DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrdr.2013.5796

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران
جلد ۲۰، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۵۵۸-۵۴۹ (۱۳۹۲)

تغییرات کمی و کیفی فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه اسپرس (*Onobrychis sativa*) تحت تأثیر تنش خشکی

فرشته شمس‌آبادی[1*]، محمد متینی‌زاده[2] و فرزانه نجفی[3]

۱*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد علوم گیاهی دانشگاه تربیت معلم تهران، پست‌الکترونیک:shamsabadi_f@yahoo.com
۲- دانشیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

تاریخ دریافت: ۹۰/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۲/۱۰

چکیده

گیاهان تحت تأثیر تنشهای محیطی مختلف ازجمله خشکی قرار دارند. خشکی با برهم زدن تعادل اسمزی گیاهان، موجب کاهش رشد و عملکرد آنها می‌شود. همچنین موجب القای انواع اکسیژن فعال می‌شود که به گیاه آسیب می‌رساند. بعضی گیاهان قادر به تعدیل غلظت یونها و متابولیتها هستند، بنابراین می‌توانند با خشکی مقابله کنند. آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی نقش مهمی در حذف اکسیژنهای فعال و ممانعت از آسیبهای آنها دارند. این تحقیق با هدف بررسی اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه اسپرس انجام شد. ازاین‌رو، تحقیق پیش‌رو طی طرح فاکتوریل در قالب بلوکهای کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد و چهار سطح درصد ظرفیت مزرعه‌ای (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰) به‌عنوان تیمار بکار رفت. نتایج بدست‌آمده بر روی گیاه اسپرس رشد یافته در خاک گلدان نشان داد که در برگ و ساقه با بالا رفتن سطح خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای تحت تنش افزایش یافت و در تیمارهای تحت تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) کاهش نشان داد و در ریشه روند تغییرات فعالیت آنزیم کاملاً بعکس بوده و با ازدیاد سطح تنش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای تحت خشکی کاهش یافته و تنها در گیاهان تحت تنش شدید افزایش داشت. در بررسی کیفی فعالیت آنزیم پراکسیداز مشخص شد، با افزایش سطح خشکی الگوی ایزوآنزیمی تغییر کرد، به‌طوری‌که در برگ و ساقه تیمارهای سطح تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و در ریشه تیمارهای تحت تنش ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای بیشترین تعداد باند را نشان دادند که با داده‌های حاصل از سنجش کمی آنزیم پراکسیداز مطابقت دارد. براساس نتایج بدست‌آمده مشخص شد در گیاه اسپرس آنزیم پراکسیداز ازجمله ترکیبات آنتی‌اکسیدانیست که وارد عمل شده و با حذف رادیکالهای آزاد در بردباری این گیاه به تنش خشکی مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، تنش خشکی، آنزیم پراکسیداز، اسپکتروفتومتر، الکتروفورز

مقدمه

اسپرس (*Onobrychis viciifolia* Scop.) گیاه چندساله اوراسیایی از خانواده لگوم (Fabaceae) است. فلور اروپا ۲۳ گونه اسپرس در فهرست خود دارد، مرکز پراکنش این گیاه با ۵۶ گونه که ۲۷ گونه آن اندمیک ایران است، از آسیای مرکزی تا ایران گسترده شده است (Goray *et al*., 1986). گیاهان تحت تأثیر انواع تنشها ازجمله خشکی قرار دارند.

تنش خشکی زمانی اتفاق می‌افتد که آب در دسترس خاک کاهش می‌یابد و شرایط اتمسفری باعث ادامه کمبود آب توسط تعریق و تبخیر می‌شود. تقریباً در تمام گیاهان مقاومت به تنش خشکی دیده می‌شود، اما تفاوت در میزان آن از گونه‌ای به گونه دیگر و حتی بین گونه‌ها متفاوت است. تنش کمبود آب و شوری موضوع کلی برای حفظ بقای محصولات کشاورزی و تولید مستمر غذا هستند (Jaleel *et al*., 2007).

تنش خشکی از طریق کاهش رسانایی روزنه‌ای که جریان CO_2 درون برگها را محدود می‌کند، باعث تنش

اکسیداتیو می‌شود. CO_2 درون برگی کاهش یافته از طریق نشت افزایشی الکترونها به اکسیژن مولکولی، برای تشکیل انواع اکسیژن فعال (ROS) مانند رادیکال اکسیژن (O^{2-})، رادیکال هیدروکسیل (OH)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال آلکوکسیل (RO) هدایت می‌شود. گیاهان برای ممانعت از آسیب‌دیدن اجزای سلولی توسط ROS سازوکارهای سم‌زدایی چندگانه شامل مولکولها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را توسعه داده‌اند. یکی از اجزا سیستم آنزیمی پراکسیداز (POD) است. پراکسیدازها با حذف H_2O_2 تولید شده در کلروپلاست، در فرایندهای فیزیولوژیکی مثل رشد و تکوین سلولی ارتباط دارند. APX مهمترین پراکسیداز در سم‌زدایی H_2O_2 است که احیا H_2O_2 را به آب کاتالیز می‌کند. APX به همراه مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز، دهیدروآسکوربات ردوکتاز و GR، H_2O_2 را از مسیر Foyer- Halliwell-Asada انتقال می‌دهد (Blokhina *et al.*, 2003). به دلیل تعدد باندها و امکان وضوح باندها برای مطالعات ایزوآنزیمی پراکسیداز در تحقیقات از جایگاه خاصی برخوردار است (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹).

مواد و روشها

بذرهای اسپرس از مؤسسه نهال و بذر تهیه شد و پس از ضدعفونی شدن، در مهرماه کاشته شدند. کاشت گیاهان در خاک لومی سبک با ظرفیت مزرعه‌ای ۲۵/٤ در یک طرح فاکتوریل در قالب بلوکهای کامل تصادفی با ٤ تکرار انجام شد. گیاهان ٤ هفته بطور یکسان آبیاری شدند و بعد به‌مدت ٤ هفته تحت تیمارهای ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شدند و گیاهانی که طبق الگوی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شدند به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

استخراج آنزیم آنتی‌اکسیدان با استفاده از بافت تازه و محلول عصاره‌گیری آنزیم انجام شد. نمونه‌ها ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شدند (Eberman & Stich, 1982). سنجش کمی آنزیم پراکسیداز با استفاده از بافر فسفات پراکسیداز، پیروگالل ۵٪ و پراکسیدهیدروژن ۳۰٪ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۲۰ نانومتر انجام شد (Chance & Maehly, 1955). برای سنجش کیفی پراکسیداز از الکتروفورز با ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۲٪ و محلول رنگ‌آمیزی آمینواتیل‌کاربازول استفاده شد (Krzakowa & Matras, 2003).

نتایج

نتایج بدست‌آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به‌صورت مقایسه میانگین (± SE) در سطح $p<۰/۰۵$ در جدولها و شکلها ارائه شده است. در تجزیه و تحلیل آماری برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد.

بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز

جدول ۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز (فعالیت/ میلی‌گرم وزن تر) برگ، ساقه و ریشه اسپرس در سطوح مختلف تنش خشکی

اندام مورد مطالعه	ظرفیت مزرعه‌ای (٪)			
	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵
برگ	۰/۰۰۲۷ ±۰/۰۰۰۵^{cb}	۰/۰۰۳۲ ± ۰/۰۰۰۹^{ab}	۰/۰۰۳۷ ± ۰/۰۰۰۵^{a}	۰/۰۰۲ ± ۰/۰۰۰۵^{c}
ساقه	۰/۰۰۵۵±۰/۰۰۰۵^{c}	۰/۰۰۶۲±۰/۰۰۰۵^{ab}	۰/۰۰۶۷±۰/۰۰۰۹^{a}	۰/۰۰۵۷±۰/۰۰۱۲^{cb}
ریشه	۰/۰۰۶ ± ۰/۰۰۰^{b}	۰/۰۰۴۵ ± ۰/۰۰۰۵^{c}	۰/۰۰۲ ± ۰/۰۰۰^{d}	۰/۰۰۸ ± ۰۰۰/۰^{a}

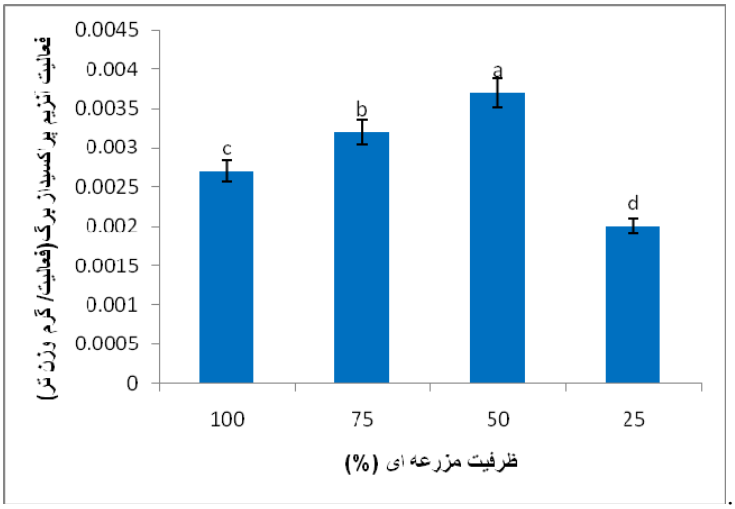
داده‌ها براساس ($\bar{X}$± SE) نوشته شده است.

حروف غیریکسان نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در $p<$ ۰/۰۵ است.

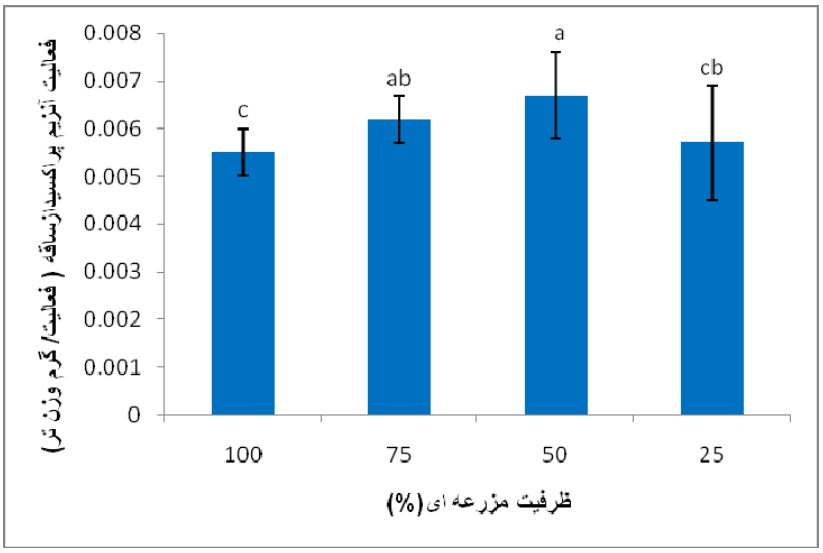
با توجه به جدول ۱ و شکل ۱، فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگهای اسپرس در سطح تنش ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای افزایش یافت که این افزایش در سطح ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به شاهد معنی‌دار است و با اعمال تنش شدید در سطح ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای فعالیت پراکسیداز نسبت به شاهد کاهش نشان می‌دهد، اما این کاهش معنی‌دار نیست. در بین تیمارها هم، اختلاف میانگینها بین تیمارهای ۷۵ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه معنی‌دار است.

فعالیت آنزیم پراکسیداز در ساقه گیاهان، تحت تنش ملایم و متوسط (۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) روند افزایشی نشان می‌دهد که نسبت به شاهد معنی‌دار است و در گیاهان تحت تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) کاهش در فعالیت آنزیم پراکسیداز دیده می‌شود که نسبت به شاهد در سطح معنی‌داری نیست. البته بین تیمارهای ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای نیز اختلاف معنی‌دار میانگینها دیده می‌شود. همچنین داده‌ها نشان می‌دهند که فعالیت پراکسیداز در ساقه اسپرس در تمام نمونه‌ها نسبت به برگ بالاتر است (جدول ۱، شکل ۲).

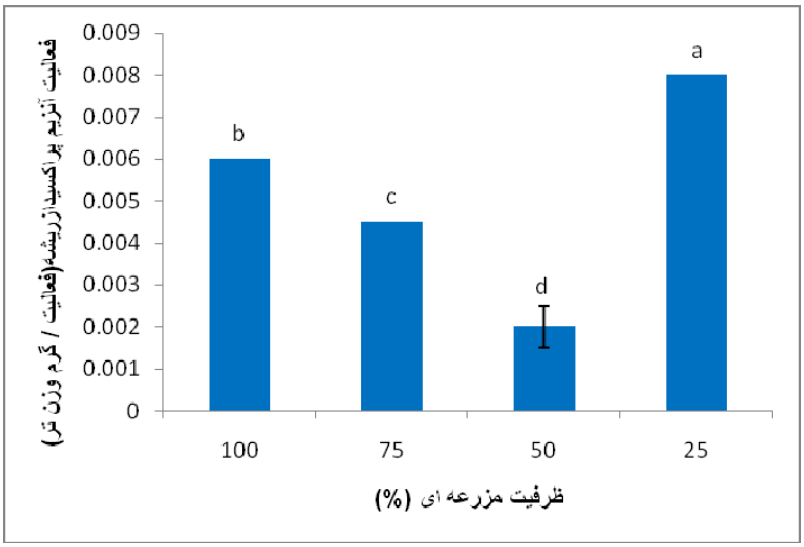
نتایج جدول ۱ و شکل ۳ نشان می‌دهد که فعالیت پراکسیدازی در ریشه اسپرس بعکس برگ و ساقه در سطوح تنش ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش معنی‌دار یافته است و در سطح ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای افزایش معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت. به‌طوری‌که کاهش و افزایش فعالیت پراکسیدازی ریشه در بین تیمارها معنی‌دار است.



شکل ۱- اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ اسپرس

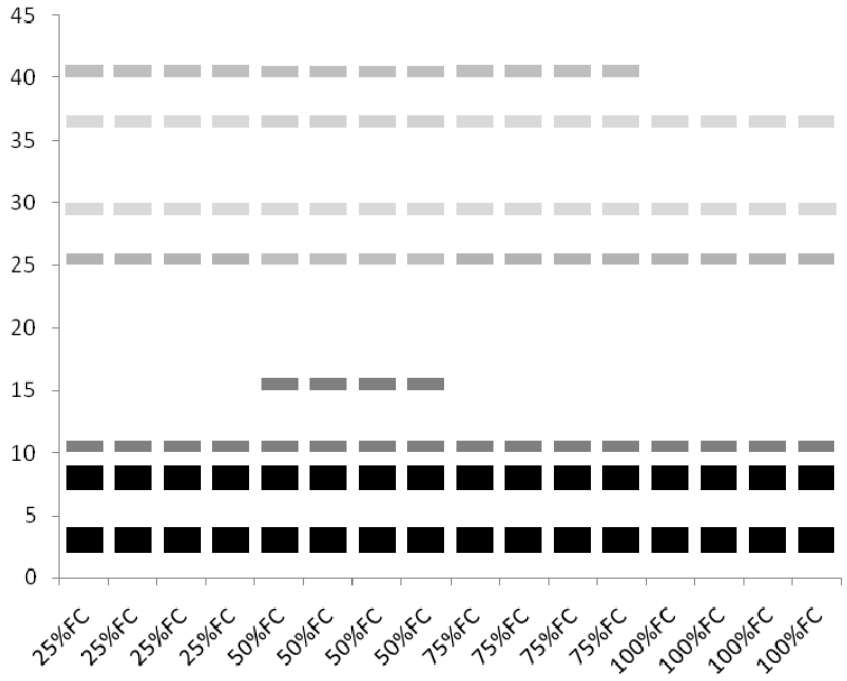


شکل ۲- اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه اسپرس

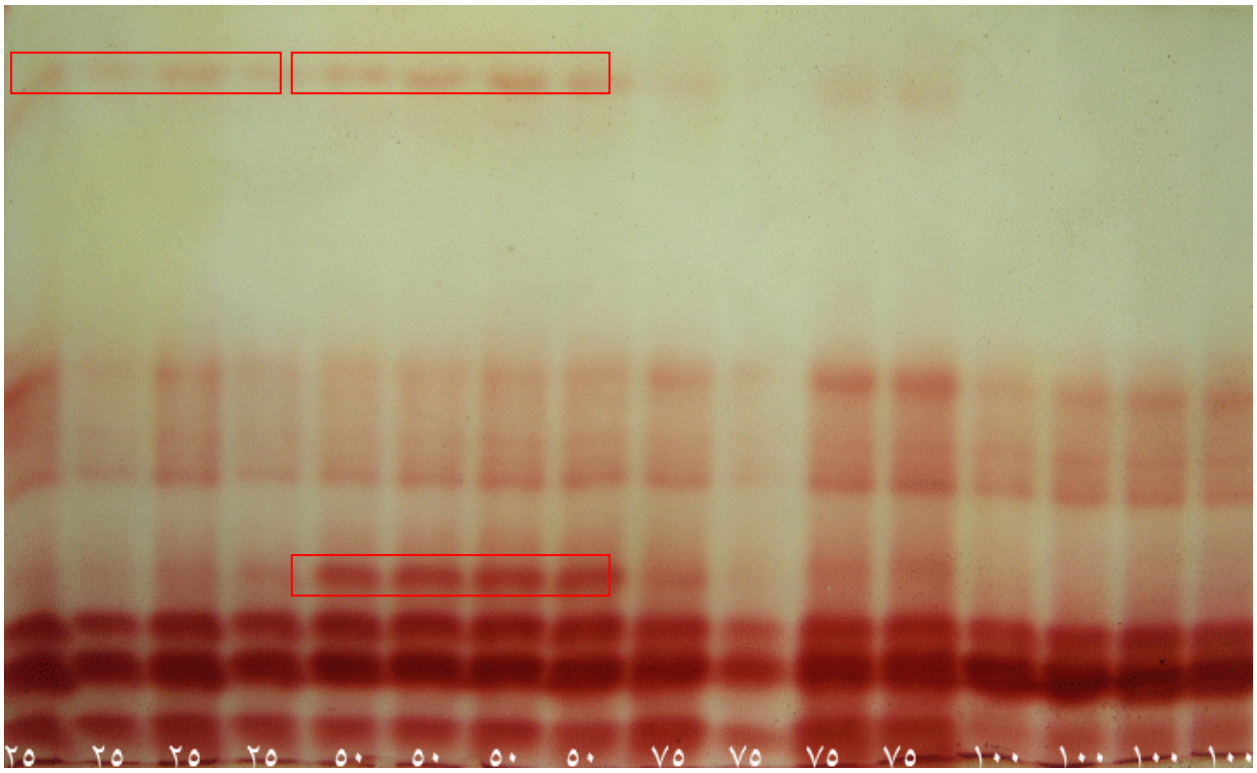


شکل ۳- اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه اسپرس

براساس شکل ٤، در بررسی زیموگرام آنزیم پراکسیداز برگ اسپرس مشخص شد که در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) یک باند ایزوآنزیمی آندی به باندها اضافه شده است و در تیمارهای تحت تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای نسبت به شاهد دو باند اضافی مشاهده می‌شود و الگوی ایزوآنزیمی در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای همانند تیمار ۷۵٪ است. مقایسه تیمارها باهم نیز نشان می‌دهد که بیشترین ایزوآنزیم در تیمار ۵۰٪ مشاهده می‌شود که با نتایج کمی مطابقت دارد و مقاوم‌ترین تیمار به خشکی می‌باشد.



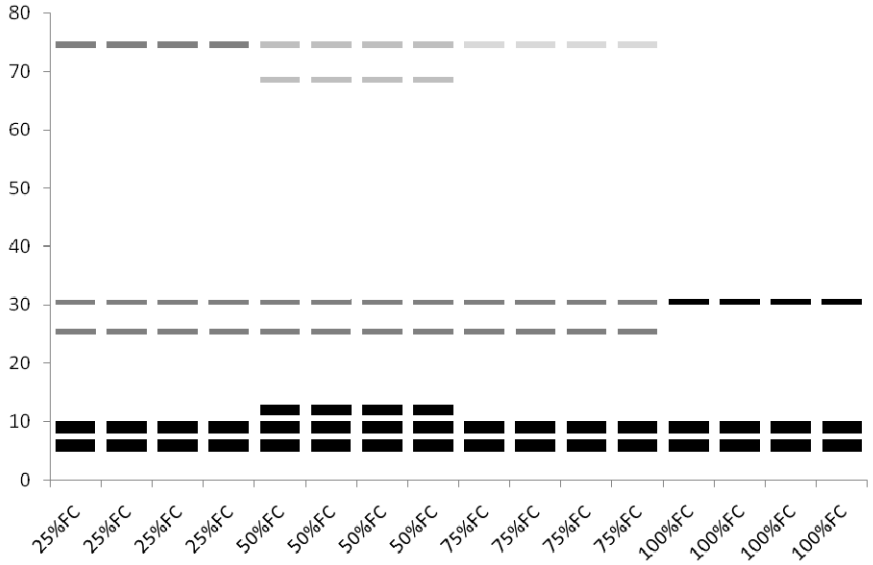
شکل ٤- زیموگرام آنزیم پراکسیداز در برگ اسپرس



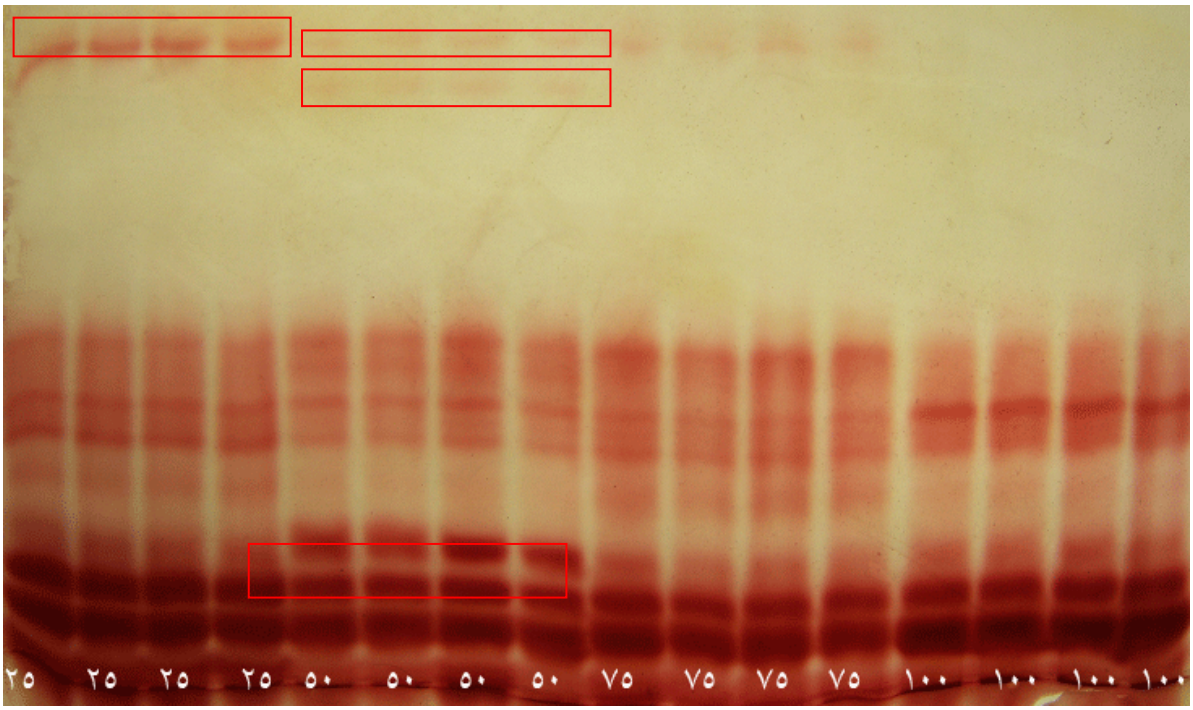
شکل ٥- الکتروفورگرام مربوط به ایزوآنزیم‌های پراکسیداز برگ اسپرس (اعداد نوشته شده زیر هر ستون، سطح تنش را در تیمارها نشان می‌دهد و از هر تیمار ٤ تکرار در نظر گرفته شده است).

در شکل ٦، در بررسی زیموگرام آنزیم پراکسیداز ساقه اسپرس نشان می‌دهد که ٤ جایگاه ایزوآنزیمی در تمام نمونه‌ها ثابت است. اما مقایسه گیاهان تحت تنش خشکی با شاهد نشان می‌دهد جایگاههای a و b و c معرف ایزوآنزیم‌هایی است که در پاسخ به خشکی فعال شده‌اند.

مقایسه تیمارهای تحت تنش باهم و شاهد نشان می‌دهد که بیشترین تعداد ایزوآنزیم در گیاهان تحت تنش ٥٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده مقاوم‌ترین گیاهان به خشکی می‌باشند.

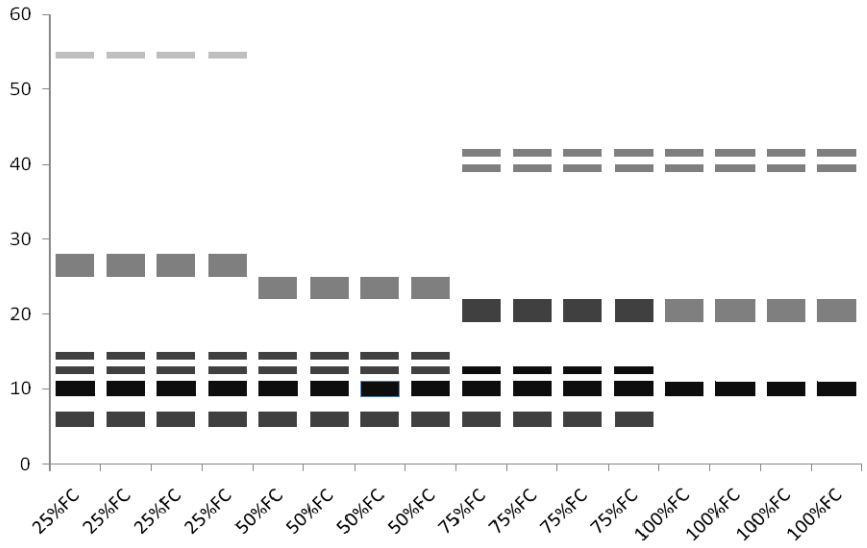


شکل ٦- زیموگرام آنزیم پراکسیداز در ساقه اسپرس

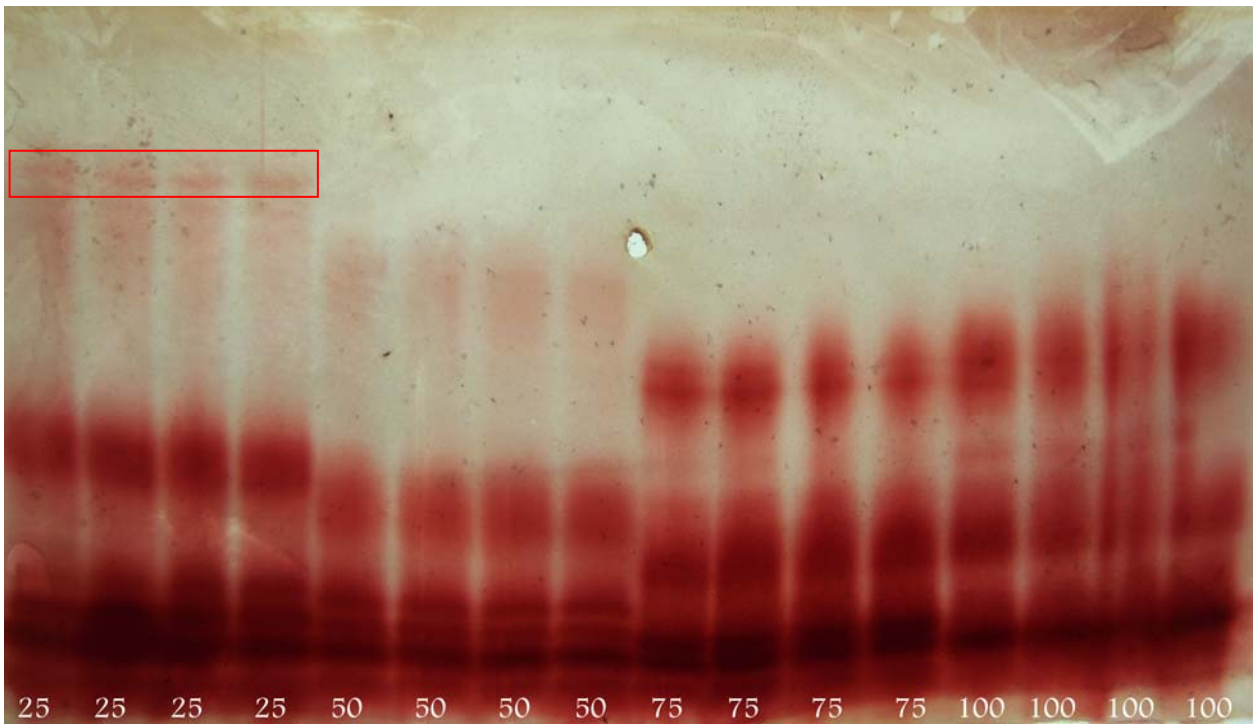


شکل ٧- الکتروفورگرام مربوط به ایزوآنزیم‌های پراکسیداز ساقه اسپرس (اعداد نوشته شده زیر هر ستون، سطح تنش را در تیمارها نشان می‌دهد و از هر تیمار ٤ تکرار در نظر گرفته شده است).

طرح زیموگرام آنزیم پراکسیداز ریشه اسپرس نشان می‌دهد که تعداد کمی از جایگاههای ایزوآنزیمی در تمام گیاهان ثابت است و تمام تیمارهای تحت تنش در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و یکدیگر الگوی ایزوآنزیمی متفاوتی را نشان می‌دهند (شکل ۸).



شکل ۸- زیموگرام آنزیم پراکسیداز در ریشه اسپرس



شکل ۹- الکتروفورگرام مربوط به ایزوآنزیم‌های پراکسیداز ریشه اسپرس (اعداد نوشته شده زیر هر ستون، سطح تنش را در تیمارها نشان می‌دهد و از هر تیمار ٤ تکرار در نظر گرفته شده است).

بحث

آنزیم پراکسیداز (POD)

در شرایط خشکی، در زنجیره انتقال الکترون، الکترونهایی که راهی برای رسیدن به مقصد نهایی خود ندارند، CO_2 را برای احیا اکسیژن مولکولی و تشکیل سوپراکسید و هیدروژن پراکسید هدایت می‌کنند. گیاهان با استفاده از آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز در کلروپلاستها یک سیستم کارآمد برای تجزیه انواع اکسیژن فعال دارند (Ozkur *et al*., 2009). پراکسیدازهای گیاهی بطور گسترده در همه گیاهان آلی موجودند و موجب حذف هیدروژن پراکسید تولید شده توسط عوامل تنش‌زا می‌شوند. این نقش پراکسیدازها در پاسخ‌های متابولیسمی گیاه به تنشهای مختلف و حفظ سلول در مقابل غلظتهای زیان‌آور هیدروژن‌پراکسید اهمیت فراوان دارد (Castillo, 1992). براساس تحقیق پیش‌رو، فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ و ساقه با اعمال تنش ملایم و متوسط افزایش یافت و در تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده شد. میزان فعالیت آنزیم در ساقه بالاتر از برگ بود. افزایش فعالیت آنزیم نشان‌دهنده فعال بودن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و حذف پراکسید هیدروژن است و سازگاری گیاه به تنش را نشان می‌دهد، اما در تنش شدید احتمالاً ساختار پروتئینی آنزیم تحت تأثیر خشکی آسیب دیده و گیاه تنش را تحمل نکرده است. در ریشه نتایج عکس بدست آمد، به‌طوری‌که با اعمال تنش ملایم و متوسط میزان فعالیت آنزیم کاهش یافت و در تنش شدید فعالیت آنزیم افزایش نشان داد، که نشان می‌دهد ریشه مقاومت بالاتری به خشکی دارد. در بررسی کیفی، هر یک از اندامها، الگوی ایزوآنزیمی متفاوتی نشان دادند که مشخص می‌کند هر یک سازوکار فیزیولوژیکی خاص خود را در سازگاری به خشکی دارند (کروری، ۱۳۷۸). براساس تحقیق انجام شده روی جو مشخص شد با اعمال تنش خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز در این گیاه افزایش یافته است که نشان‌دهنده افزایش بیان ژن کد کننده آنزیم در پاسخ به تنش اکسیداتیو می‌باشد (امینی و همکاران، ۱۳۸۷). تحقیق انجام شده روی چند گونه گندم، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را در پاسخ به تنش خشکی نشان داد و افزایش در پایه‌های مقاوم به خشکی بیشتر از پایه‌های حساس به خشکی است (جباری و همکاران، ۱۳۸۵). Jung (۲۰۰۴)، نشان داد که در برگهای بالغ *Arabidopsis* خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش می‌دهد که علت آن پاسخ به آسیب اکسیداتیو القا شده توسط خشکی و حذف آنزیمی H_2O_2 توسط POD گزارش شد. Abedi و Paknyat (۲۰۱۰)، با مطالعه ۱۰ کولتیوار کلزا افزایش فعالیت POD را در کولتیوارهای مقاوم به خشکی گزارش کردند. Ti-da و همکاران (۲۰۰۶) روی آنزیم‌های محافظ برگ و ریشه ذرت مطالعه کردند و طبق آزمایشها فعالیت پراکسیداز در ریشه و برگ در ابتدا و اواسط مرحله رشد بطور واضح افزایش و در حرکت به سمت بلوغ فیزیولوژیکی کاهش یافت. فعالیت آنزیم در ریشه کمتر از برگ بود.

Terzi و Kadioglu (۲۰۰۶)، گزارش کردند در طی تنش در برگها و دمبرگ *Ctenanthe setosa* فعالیت POD افزایش و در ریشه کاهش می‌یابد. Wang و همکاران (۲۰۰۹)، با تحقیقی بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی روی رشد یونجه تحت خشکی دریافتند که فعالیت آنزیم POD در بخش هوایی و ریشه در کولتیوار حساس و مقاوم به خشکی تحت تنش افزایش یافته و فعالیت در نمونه‌های مقاوم به خشکی بالاتر بود. جالب اینکه فعالیت POD در ریشه و فعالیت CAT در اندام هوایی در کولتیوار مقاوم بالاتر از کولتیوار حساس بود. فعالیت بالای POD در ریشه‌های گیاه مقاوم ظرفیت حذف بالای هیدروژن‌پراکسید و کاهش آسیب به لیپیدهای غشای پلاسمایی را تحت شرایط تنش ایجاد می‌کند. پراکسیدازها تنها در حذف هیدروژن پراکسید دخالت نمی‌کنند؛ بلکه در رشد گیاه، نمو، چوبی‌شدن، چوب‌پنبه‌ای شدن و Cross link ترکیبات دیواره سلولی نقش دارند. براساس آزمایشهای Pan و همکاران (۲۰۰۶)، در گیاه شیرین‌بیان فعالیت POD تحت تنش خشکی افزایش یافت، درحالی‌که فعالیت CAT کاهش یافت. کاهش فعالیت CAT نشان داد POD ظرفیت بالاتری برای حذف H_2O_2 تولید شده توسط SOD دارد. در ریشه با افزایش سطح تنش فعالیت POD افزایش یافت. Nair و همکاران (۲۰۰۸)، نخود فرنگی را تحت تنش خشکی قرار دادند و نتایج نشان داد که تحت تنش خشکی تشکیل ROS افزایش می‌یابد و سیستم آنتی‌اکسیدانی با کنترل غلظت ROS درون سلولی از سلولها محافظت می‌کند و فعالیت

آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند پراکسیداز و کاتالاز با اعمال تنش خشکی افزایش یافت. البته مقاومت یا حساسیت گیاهان به تنش خشکی با پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی آنها ارتباط دارد. در کل، واریته‌های مقاوم ظرفیت بهتری برای حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی از طریق مولکولهای آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دارند.

منابع مورد استفاده

امینی، ز.، حداد، ر. و مرادی، ف.، ۱۳۸۷. بررسی اثر تنش کم‌آبی بر نحوه فعالیت آنزیم‌های اکسنده در مراحل رشد زایشی گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.). علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲(٤٦).

بابایی، ف.، جلالی، س.غ.، و آزادفر، د. ۱۳۸۹. بررسی تنوع ژنتیکی درختان آزاد با استفاده از ایزوآنزیم پراکسیداز برگ در سه رویشگاه جلگه‌ای شمال ایران. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتعی ایران، ۱۸ (۱): ۸۳-۹۲.

جباری، ف.، احمدی، ع.، پوستینی، ک. و علیزاده، ه.، ۱۳۸۵. بررسی ارتباط برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت با پایداری غشا سلولی و کلروفیل در ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی. مجله علوم کشاورزی، ۳۷ (۲): ۳۰۷-۳۱٦.

علی احمد کروری، س.، ۱۳۷۸. مجموعه مقالات بررسی آنزیمها در درختان جنگلی به تغییرات عوامل زیست محیطی. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۳۳۳ صفحه.

Abedi, T. and Pakniyat, H., 2010. Antioxidant Enzyme Changes in Response to Drought Stress in Ten Cultivars of Oilseed Rape (*Brassica napus L.*). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. 46: 27–34.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany, 91: 179- 194.

Castillo, F.J., 1992. Peroxidase and stress: In: Penel, C., Gaspar, T., Greppin, H. (eds) Plant peroxidase topics and detailed literature on molecular, biochemical and physiological aspects. University of Geneva, 187- 203.

Chance, B. and Maehly, A.C., 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 2: 764-775.

Ebermann, R. and Stich, K., 1982. Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. Phytochemistry, 21: 2401-2402.

Gorai, F.A. and Wofford, D.S., 1986. Phytophthora seed rot and seedling blight of sainfoin *(Onobrychis viciifolia)*. Plant Disease, 71.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2007d. Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in Catharanthus roseus is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. Colloids Surf. B: Biointerfaces, 60: 201–206.

Jung, S., 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of Arabidopsis thaliana subjected to drought. Plant Science, 166: 459–466.

Krzakowa, M. and Matras, J., 2003. Genetic variability among beech (Fagus sylvatica L.) from the Studety Mountains, in respect of peroxidase and malate dehydrogenase loci. Journal of Applied Genetics, 3: 271- 277.

Nair, A., Abrahama, T.K. and Jaya, D.S., 2008. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea (Vigna unguiculata L.) varieties. Journal of Environmental Biology, 29: 689- 691.

Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I., 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte Capparis ovata Desf. to drought. Environmental and Experimental Botany, 66: 487–492.

Pan, Y., Jun Wu, L.J. and Liang, Yu.Z., 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch). Plant Growth Regulation, 49: 157–165.

Terzi, R. and Kadioglu, A., 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system in Ctenanthe Setosa. Acta Biologica Cracoviensia Series, 48: 89–96.

Ti-da, G., Fang-gong, S., Li-ping, B., Yin-yan, L. and Guang-sheng, Z., 2006. Effects of Water Stress on the Protective Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Roots and Leaves of Summer Maize. Agricultural Sciences in China, 4: 291- 298.

Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. and Kwak, S.S., 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 570- 577.

Quantitative and qualitative changes of Peroxidase activity in *Onobrychis sativa* under drought stress conditions

Shamsabadi, F.[1*], Matinizadeh, M.[2] and Najafi, F.[3]

1*- Corresponding Author, MS.c. in Plant Sciences, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran, Email:shamsabadi_f@yahoo.com
2-Associate Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran.
3-Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran.

Received: 19.09.2011 Accepted: 29.04.2012

Abstract

Plants are affected by different environmental stresses including drought stress. Drought causes plant osmotic imbalance and inhibits plant growth and productivity. Also, it induces reactive oxygen species that damage plant cells. Some plants are able to regulate the concentration of ions and metabolites and so they can tolerate drought stress. Enzymatic antioxidant plays important roles in eliminating reactive oxygen and inhibition of damages. This research was aimed to study the effect of drought stress on peroxidase enzyme activity in sainfoin (*Onobrychis sativa* l.). A factorial experiment was conducted in a randomized complete blocks design with four replicates and four levels of field capacity in percent as treatment. Results showed that peroxidase enzyme activity increased by increase of drought level in leave and stem and decreased under severe stress (25 percent field capacity) and in root the changes of enzyme activity was against and by increase of stress level, peroxidase enzyme activity decreased in plants and only in plants under severe stress increased. Qualitative consideration of peroxidase enzyme activity showed, by increase of drought level, the number of isoenzyme bands increased thus in leave and stem treatments under 50 percent field capacity and in root treatments under 25 percent field capacity showed most number of bands that it was according to quantitative peroxidase enzyme data. According to obtained results, peroxidase enzyme in sainfoin plant is one of the antioxidant components, affecting the drought tolerance of this species by eliminating free radicals.

Key words: Sainfoin, drought stress, peroxidase enzyme, spectrophotometer, electrophoresis