



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"

دوره ششم، شماره اول، بهار و تابستان ۹۸

<http://arpe.gonbad.ac.ir>

بررسی پاسخ آنتی‌اکسیدانی و فیزیولوژیکی سویا به پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی با عصاره‌ی گیاه دارویی مرزنجوش (*Marjoram Oreganum*)

پروانه استخدامی^{۱*}، مهدی برادران فیروزآبادی^۲، حسن مکاریان^۳، حسن قربانی قوژدی^۴

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود

^۲استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود

^۳مربی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۱

چکیده

مقدمه: امروزه در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. این مواد می‌توانند آثار متفاوتی بر روی سایر گیاهان داشته باشند.

مواد و روش‌ها: جهت بررسی این موضوع آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شاهرود در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل پیش‌تیمار بذری با عصاره مرزنجوش (اندام رویشی مرزنجوش) در پنج سطح (عدم پیش‌تیمار (آب خالص))، پیش‌تیمار با عصاره به غلظت ۴۰ و ۶۰ درصد مرزنجوش هر کدام به مدت زمان‌های ۶ و ۹ ساعت) به‌عنوان فاکتور اول و محلول‌پاشی با عصاره مرزنجوش در سه سطح (محلول‌پاشی با آب خالص، محلول‌پاشی با غلظت ۴۰ و ۶۰ درصد مرزنجوش) به عنوان فاکتور دوم بودند، که در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار قرار گرفتند.

نتایج: بالاترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ۹ ساعت پیش‌تیمار بذر با غلظت ۶۰ درصد و کم‌ترین فعالیت در شاهد مشاهده شد. افزایش غلظت عصاره مرزنجوش تأثیر به‌سزایی بر پارامترهای مورد نظر داشت. به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره مرزنجوش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز در برگ سویا تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر با عصاره مرزنجوش افزایش می‌یابد.

*نویسنده مسئول: Estkhdami11942@gmail.com

مقدمه

امروزه در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده است؛ که در همین راستا تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است (Ahmadi *et al.*, 2007). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌طور مؤثری از اکسیداسیون لپیدها جلوگیری می‌کنند (Mazandarani, 2006). یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در نمونه‌های گیاهی است که فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن را محدود می‌کنند. بخش قابل توجهی از صدمات وارد شده به گیاهان در شرایط سخت محیطی مربوط به این گونه‌های فعال است (Bels *et al.*, 2003).

انواع اکسیژن فعال برخلاف اکسیژن اتمسفری از میل ترکیبی بسیار زیادی جهت واکنش با تمامی بیومولکول‌های حیاتی سلول برخوردارند، به‌طوری‌که این ترکیبات با پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک موجود در سلول وارد واکنش شده و سبب تخریب پروتئین‌ها و غیر فعال شدن آن‌ها، آسیب به غشاهای تجزیه پللی ساکاریدها و ایجاد جهش در DNA می‌گردند (Mittler, 2002). بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیبات آروماتیک آن‌ها به‌عنوان منابع طبیعی، که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. سنا از گیاهانی است که در ایران می‌روید و خواص آنتی‌اکسیدانی آن به اثبات رسیده است. در این پژوهش ابتدا عصاره سنا با حلال‌های الکلی اتانول و متانول ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد و آب به‌طور جداگانه استخراج شد. سپس میزان ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن ارزیابی شد. نتایج نشان داد نوع و میزان حلال بر میزان ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی اثر دارد و ارتباط معنی‌داری بین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت بازدارندگی مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی عصاره افزایش می‌یابد. در پایان بهترین نوع و میزان حلال برای بیشترین استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی مشخص شد (محبوبی و همکاران، ۱۳۹۰).

سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال از یکسری مکانیسم‌های دفاعی برخوردارند که آن‌ها را قادر می‌سازد تا با جمع‌آوری کامل انواع اکسیژن فعال و احیای آن‌ها به آب از آسیب به بیومولکول‌های حیاتی پیشگیری نماید. مکانیسم‌های دفاعی سلول‌های آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر آسکوربات، گلوکاتیون، توکوفرول، کاروتنوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز تشکیل شده است. اگر میزان تولید انواع اکسیژن فعال بر میزان فعالیت سیستم‌های دفاعی غلبه کند در این صورت تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی اتفاق خواهد افتاد. با افزایش شدت آسیب‌های وارده به بیومولکول‌های حیاتی و ایجاد اختلال متابولیسمی، در نهایت مرگ برنامه‌ریزی شده اجرا گشته و سلول از بین می‌رود.

رود (Esfandiari et al., 2007).

اسانس‌های استخراج شده از گیاهان در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، دارویی و آرایشی بهداشتی استفاده می‌شود. امروزه فعالیت بیولوژیکی اسانس‌ها بیش از گذشته مورد توجه قرار است، به همین دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها توسط محققان زیادی مورد بررسی قرار گرفته است (Dok et al., 2001). یکی از گیاهانی که امکان بررسی و مطالعه بیشتر از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برای آن وجود دارد، گیاه مرزنجوش است. مرزنجوش یکی از گیاهان دارویی خانواده نعنائیان می‌باشد. پیکر رویشی مرزنجوش از بوی مطبوعی برخوردار است، که ناشی از وجود روغن فرار (اسانس) می‌باشد. اسانس در کرک‌های غده‌ای ساخته و ذخیره می‌شود (Yamarua et al., 1992).

همچنین در پیکر رویشی مرزنجوش غیر از اسانس ترکیباتی مانند تانن‌ها، فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ وجود دارد (Foria and Bellanca, 1995). اسانس مرزنجوش از جمله ده اسانس معروف است که دارای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی، آنتی‌اکسیدان، نگهدارنده طبیعی غذا و تأخیردهنده پیری است (Sheligi, 1986). در سال‌های اخیر مطالعاتی در جهت بررسی و استخراج آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان مختلف صورت گرفته است که می‌توان به استخراج ترکیبات فنولی از میخک و نعناع (Shobana and Nidu, 2000)، گشنیز (Mita, 1997)، برگ شاه توت (Arabshahi and Urooji, 2006)، رزماری (Arkan and Mohammadi, 2008)، کرفس کوهی (Ahmadi et al., 2007) و برگ‌های کاهو (Llorach et al., 2008) اشاره نمود. به عنوان مثال می‌توان به تأثیر مثبت عصاره گیاه دارویی سرو لاوسون بر جوانه‌زنی شوید و اسفرزه (Nematololahsani, 2010) اشاره کرد. بنابراین با توجه به مواد موجود در مرزنجوش و خواص آنتی‌اکسیدانی آن، این گونه استنباط می‌شود که شاید بتوان با اعمال عصاره این گیاه روی گیاهان زراعی تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی و رشد و نمو آن‌ها مشاهده نمود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود اجرا شد. شهرستان شاهرود در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی از نصف النهار گرینویچ واقع شده است و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۶۶ متر می‌باشد. منطقه بسطام دارای اقلیم سرد و خشک می‌باشد و میانگین بارندگی سالانه در این منطقه بین ۱۵۰ تا ۱۶۰ میلی‌متر است و بارندگی‌ها عمدتاً در فصل پاییز و زمستان رخ می‌دهد. حداکثر دمای منطقه به ترتیب ۱۳ و ۳۹ درجه سانتی‌گراد است. پس از انجام عملیات زراعی، در زمان مناسب در یک طرف پشته‌ها، کاشت بذور سویا رقم DPX آغشته به باکتری برادی رابزیوبیوم ژپونیوم^۲ به وسیله دست و به فاصله ۱۰ سانتی‌متر روی ردیف و ۵۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها در تاریخ ۸ خرداد ۱۳۹۳ با دست انجام شد.

1- *Rhizobium Japonicum*

تیمارهای آزمایش شامل پیش‌تیمار بذری با عصاره مرزنجوش در پنج سطح (عدم پیش‌تیمار، پیش‌تیمار با عصاره ۴۰ و ۶۰ درصد مرزنجوش هر کدام به مدت زمان‌های ۶ و ۹ ساعت) به‌عنوان فاکتور اصلی و محلول‌پاشی با عصاره مرزنجوش در سه سطح (محلول‌پاشی با آب خالص، عصاره ۴۰ درصد و عصاره ۶۰ درصد مرزنجوش) به‌عنوان فاکتور فرعی بودند که در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار قرار گرفتند. مرحله‌ی اول محلول‌پاشی ۶۷ روز بعد از کاشت (۵ برگی) و مرحله‌ی دوم محلول‌پاشی ۸۰ روز بعد از کاشت (آغاز گلدهی)، هنگام عصر و در هوای آرام انجام شد. برداشت نهایی بوته‌ها در انتهای دوره رشد پس از رسیدگی فیزیولوژیک (۴۵ روز بعد از برداشت) از مساحت ۱/۵ مترمربع جهت اندازه‌گیری عملکرد نهایی، اجزای عملکرد و تعدادی از صفات زراعی مانند ارتفاع و قطر ساقه و تعداد شاخه فرعی صورت پذیرفت. اولین نمونه‌برداری بدین صورت که از برگ‌های کامل و بالایی برداشت و داخل نایلون شماره دار قرار داده و به وسیله کلمن حاوی یخ، به آزمایشگاه منتقل و جهت انجام آزمایش‌های مربوطه در فریزر نگهداری شدند (وزن تر) و یکسری نمونه‌های در داخل پاکت‌های کاغذی شماره دار قرار گرفتند و سپس به آزمایشگاه منتقل شده و پس از اندازه‌گیری وزن تر آن‌ها بوسیله ترازو، در داخل دستگاه آون، در حرارت ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شده تا کاملاً خشک شوند. پس از خروج از آون، جهت به دست آوردن وزن خشک و پس از گذشت مدت زمان ۲۰ دقیقه‌ای جهت رسیدن به تعادل دمایی با محیط، با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند (وزن خشک) برداشت جهت تعیین عملکرد و اجزای عملکرد در تاریخ ۱۳۹۴/۸/۲۵ مقارن با ۱۶۰ روز پس از کاشت صورت گرفت.

به‌منظور استخراج آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ۰/۰۵ گرم اندام تر برگ در مرحله ۱۶ برگی (۱۰ روز پس از دومین محلول‌پاشی یک هاون چینی محتوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۰۵ مولار (pH=۷/۵) به مدت ۳۰ دقیقه و در حمام یخ کاملاً ساییده شد. سپس به لوله سانتریفوژ منتقل شد و پس از ده دقیقه سکون به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور، سانتریفوژ نمونه‌ها انجام شد. فاز رویی از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره پروتئینی حاصل برای بررسی فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: جهت تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز ۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۰۵ مولار (pH= ۷/۵) و ۲/۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۰/۱ درصد به مدت ۳۰ دقیقه و در حمام یخ قرار گرفت و بلافاصله ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده با استفاده از ضریب خاموشی $36 \text{mmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ محاسبه شد. فعالیت ویژه آنزیم بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده توسط آنزیم به‌صورت تغییرات جذب در دقیقه به ازای نانو مول بر گرم وزن تر محاسبه گردید. از بافر پتاسیم فسفات به عنوان شاهد استفاده شد (Aebi, 1974).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش پروچازکا و همکاران اندازه‌گیری شد (Prochazka et al., 1998). محلول شامل فسفات پتاسیم (۱ میلی مول، pH=۷/۵) و ۰/۳۶ میلی مول EDTA به همراه ۹/۹ میلی مول ایزوآسکوربات بود. فعالیت آنزیم در محلول واکنش شامل بافر فسفات سدیم (۲۰۰ میلی مول)،

۰/۱ میلی مول NADPH، ۰/۲۵ میلی مول گلوکاتین، ۱/۵ میلی مول منیزیم کلرید، ۰/۲ میلی مول EDTA مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه و به مدت ۱ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و میزان جذب آنزیم در ۳۴۰ نانومتر ارزیابی و براساس منحنی استاندارد فعالیت آنزیم اندازه‌گیری شد. از بافر پتاسیم فسفات به عنوان شاهد استفاده شد

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: ابتدا ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (pH = ۶)، ۳۷/۵ میکرولیتر آسکوبات، ۱۱۱۸/۸۵ میکرولیتر آب را در تیوپ ریخته و سپس ۱/۵ میکرولیتر H_2O_2 به آن اضافه شد و بلافاصله در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۹۰ nm میزان جذب آن قرائت گردید و پس از سپری شدن مدت زمان یک دقیقه دوباره میزان جذب قرائت گردید، برای این منظور از ضریب خاموشی ۲/۸ بر میلی مول در سانتی متر بر اساس میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه استفاده شد. از بافر پتاسیم فسفات به عنوان شاهد استفاده شد (Nakano and Asada, 2000).

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و MSTATC و رسم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که آنزیم کاتالاز تحت تأثیر پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت (جدول ۱). بالاترین مقدار آنزیم کاتالاز در برگ گیاهانی با هر دو غلظت ۴۰ و ۶۰ درصد مرزنجوش با ۹ ساعت پیش تیمار و محلول پاشی با غلظت ۶۰ درصد به مقدار ۶۷/۵ درصد و کمترین مقدار برای شاهد ثبت گردید (شکل ۱).

آنزیم کاتالاز یکی از آنزیم‌های کلیدی در تجزیه H_2O_2 است. تنش در گیاهان مقادیر اشکال اکسیژن فعال (ROS) از قبیل آنیون سوپر اکسید (O_2^-) پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (HO) و اکسیژن منفرد (O_2) افزایش می‌دهند. این مولکول‌های فعال موجب صدمه به ماکرومولکول‌ها و نیز ساختار سلولی گردیده یا این‌که به عنوان مولکول منفرد موجب فعال شدن سلسله پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌گردند. گیاهان از دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی برای دفاع در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال استفاده می‌نمایند. سیستم‌های آنزیمی شامل آنزیم‌های نظیر سوپراکسید دسموتاز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد. در سیستم غیر آنزیمی، آنتی‌اکسیدانت‌هایی مانند ویتامین E، اسید آسکوربیک و ویتامین A خط دفاعی بعدی را در مقابل حمله انواع رادیکال‌های اکسیژن فعال تشکیل می‌دهند (Asada and Takahashi, 1987). نتایج نشان می‌دهد فعالیت آنزیم کاتالاز با عملکرد رابطه عکس وجود دارد و رابطه مثبتی بین آن‌ها ایجاد نشده است. این موضوع نشان دهنده این مطلب است که گیاهان در مواجهه با تنش‌ها محیطی با تولید متابولیت‌هایی نظیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با تنش مقابله می‌نماید. هزینه این مبارزه کاهش عملکرد خواهد بود. گیاه ان برای کاهش دادن اثرات مخرب گونه‌ها یا اکسیژن فعال کارهای متفاوتی دارند که از جمله

آن‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اشاره کرد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و به دنبال افزایش مقدار پراکسید هیدروژن در نقاط مختلف سلول فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش می‌دهند و به‌عنوان یک آنزیم محافظتی سبب تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Aylkayy *et al.*, 2009).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات فیزیولوژیکی سویا تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش

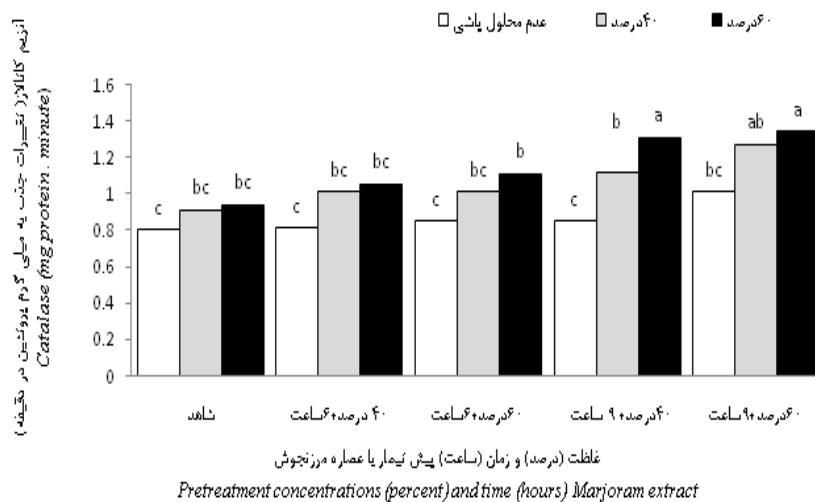
Table 1- Analysis of variance (MS) of physiological traits of soybean under seed priming and foliar with extracts of marjoram

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی Df	کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbat peroxidase	پراکسیداز Peroxidase
تکرار Replication	2	0.00497	0.00013	0.00013
پیش‌تیمار بذر (A) Seed priming	4	0.0146**	0.00109**	0.00109**
محلول پاشی (B) Foliar aplication	2	0.287**	0.01815**	0.01815**
A × B	8	0.0119**	0.00089**	0.00089**
خطا Error	28	0.0109	0.00034	0.00034
ضریب تغییرات CV (%)		28	9.75	9.75

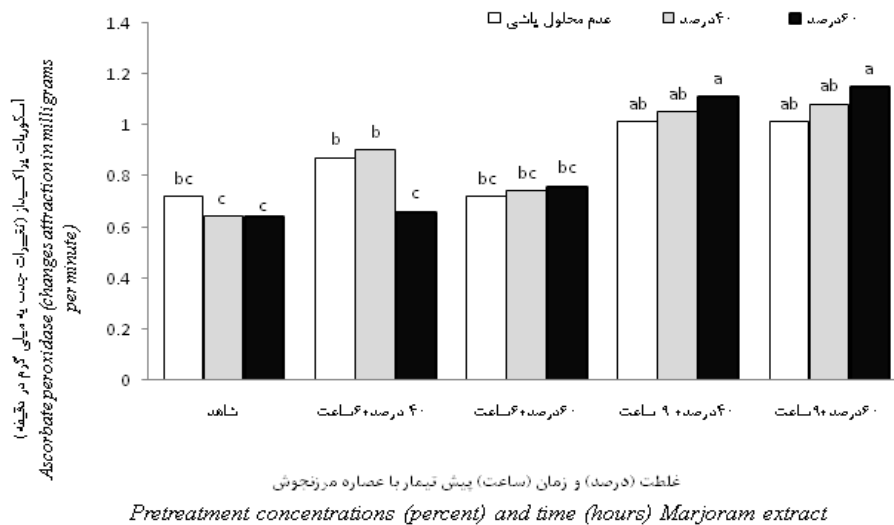
ns, * و **: به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت (جدول ۱). در گیاهانی که بذر آن‌ها به مدت ۹ ساعت در معرض پیش‌تیمار با عصاره ۴۰ و ۶۰ درصد مرزنجوش قرار گرفته بودند فعالیت بالایی به میزان ۷۹ / ۶۸ ثبت گردید. شاهد کمترین میزان را داشت (شکل ۲). لذا نتایج نشان داد که هرچقدر غلظت و مدت زمان پیش‌تیمار با عصاره مرزنجوش افزایش یابد، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بیشتر می‌شود. بیومارکرها در جلوگیری از تخریب و از بین رفتن سلول در برابر تنش اکسیداتیو نقش دارند، به طوری که بیومارکرها به عنوان یک منبع و اکشن به گونه‌های فعال اکسیژن به‌شمار می‌روند و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز عمدتاً به همین عامل مربوط می‌شود (Dadnya *et al.*, 2008). آسکوربات پراکسیداز از آنزیم‌های مداخله‌کننده در کاهش آسیب اکسیداتیو وارده به گیاهان می‌باشد (Asada and Takahashi, 1987).

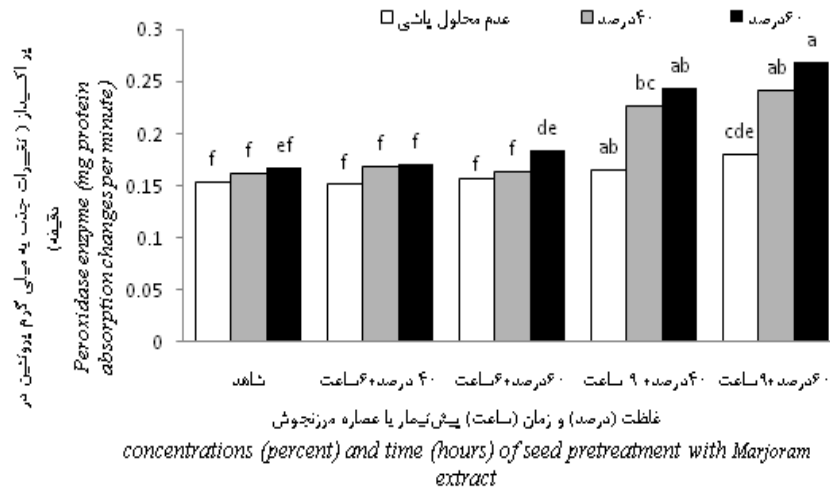


شکل ۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش
 Figure 1- Mean comparison of catalase enzyme under seed priming and foliar with extracts of marjoram
 (Means in each column followed by similar letters are not significantly different at the %5 probability level)



شکل ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش
 Figure 2- Mean comparison of ascorbate peroxidase enzyme under seed priming and foliar with extracts
 of marjoram
 (Means in each column followed by similar letters are not significantly different at the %5 probability level)

فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). واکنش آنزیم پراکسیداز به ترکیبات تیماری مورد بررسی شباهت زیادی به آنزیم آسکوربات پراکسیداز داشت. ۶ ساعت پیش تیمار با غلظت ۶۰ درصد غلظت مرزنجوش و محلول پاشی (۶۰ درصد) بالاترین افزایش معادل ۷۸ درصد مشاهده شد (شکل ۳). پراکسیدازها پراکسید هیدروژنرا با اکسید نمودن یک سوبسترای همراه نظیر ترکیبات فنلی و یا سایر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر آسکوربات تجزیه می‌کنند. پراکسیدازهای گیاهی که آنزیم‌هایی گسترده در بین گیاهان عالی می‌باشند دارای نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول بوده و گونه‌های اکسیژن فعال را سم‌زدایی می‌کنند. آنزیم پراکسیداز یکی از آنزیم‌های اکسیدکننده ترکیبات فنلی است و نقش مهمی در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی دارد (Agarwal and Pandey, 2004).



شکل ۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش
 Figure 3- Mean comparison of peroxidase enzyme under seed priming and foliar with extracts of marjoram
 (Means in each column followed by similar letters are not significantly different at the %5 probability level)

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان داد که افزایش در مدت زمان پیش تیمار بذر توأم با محلول پاشی با غلظت‌های بالای عصاره مرزنجوش موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در گیاه سویا شد که نتیجه آن مقابله بهتر گیاه با تنش‌های اکسیداتیو است. همچنین براساس نتایج به دست آمده پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش موجب بهبود وضعیت فیزیولوژیک گیاه شد. در بین

ترکیبات تیماری مورد مطالعه، محلول پاشی با غلظت ۶۰ درصد عصاره مرزنجوش همراه با ۹ ساعت پیش تیمار بذر در عصاره ۶۰ درصد توانست تأثیرگذارترین ترکیب تیمار بذر جهت افزایش اغلب صفات اندازه گیری شده باشد. تجزیه اسانس مرزنجوش نشان داد که ترکیب غالب در مرزنجوش کارواکرول است که بیشترین نقش را در خاصیت آنتی اکسیدانی ایفا می کند. مرزنجوش به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی با گونه های فعال اکسیژن مقابله و سیستم دفاعی اکسیداتیو را تقویت می کند و در نتیجه خطر اکسیداسیون را کاهش می دهد.

لذا با افزایش پارامترهای رشد و کیفیت در پاسخ به پیش تیمار و محلول پاشی ممکن است مربوط به القای پاسخ های آنتی اکسیدان باشد که سلول ها را از آسیب های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می نماید. پیش تیمار و محلول پاشی با مرزنجوش بر تقویت سیستم آنزیمی موجب افزایش مقدار آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی نظیر ترکیبات فنلی گردید، این ترکیبات آنتی اکسیدان با مکانیسم های متعددی مثل مهار گونه های فعال اکسیژن با ایجاد شرایطی مانند دادن هیدروژن، اکسیژن فعال و یا قرار گرفتن به عنوان سوپسترای آنزیم های پراکسیداز نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا می کنند. در این پژوهش دو غلظت ۴۰ و ۶۰ درصد عصاره مرزنجوش مورد بررسی قرار گرفت. لذا توصیه می شود غلظت های دیگر از عصاره مرزنجوش نیز مورد بررسی قرار گیرد. این احتمال وجود دارد که پاسخ سایر گیاهان به پیش تیمار بذر و محلول پاشی با عصاره مرزنجوش متفاوت باشد، توصیه می شود این آزمایش روی سایر گیاهان نیز انجام شود. در این آزمایش دو زمان ۶ و ۹ ساعت خیس خوردگی برای پیش تیمار بذر انجام گرفت، که در بیشتر صفات زمان ۶ ساعت مناسب تر بود. در حالی که در بذور سایر گیاهان بسته به جنس پوسته بذر ممکن است زمان های بیشتر یا کمتر از آن مناسب باشد. لذا توصیه می شود طیف وسیع تری از مدت زمان خیس خوردگی برای پیش تیمار بذر گیاهان مختلف مورد بررسی قرار گیرد. مطالعه در خصوص اثر گذاری عصاره گیاهان دارویی دیگر روی گیاهان زراعی به صورت پیش تیمار بذر و همچنین محلول پاشی نیز می تواند مفید باشد.

منابع

- Aebi H. 1974. Catalase in vitro. *Method of Enzymology*, 105: 121-126.
- Agarwal S., Pandey V. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48 (4): 555-560.
- Ahmadi F., Kadivar D., Shahedi M. 2007. Antioxidant activity in *Food Chemistry*, 105: 57-64.
- Alinejad V. 2014. The effect of seed pretreatment and foliar application mountain thyme extract on some physiological characteristics of growth traits in *vigna*. M.sc. Thesis, Shahroud University, 130 p. (In Persian).
- Arabshahi S., Urooji A. 2006. Effect of plant density and fertility levels on growth and yield of sesame in dry seasons of Indian sub tropics. *Food Chemistry*, 102: 1233-1240. (In Persian).
- Arkan R., Mohammadi S. 2008. Seed priming and seeding establishment of *barely*. *Food Chemistry*, 150 p. (In Persian).
- Asada K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Faty acid Reserch*, 355: 1419-1431.
- Asada K., Takahashi M. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis.

- In: Kyle, D.J. (Eds). Photoinhibition. Elsevier, Pp. 227-287.
- Aylkayy D.N.D., Habibi P., Paknejad P., Mashhadi AkbarSifter D. 2009. Effect of foliar application of selenium on Taleghani drought tolerance in different varieties of red beans. 367 p. (In Persian).
- Bels T.B., Falleh M., Grignon C., Abdelly C. 2003. Influence of altitude on seed yield and other characters of soybeans in Sikkim (Himalayan kingdom). *Agronomy Journal*, 66: 531-3.
- Chang M., Ravinda N. 2002. Corn production on a subsurface drain mollisol as affected by time of application and nitrapyrin. *Agronomy Journal*, 95 (13):12-19.
- Dadnya D.R.D., Habibi D.F. Ardekani B.C., NoorMohammad M. 2008. Effects of drought and foliar application of selenium on the performance and activity of biochemical markers osunflower oil varieties. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 4 (2): 55-66. (In Persian).
- Del Rio L., Sandalio L., Corpas F., Palma J., Barroso J. 2006. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in paroxysms. Production, scavenging and role in cell signaling. *Plant Physiology*, 141: 330-335.
- Dok A., Miyazaki H., Bohnert P., John J., Coleman M., Parry N., Haslam R. 2001. Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Phytochem*, 65: 2305-2316.
- Esfandiari E.A., Shakiba M.R., Mahboob S.A., Alyari H., Toorchi M. 2007. Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Agronomy Environemnt*, 5: 149-153. (In Persian).
- Foria T., Bellanca N. 1995. Fenaroll's handbook of flavor ingredients, Vol, I&II, 3rd edition. CRC Press, 771 p.
- Hu Y.H., Chang C.L., Hsu H.F. 2000. Flavonoid content of several vegetable and their antioxidant activity. *Journal Science Food Agriculture*, 80: 561-566.
- Jimoh F.O., Adedapo A.A., Aliero A.A., Afolayan J. 2008. Polyphenolic contents and biological activities of *rumex ecklonianus*. *Pharmaceutical Biology*, 46: 33-40.
- Jin J., Ningwei Sh., Jinhe B., Junping G. 2009. Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level 78 is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut Rose. *Food Chemistry*, 44: 51 (5).
- Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh M., Grignon C., Abdelly C. 2007. Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 244-248. (In Persian).
- Llorach T., Martinez A., Tomas-Barberan F., Gil M., Ferreres F. 2008. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarol. *Food Chemistry*, 108: 1028-1038.
- Mazandarani M. 2006. Effects of ascorbate ability allelopathic rape by studying the germination, growth and antioxidant enzyme activities of two soybean varieties. M.Sc. Thesis in Plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan. (In Persian).
- Michalak A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal Environment Study*, 15: 523-530.
- Mita R. 1997. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*, 7: 405-410.

- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sciences*, 7: 405-410.
- Naik G.H., Priyadarsini K.I., Satav J.G., Banavalikar M.M., Sohoni D.P., Biyani M.K., Mohan H. 2003. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Phytochemistry*, 63: 97-104.
- Nakano Y., Asado K. 2000. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22 (5): 867-880.
- Nematololahsani R. 2010. Herbs to optimize germination Lawson cypress extract. Fifth National Conference of new ideas in agriculture. University of Khorasgan Isfahan, 27-28 Bahman. (In Persian).
- Paleg L.G., Aspinall D. 1981. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic Press, Pp. 205-241.
- Parida A.K., Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- Prochazka S., Machaackova I., Kreekule J., Sebanek J. 1998a. *Plant physiology*. Academia Praha, 484 p.
- Sakihama Y., Cohen M.F., Grace S.C., Yamasaki H. 2002b. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenol-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicol*, 177: 67-76.
- Sakihama Y., Yamasaki H. 2002. Lipid peroxidation induces by phenolics in conjunction with aluminium ions. *Biology Plantarum*, 45: 249-254.
- Shahrokhi N. 1997. Quality control of raw materials for herbal medicines. Beheshti University. 300 p. (In Persian).
- Shelig H. Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal*, Pp: 47-51.
- Shobana S., Nidu K.A. 2000. Antioxidant activity of selected Indian spices, Prosta glandins, leukotriens and essential fatty acids, 2 :107-11.
- Solecka D. 1997. Role of phenyl propanoid compounds in plant responses to different stress factor. *Acta Physiologia Plantarum*, 19 (3): 257-268
- Stahl W., Sies H. 2003. Antioxidant activity of carotenoids plants. *Molecular and Medicine*, 24: 345-351.
- Sudhakar C., Lakshmi A., Giridarakumar S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry under NaCl salinity. *Plant Science*, 141: 613-625.
- Tajari F. 2005. Canola allelopathic effect of salinity on the growth parameters of the study, some of the organic compounds and enzyme activity, and the germination of soybean and cotton weed cattle. M.sc. Thesis in Plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan, 253 p. (In Persian).
- Xu N., Huo K., Miler P.O., Cheilch N. 2008. Co regulation of ear growth and internode elongation in corn. *Plant Growth Regulation*, 44: 231-241.
- Yamarua T., Tanaka S., Tabata M. 1992. Biosynthesis and accumulation of monoterpenoids in glandular of thyme. *Planta Medica*, 58:153-158.

Zimmerman L.H. 1972. Selections of safflower for tolerance to temperature and humidity during flowering. *Australian Journal of Crop*, 18: 755-757.