نیز آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گونه *Xanthoria parietina* در زمستان افزایش معنی‌داری نسبت به فصل‌های بهار و تابستان داشت که با تحقیق فوق مطابقت دارد. عنوان شده است آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گونه‌های *P. dubia* و *F. caperata* در تابستان افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد (Ghorbanli et al., 2012). در تحقیق حاضر نیز در دو گونه *R. farinacea* و *L. muralis* فعالیت آنزیم افزایش معنی‌داری نسبت به فصل‌های زمستان و بهار داشت که با تحقیق فوق مطابقت داشت.

کاتالاز یکی از مهمترین جاروب کننده‌های هیدروژن پراکسید محسوب می‌گردد که قبل از هر آسیب ناشی از به هم خوردن هومئوستازی H_2O_2، موجب تبدیل هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن می‌شود. آنزیم کاتالاز در پاک سازی گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در اثر تنش شوری در برنج نقش دارد (Shim et al., 1999). گزارش شده است که فعالیت این آنزیم در برگ‌های جو در زمستان افزایش می‌یابد و در مقاومت به یخ زدگی و سرما از طریق کنترل غلظت پراکسید هیدروژن نقش ایفا می‌کند (Baek et al., 2000). کاتالاز همراه با آسکوربات از جاروب کننده‌های مهم و تنظیم‌کننده سطح هیدروژن پراکسید در سلول می‌باشد. بنابراین افزایش فعالیت آن یکی از ضروریات بردباری به شرایط تنشی محسوب می‌شود (Dixit et al., 2001). گزارش شده است خشکی باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گلسنگ‌ها می‌شود (Weissman et al., 2005). فعالیت آنزیم کاتالاز در *P. dubia* و *F. caperata* افزایش معنی‌داری نسبت به بهار نشان داد (Ghorbanli et al., 2012).

Egert و Tevini (۲۰۰۲) گزارش کردند که در پیاز کوهی (*Allium schomoprasum*) ۹ روز پس از قطع آبیاری فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. پراکسیدازها نقش مهمی در شرایط تنش اکسیداتیو و جاروب گری پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند. آنها مسئول کاهش آسیب‌های اکسیداتیو بر غشای پلاسمایی می‌باشند، که این کار را با خنثی کردن رادیکال‌های پراکسید انجام می‌دهند. در تحقیق انجام شده توسط Citadin و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده شد در گیاه هلو فعالیت آنزیم پراکسیداز در فصل بهار کاهش پیدا می‌کند و در زمستان زیاد می‌شود که با تحقیق فوق هم‌خوانی دارد. همچنین عنوان شده است آنزیم پراکسیداز به‌عنوان جاروکننده پراکسید هیدروژن در گلسنگ *Ramalina lacera* عمل می‌کند (Weissman et al., 2005). در این راستا اعلام شده است فعالیت پراکسیداز در *F. caperata* و *P. dubia* افزایش معنی‌داری در زمستان نسبت به بهار و تابستان نشان می‌دهد (Ghorbanli et al., 2012).

از سوی دیگر تنش‌های محیطی سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست و دیگر اندامک‌های سلولی گیاه می‌شود. این رادیکال‌های آزاد اکسیژن ممکن است به‌وسیله آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تبدیل به پراکسید هیدروژن شده و سپس توسط آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تبدیل به آب شوند (Hauslanden and Balke, 1981). آسکوربات پراکسیداز از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سلول‌های گیاهی است. ایزوفرم‌های آن نسبت به کاتالاز میل ترکیبی بیشتری نسبت به پراکسید هیدروژن دارند و کارایی بیشتری نسبت به کاتالاز در جاروب نمودن پراکسیدهیدروژن دارا می‌باشند (Sharma and Dubey, 2004) و با تبدیل

پراکسید هیدروژن به آب در حضور اسیدآسکوربیک در طی چرخه گلوتاتیون-آسکوربات از تجمع سمی H_2O_2 در اندام‌های سنتزکننده آن جلوگیری می‌کند (Shigeoka et al., 2002). همچنین با اکسید کردن آسکوربات و تبدیل آن به مونو دهیدرو آسکوربات موجب تبدیل آب اکسیژنه به آب و اکسیژن می‌گردد. کاتالاز برای احیای پراکسیدهیدروژن در پراکسی زوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی در کلروپلاست کاتالاز وجود ندارد و نقش کاتالاز را آنزیم آسکوربات پراکسیداز ویژه‌ای ایفا می‌کند (Foyer and Noctor, 2005). تحقیقات نشان داده است فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز در اثر سرما افزایش یافته و این افزایش فعالیت نشان‌دهنده میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل افزایش یافته است (زینالی یادگاری و همکاران، ۱۳۸۸).

امروزه سوپراکسیدازدیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی در برابر صدمات ناشی از رادیکال‌های اکسیژن و همچنین برای کاتالیز سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن شناخته شده است (Scandalias, 1993). لذا یک نقش کلیدی در مکانیسم دفاعی در برابر سمیت رادیکال آزاد بازی می‌کند. در صورتی که رادیکال‌های آزاد افزایش یابند، این آنزیم باعث بازسازی سلول‌ها و کاهش میزان خرابی سلول‌ها می‌شوند (Geryory et al., 1974). در زمان تنش، معمولاً فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تحریک می‌شود (Mishra et al., 1995). اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های ضداکسیداتیو مانند پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه گندم منجر به افزایش آنزیم‌های مذکور شده است (Zhang et al., 2006).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به مطالعات انجام شده و نتایج بدست آمده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلسنگی در فصل‌های زمستان و تابستان بیشترین مقدار خود را داشت به‌دلیل اینکه در این فصل‌ها میزان تنش وارد شده به گلسنگ‌ها بیشتر بود در حالی که در فصل بهار با توجه به معتدل بودن هوا و نوسانات کم دمایی مقدار این آنزیم‌ها نسبت به دو فصل دیگر کم بود بنابراین به نظر می‌رسد تغییرات اقلیمی مرتبط با تغییر فصل‌ها سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌گردد.

منابع

پورویس، و. (۱۳۸۸). گلسنگ‌ها. حاجی منیری، م. (مترجم). جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۹۹.

حاجی منیری، م. (۱۳۸۳). مطالعه فلورستیک گلسنگ‌های استان خراسان. پایان‌نامه دکترای دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.

زینالی یادگاری ل.، حیدری ر. و کاراپتیان ژ. (۱۳۸۸). تغییر نفوذپذیری غشاهای زیستی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سویا در پاسخ به دمای پایین. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۲. شماره ۲. صفحات ۲۳۶-۲۲۹.

عرفانیان، ف. (۱۳۷٤). بررسی فیتوشیمیایی و اثرات ضدقارچی تعدادی از گلسنگ‌های ایران. پایان‌نامه دکترای دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران.

نخعی مقدم، م. و ذکایی، م. (۱۳۸۸). شناسایی و بررسی فعالیت ضد باکتریایی پنج گلسنگ بومی جمع‌آوری شده از حومه شهر مشهد در شرایط in vitro. گروه زیست‌شناسی، فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، شماره ۷. جلد ۲. صفحات ۳۳-۲۷.

Atalay, F., Halici, M., Mavi, A., Cakir, A., Odabasoglu, K., Cavit, A. and Kufrevioglu, A. (2011). Antioxidant phenolic from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm and Usnea longissima (Ach). Lichen species. Turkish Journal Chemistry. 35:647-661.

Baek, S.H., Kwon, I.S., Park, T.I., Yun, S.J., Kim, J.K. and Choi, K.G. (2000). Activities and isoenzyme profile of antioxidant enzymes in intercellular compartment of overwintering Barley Leaves. Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 33:385-390.

Citadin, I., Raseira, M.C.B., Augustin, F. and Herter, F. (2002). Relationship of peroxidase, 6-phosphoglucinolate dehydrogenase, phosphoglucoismerase to endodormancy phase in peach. Acta Horticulture. 592: 451-457.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyman, R. (2001). Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Journal of Experimental Botany. 52:1101-1109.

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.

Foyer, C.H., and Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. Plant Cell.17:1866-1875.

Ghorbanli, M., Amirkian, T.T. and Niakan, M. (2012). Seasonal changes in antioxidant activity, flavonoid, anthocyanin and phenolic compounds in *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale and physciadubia (Hoffm.) Lettau from babol forest sites in north of Iran. Journal of Plant Physiology. 2(3):461-469.

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

Guerrero, C.J., Ciampi, P.L., Castilla, C.A., Medel, S.F., Schalchli, S.H., Hormazabal, U.E., Bensch, T.E. and Alberdi, L.M. (2010). Antioxidant capacity, anthocyanin, and total phenols of wild and cultivated berries in Chile. Chilean Journal of Agricultural Research. 70 (4):537-544.

Hale, M.E. (1963). Population of chemical strains in the lichen cetrariacliaris. Brittonia. 15:126-133.

Hauslanden, A. and Balke N.E. (1981). Glutathione–active oxygenic plants in: Alscher R.G. and Hess J.L. (eds) antioxidants in higher plants. CRC Press, Boca Ratton. 12-15.

Korori, S.A.A. (1989). Gel elektrophorestishe and spectral photometris choe unter zomein der temperature auf straktur and aktrits der amylase und peroxidase isoenzyme. Vegetable Physiology. 20:15-23.

Larson, D.W. (1987). The absorption and release of water by lichens. Bibliotheca Lichenologica. 25:351-360.

Manoranjan, K. and Bandhumishra, D. (1975). Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Biochemistry and Enzymology. 57:315-319.

Mishra, S., Venkatesan, T.R., Rajaguru, S.N. and Somayajulu, B.L.K. (1995). Earliest acheulian industry from Peninsula India. Current Anthropology, 36:847-51.

Mitrović, T., Stamenković, S., Cvetković, V., Tošić, S., Stanković, M., Radojević, I., Stefanović, O., Čomić, L., Đačić, D., Ćurčić, M. and Snežana, M. (2011). Antioxidant, antimicrobial and antiproliverative activities of five lichen species. International Journal of Molecular Sciences.12:5428-5448.

Mittler, R., van der Auwerra, S., Gollery, M. and Breusegem, F.V. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Science. 10:490-498.

Nakano, A. and Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: Its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydro ascorbate radical. Plant Cellular Physiology. 28:131–140.

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

Rankovic, B.R., Kosanic, M.M. and Stanojkovic, T.P. (2011). Antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of the lichens *Cladoniafurcata, Lecanoraatra* and *Lecanora muralis*. BMC Complementary and Alterative Medicine. 11:97.

Sattler, U., Calsou, P., Boiteux, S. and Salles, B. (2000). Detection of oxidative base DNA damage by a new biochemical assay. Archives of Biochemistry and Biophysics. 376: 26-33.

Scandalias, J.G. (1993). Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiology. 101:7-12.

Sharma, B.C. and Kalikotay S. (2012). Screening of antioxidant activity of lichens *Parmotrema reticulatum* and *Usnea* sp. from Darjeeling hills, India. Journal of Pharmacy. 2(6):54-60.

Sharma, P. and Dubey, R.S. (2004). Ascorbate peroxidaze from rice seedlings: properties of

enzyme isoforms, effect of stresses and protective roles of osmolytes. Plant Science. 167:541-550.

Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, K. (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. Journal Experimental Botany. 53:1305-1319.

Shim, I.S., Naruse, Y., Kim, Y.H., Kobayashi, K. and Usui, K. (1999). Scavenging activity of NaCl-induced activated oxygenic two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salt tolerance. Japanese Journal of Tropical Agriculture. 43:32-41.

Szalay, L., Hegedus, A. and Stefanovits-Banyai, E. (2005). Presumable protective role of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes against freezing stress in peach (*Prunus persica* L. /Batsch). Acta Biologica Szegediensis. 49(2):121-122.

Triggiani, D., Ceccarelli, D., Tiezzi, A., Pisani, T., Munzi, S., Gaggi, C. and Loppi, S. (2009). Anti proliferative activity of lichen extracts on murine myeloma cells. Biologia. 64:59-62.

Večeřová, K. (2010). Involvement of antioxidants and pigments inphotoprotection of lichen photosynthesis under stress. Ph.D. thesis Masarykova Univerzita**.**

Weissman, L., Garty, J. and Hochman, A. (2005). Characterization of enzymatic antioxidants in the lichen *Ramalina lacera*and their response to rehydration. Applied and Environmental Microbiology. 71(11): 6508-6514.

Zhang, G., Tanakamaru, K., Abe, J. and Morita, S. (2006). Influence of water logging on some anti-oxidative enzymatic activities of two barley genotypes differing in anoxia tolerance. Acta Physiologia Plantarum. 29 (2):171-176.