اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی خرفه

مرجان السادات حسینی[۱]، معصومه عالمیان[۲*]، سمیه اسفندیاری بیات[۳]، فاطمه السادات حسینی چمگردانی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

[۲*،۳]دانش‌آموخته ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران اهواز، اهواز

[۴]دانشجوی لیسانس گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه سید جمال‌الدین اسدآبادی، همدان

نویسنده مسئول: M_amytis5@yahoo.com

چکیده

خرفه (*Portulaca oleracea*)، به‌عنوان یک گونه دارویی شناخته شده در سر تا سر جهان، حاوی طیف وسیعی از ترکیبات فعال دارویی می‌باشد. تنش آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشورهای خاورمیانه مانند ایران به‌شدت رشد و بقای گیاه خرفه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌منظور بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه خرفه بومی ایران تحت استرس آبی مورد مطالعه قرار گرفت. گیاهان رشد یافته در گلدان، تحت تأثیر چهار تیمار آبی شامل: بدون تنش آبیاری (در حد ظرفیت زراعی، شاهد)، تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) قرار گرفتند. این تیمارها در دوره رشدی گیاه به مدت دو ماه اعمال شدند و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز بررسی شدند. فعالیت هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدانی تحت تنش خشکی افزایش پیدا کرد. به‌طورکلی بیشترین فعالیت‌های آنزیمی در تنش شدید و متوسط مشاهده شد، اما فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در تنش ملایم تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان ندادند.

***کلمات کلیدی:* استرس آبی، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز**

مقدمه

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* یکی از اعضای خانواده Portulacaceae می‌باشد. خرفه گیاهی است علفی، یک‌ساله با ساقه‌های گوشت دار قرمز و برگ‌های ضخیم و متقابل آبدار سبز و گل‌های زرد یا سفید کوچک و تخم‌های سیاه ریز که خواص دارویی دارند. این گیاه یک اثر حفاظتی بر روی کبد داشته و این عضو را در برابر آسیب‌های ناشی از هجوم رادیکال‌های آزاد و بالطبع پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می‌کند. تخم خرفه ضد کرم بوده و عصاره ساقه و برگ آن نیز برای بیماری کبد و درد کلیه مفید است (Zaree et al., 2014). محدودیت آب و تنش کم‌آبی به‌طورمعمول بر مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان اثرگذار است. تنش کم‌آبی به‌عنوان یک استرس اکسیداتیو اغلب منجر به کاهش محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌گردد که این امر می‌تواند ناشی از کاهش سنتز یا افزایش میزان تخریب آن‌ها باشد. بررسی رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و اسکوربات پر اکسیداز در گیاه زردچوبه (*Curcuma longa* L.) تحت تأثیر پتانسیل‌های مختلف آبی نشان داده است که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری رشد رویشی و میزان فعالیت آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و با کاهش پتانسیل آب، وزن کل گیاه کاهش یافته و فعالیت هر دو آنزیم تا پتانسیل ۶- بار روند افزایشی داشته و با کاهش بیشتر پتانسیل آب، فعالیت آن‌ها کاهش می‌یابد (Zamani et al., 2012). بررسی کولتیوارهای *Brassica napus* تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز گردید درحالی‌که منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. به‌هرحال کولتیوارهای مقاوم‌تر این گونه فعالیت بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در هر دو شرایط تنش و

کنترل در مقابل کولتیوارهای حساس از خود نشان دادند (Abedi and Pakniyat., 2010). در این پژوهش هدف بررسی تنش خشکی بر روی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در ابتدا بذر خرفه تحت شرایط گلدانی در شیراز در سال ۱۳۹۵ کشت شدند. تا قبل از اعمال تیمارهای خشکی تمامی گلدان‌ها بر اساس نیاز گیاه و در حد ظرفیت زراعی خاک و به یک میزان آبیاری شدند. بعد از استقرار مناسب گیاهان اعمال تنش با چهار سطح، بدون تنش آبیاری (در حد ظرفیت زراعی، شاهد)، تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) صورت گرفت. پس از گذشت دو ماه از شروع تیمارها گیاهان جهت سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برداشت شدند.

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز، یک گرم از برگ با چهار میلی‌لیتر محلول عصاره گیری مخلوط شد. محلول عصاره گیری شامل مخلوط کردن ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسیدآسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، دو گرم Na2EDTA و ۱۶/۶ گرم پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود (pH=7). ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH=7 و ۰/۲ میلی‌لیتر آب‌اکسیژنه ۳ و ۱۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه گردید. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر قرائت شد (Chance and Maehly,1995).

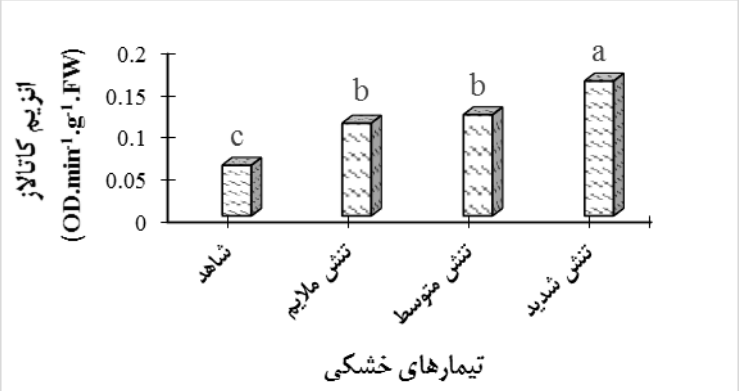
برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز دو میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار (pH=5) با ۰/۴ میلی‌لیتر آب‌اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه ۰/۰۱ مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. جذب نوری در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید (Arrigoni et al., 1997).

سنجش فعالیت پلی فنل اکسیداز: ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=7.6) با ۰/۴ میلی‌لیتر پیروگالول ۰/۰۲ مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و جذب در طول موج ۴۳۰ قرائت گردید (Manoranjan and Bandhu-Mishra, 1976).

روش‌های محاسبه آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام شد. همچنین مقایسه بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری sas با سه تکرار صورت گرفت.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر مشاهده شد فعالت آنزیم کاتالاز برگ خرفه تحت تنش خشکی افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۱). تنش خشکی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه را تغییر می‌دهد. همچنین باعث انباشتگی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و ترکیبات اکسیدانی شده و منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (Song et al., 2008). گیاهان با فعال نمودن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به تنش پاسخ می‌دهند. در این راستا افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی جهت مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی در گیاهان گزارش شده است. فعالیت آنزیم کاتالاز برای رفع سمیت پراکسید هیدروژن که تحت شرایط تنش ایجاد می‌شود بسیار ضروری است زیرا از خسارت‌های حاصل از تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (Kleff et al., 1994).

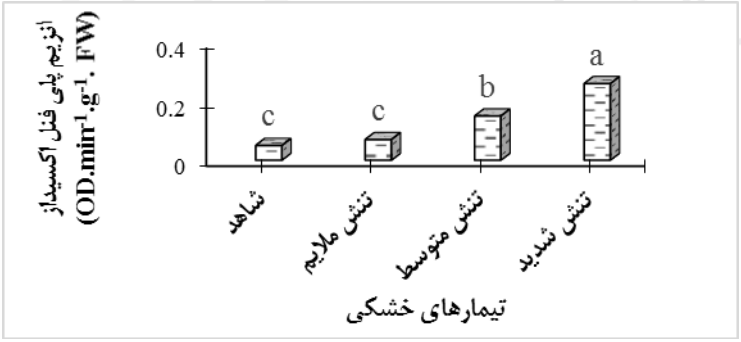


شکل ۱- اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ گیاه خرفه

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ خرفه تحت تنش خشکی شدید در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۲). تحت شرایط تنش خشکی فعالیت آسکوربات پراکسیداز به بالاترین مقدار خود افزایش یافت که این امر منجر به افزایش کمتر در پراکسیداسیون لیپیدی و نشت یونی گردید. فعالیت بالاتر آنزیم آنتی‌اکسیدانی همچنین منجر به بهبود و افزایش تحمل در گیاهان مانند زیتون گردید (Ben-Ahmed et al., 2009).

شکل ۲- اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز برگ گیاه خرفه

مطابق با نتایج به دست عمده فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز در برگ تحت تأثیر تنش‌های متوسط و شدید در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۳). افزایش فعالیت این آنزیم ممکن است با القا پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی که موجب حفظ گیاه در برابر خسارت اکسیداتیو می‌گردند، مرتبط باشد (Dey et al., 2007).



شکل ۳- اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ گیاه خرفه

منابع

Zaree, A., Changizi Ashtebani, S., Taheri, S. 2014. Purslane extract the physiological function of the body's tissues. Journal of Qom University of Medical Sciences. 8 (5): 109-99 (in Persian)

Zamani, Z., Mostajeran, A., Asghari, GH. 2012. Effect of drought stress on the growth and activity of antioxidant enzymes catalase and ascorbate peroxidase in plant turmeric (*Curcuma longa* L.). Journal of Plant Science; 7 (3): 37-31 (in Persian)

Abedi, T., Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzyme change in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czeeh Journal of Genetic and Plant Breeding; 46: 27-34

Arrigoni, O., Calabrese, G., De Gara, L., Bitonti, M.B. and Liso, R. 1997. Correlation between changes in cell ascorbate and growth of *Lupinus albus* seedling. Journal of Plant Physiology; 150: 302-308.

Ben-Ahmed, C.B., Rouina, B.B., Sensoy, S., Boukhris, M., Abdallah, F.B. 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Enviromental and Experimental Botany; 67: 345-352

Chance, B. and Maehly, C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. Methods of Enzymology; 11: 764-755.

Dey, S.K., Dey, J., Patra, S. and Pothal, D. 2007. Changes in antioxidative enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. Brazilian. Journal of Plant Physiology; 19(1): 53-60.

Kleff, S., Trelease, R.N. and Eising, R. 1994. Nucleotide and deduced amino acid sequence of a putative higher molecular weight precursor for catalase in sunflower cotyledons. Biochemical and Biophysical Acta; 1224: 463-466.

Manoranjan, K. and Bandhu-Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and poly phenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Biochemistry and Enzymology; 57: 315-319.

Song, W.Y., Zhang, Z.B., Shao, H.B., Guo, X.L., Cao, H.X., Zhao, H.B., Fu, Z.Y., and Hu, X.J. 2008. Relationship between calcium decoding elements and plant abiotic-stress resistance. International Journal of Biological Sciences; 4(2): 116-125.

Effects of Drought Stress on the Activities of Antioxidant Enzymes Medicinal Herb Purslane

Marjan Sadat Hosseini[1], Masoomeh Alamiyan[2*], Somayeh Esfandiari Bayat[3], Fatemeh Sadat Hosseini Chamgordani[4]

[1]PhD Student, Department of Horticultural Science, University of Hormozgan, Bandar Abbas
[2*,3]MSc Student, Department of Horticultural Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz
[4]BSc Student, Department of Horticultural Science, Sayyed Jamal University, Hamedan
[*]*Corresponding Author: M_amytis5@yahoo.com*

Abstract

***Portulaca oleracea* L., is one of the best known medicinal plant all over the world, includes chemical constituents. Water stresses in the arid and semiarid regions of Middle Eastern countries, however, severely limits growth, production, and survival of Purslane. To determine the biochemical responses of native Purslane to water stress were studied. The plants grown in pot, were subjected to four water stress conditions, no water stress, mild, moderate and severe water stress, which were continuously maintained throughout the entire plant development and growth period and antioxidant enzymes were monitored. The treatments were applied during plant growth for two months and antioxidant enzymes such as catalase, ascorbate peroxidase and polyphenol oxidase were studied. All three antioxidant enzyme activities under drought stress increased. Generally, the highest activities of the enzyme were observed in moderate and severe stresses, but the enzymes activity of ascorbate peroxidase and polyphenol oxidase in moderate stress did not show significant differences with control.**

***Keywords*: Water stress, Catalase, Polyphenol oxidase, Peroxidase**