

اثر پیش تیمار خشکی روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش خسارت تنش خشکی دو گونه چمن، بنت‌گراس خزنده (*Agrostis stolonifera* cv. *Palustris*) و فستوکای پابلند (*Festuca arundinacea* cv. *Greystone*)

کامران امیری‌نسب<sup>۱</sup>، محمود قاسم‌نژاد<sup>۲</sup>، هدایت زکی‌زاده<sup>۳\*</sup> و محمدحسن بیگلویی<sup>۲</sup>

۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۱۰/۹)

### چکیده

پیش تیمار خشکی، یعنی آبیاری با تکرار کم و با فواصل طولانی، که به منظور گسترش سیستم ریشه‌ای و کاهش خسارت خشکی در گیاهان استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر، اثر پیش تیمار خشکی به مدت ۳۰ روز در افزایش تحمل به خشکی دو گونه چمن بنت‌گراس خزنده و فستوکای پابلند ارزیابی شد. گیاهان پیش تیمار شده و شاهد سپس به مدت ۵۰ روز در معرض تنش خشکی با سطوح مختلف نیروی مکش خاک (۲۰-۲۳، ۴۰-۴۳، ۵۰-۵۳ و ۷۰-۷۳ سانتی‌بار) قرار گرفتند و در پایان، به منظور رشد مجدد، رطوبت خاک به مدت ۱۵ روز در حد ظرفیت زراعی حفظ شد. نتایج نشان داد که پیش تیمار خشکی سبب افزایش نسبت طول ریشه به شاخساره در دو گونه چمن شد. در پایان ۵۰ روز تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان پیش تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد بالاتر بود. در مرحله رشد مجدد، گیاهان پیش تیمار شده در بنت‌گراس خزنده برخلاف فستوکای پابلند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتری از شاهد نشان دادند. در مجموع پیش تیمار خشکی با افزایش نسبت ریشه به شاخساره و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، تحمل به خشکی را در هر دو گونه چمن افزایش داد.

**واژه‌های کلیدی:** تحمل به خشکی، رشد مجدد، مقاوم‌سازی، نسبت ریشه به شاخساره.

### مقدمه

تنش ثانویه اکسیداتیو می‌شود، که این امر منجر به تغییرات یاخته‌ای و انواع آسیب‌ها در گیاه می‌شود (Zhu, 2003). به منظور خنثی‌کردن ROS یک سری از سیستم‌ها در گیاه فعال می‌شود که در میان آن‌ها می‌توان به سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) اشاره کرد (Dabrowska et al., 2007). پژوهش‌ها نشان داده است که کاربرد آب‌سزیک اسید مقاومت برموداگراس در برابر تنش خشکی را افزایش داده است (Shaoyun et al., 2009). همچنین ثابت شده است که پیش تیمار

چمن‌ها مهم‌ترین گیاهان پوششی در فضای سبز هستند (Kafi & Kaviani, 2002). کمبود آب و تنش خشکی در مناطق خشک و نیمه‌خشک از مشکلات بزرگ پیش روی صنعت چمن‌کاری است (Salahvarzy et al., 2008). به دلیل کم‌آبی‌های اخیر در برخی محافل از حذف چمن در سطوح سبز یاد می‌شود، بنابراین، می‌توان با مدیریت مناسب آبیاری و توسعه تکنیک‌هایی برای افزایش مقاومت به خشکی، از نقش این گیاه سودمند بهره برد (Roohollahi et al., 2010). در شرایط تنش، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) موجب

1. Reactive oxygen species (ROS)

E-mail: zakizadeh@guilan.ac.ir

استفاده می‌شود (Aldous & Chivers, 2002). بنابراین، در پژوهش حاضر، اثر پیش‌تیمار خشکی روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش خسارت تنش خشکی در دو گونه چمن بنت‌گراس خزنده رقم پالوستریس<sup>۳</sup> و فستوکای پابلند رقم گری‌استون<sup>۴</sup> بررسی شده است.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی و نحوه اجرای طرح

این پژوهش در خردادماه ۱۳۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور شامل پیش‌تیمار خشکی در دو سطح (چمن‌های پیش‌تیمار شده و چمن‌های شاهد) و فاکتور تنش خشکی در چهار سطح نیروی مکش خاک (۲۰-۲۳، ۴۰-۴۳، ۵۰-۵۳ و ۷۰-۷۳ سانتی‌بار) به‌طور جداگانه روی دو گونه چمن با چهار تکرار انجام شد.

برای این منظور بذور دو گونه چمن بنت‌گراس خزنده رقم پالوستریس (*Agrostis stolonifera* cv. Palustris) و فستوکای پابلند رقم گری‌استون (*Festuca arundinacea* cv. Greystone) در مخلوط خاکی با نسبت حجمی سه قسمت خاک سطحی، یک قسمت ماسه و یک قسمت کود دامی (۱:۱:۳) در گلدان‌های مناسب کشت شدند. پس از رشد و استقرار کامل گیاهچه‌ها طی ۶۰ روز، به‌منظور اعمال پیش‌تیمار خشکی چمن‌ها به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول چمن‌ها (شاهد)، هر دو روز یک‌بار آبیاری شدند، طوری که رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی حفظ شود، اما در گروه دوم (چمن‌های پیش‌تیمار شده) به‌منظور مقاوم‌سازی، آبیاری مجدد زمانی صورت می‌گرفت که علائم پژمردگی موقت را نشان می‌دادند. اعمال پیش‌تیمار خشکی به مدت ۳۰ روز به طول انجامید (Pound & Street, 2001). پس از ۳۰ روز پیش‌تیمار خشکی، گیاهان شاهد و پیش‌تیمار شده به مدت ۵۰ روز تحت تأثیر تنش خشکی براساس سطوح مختلف نیروی مکش خاک (۲۰-۲۳، ۴۰-۴۳، ۵۰-۵۳، ۷۰-۷۳ سانتی‌بار) قرار گرفتند. نیروی مکش خاک در سطوح مختلف رطوبتی

خشکی مقاومت نشاهای گوجه‌فرنگی را به تنش‌های خشکی بهبود بخشیده است (Latimer, 1992). علاوه بر این بیان شده است که پیش‌تیمار خشکی در چمن پوآ سبب افزایش مقاومت به گرما، طول‌تر شدن ریشه، تنظیم اسمزی بیشتر، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفاظت گیاه از آسیب سلولی ناشی از تنش گرمایی شده است (Jiang & Huang, 2001; Peng et al., 2011). در حال حاضر یکی از موضوعات اصلی پژوهش در صنعت چمن‌کاری توسعه روش‌هایی برای افزایش تحمل به کم‌آبی است (Richardson et al., 2008).

تیمار ملایم یا کوتاه‌مدت گیاهان با خشکی (پیش‌تیمار خشکی)<sup>۱</sup> اثرات زیان‌آور تنش‌های بعدی را خنثی می‌کند و از این طریق سبب افزایش تحمل به تنش‌های بعدی خشکی می‌شود، در واقع پیش‌تیمار خشکی روش ساده و کم‌هزینه‌ای است که با ایجاد یک سری تغییرات در ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بافت و یاخته گیاهی سبب ایجاد سازگاری<sup>۲</sup> می‌شود. همچنین سبب می‌شود که چمن‌ها بدون آب و بارندگی کافی بتوانند خود را در مقابل تنش‌های اکسیداتیو ناشی از خشکی وفق دهند (Trenholm, 2000). پیش‌تیمار خشکی در افزایش مقاومت به یخبندان در چمن لولیوم چندساله مؤثر بوده است و اثرات سودمند این تیمار را به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی نسبت داده‌اند (Hoffman et al., 2012).

فستوکای بلند چمنی است که به دامنه گسترده‌ای از شرایط محیطی سازگار شده است و مقاومت خوبی به گرما و پاخوری دارد، همچنین از ارقام مقاوم به خشکی است که در تمام طول سال سبز باقی می‌ماند. این چمن بهتر است به‌تنهایی کاشته شود، زیرا در هر سال توسعه پیدا می‌کند و یکی از پوشش‌های اولیه موجود در زمینه‌های ورزشی است (Aldous & Chivers, 2002). بنت‌گراس‌ها یکی از ارقام مهم چمن‌های لوکس محسوب می‌شود. بنت‌گراس خزنده چمنی است ظریف، پرپشت با برگ‌های باریک که ریزوم‌ها در آن معمولاً دیده می‌شوند. سرما را به‌خوبی تحمل می‌کند ولی حساس به خشکی است. معمولاً برای فضای سبز و زمین‌های گلف

3. *Agrostis stolonifera* cv. Palustris  
4. *Festuca arundinacea* cv. Greystone

1. Drought preconditioning (DP)  
2. Acclimation

رطوبت خاک در سطوح مختلف نیروی مکش برحسب درصد حجمی، Dr؛ عمق مؤثر ریشه برحسب سانتی‌متر، MAD؛ ضریب مدیریت آبیاری، A؛ متوسط مساحت خاک در گلدان برحسب سانتی‌متر مربع، و V؛ حجم آب (که در هر نوبت آبیاری به هر گلدان داده شد و واحد آن سانتی‌متر مکعب) است.

در پایان ۵۰ روز اعمال تنش خشکی، نمونه‌برداری از چمن‌ها به‌منظور اندازه‌گیری صفات، شامل نسبت طول ریشه به شاخساره و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) انجام شد. همچنین پس از ۱۵ روز رشد مجدد چمن‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور مجدداً اندازه‌گیری شد.

با استفاده از دستگاه تانسومتر اندازه‌گیری شد. در پایان این دوره، به‌منظور رشد مجدد پس از تنش، رطوبت خاک به مدت ۱۵ روز در حد ظرفیت زراعی حفظ شد. در هر نوبت آبیاری، خاک تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شد (Alizadeh, 2004). مقدار آب آبیاری که در هر نوبت آبیاری به گلدان‌ها داده می‌شد با استفاده از روابط ۱ و ۲ محاسبه شد (Alizadeh, 2004).

$$dn = \frac{FC - \theta v}{100} \cdot \text{Dr} \cdot \text{MAD} \quad (1)$$

$$V = dn \cdot A \quad (2)$$

که در روابط فوق، dn مقدار آب آبیاری که در هر نوبت آبیاری وارد گلدان‌ها می‌شد (سانتی‌متر)، FC مقدار رطوبت خاک در ظرفیت زراعی برحسب درصد حجمی،  $\theta v$  مقدار

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مخلوط خاکی استفاده‌شده در این آزمایش

وزن مخصوص (gr/cm <sup>3</sup> )	نوع بافت	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	نیتروژن (%)	کربن آلی (%)	pH	هدایت الکتریکی (ds/m)
۱/۰۵	لومی	۴۸	۴۰	۱۲	۱۸۷	۷۴/۱	۰/۱۳۲	۰/۰۱۹	۷/۲۸	۱/۲۶

ارزیابی صفات  
برای اندازه‌گیری نسبت طول ریشه به شاخساره، از هر گلدان ۱۸ عدد بوته چمن به‌طور تصادفی انتخاب شدند و سپس طول شاخساره و طول‌ترین ریشه آن‌ها با خط‌کش مدرج اندازه‌گیری شد و نسبت آن‌ها به‌دست آمد. به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری آنزیم‌ها، برگ‌های دو گونه چمن در حضور نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب شدند. یک میلی‌لیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) به ۰/۵ گرم از برگ آسیاب‌شده اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۴ هزار دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ عصاره رویی برداشته شد. از این عصاره برای سنجش آنزیم‌های APX, CAT, SOD و POD استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌ها  
سنجش فعالیت آنزیم‌ها در مخلوط واکنش به حجم سه میلی‌لیتر دارای بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH=۷)، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیم انجام شد. جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. اگر تغییرات جذب بر زمان (OD/min) را به ثابت  $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$   $2/8^1$  تقسیم کنیم فعالیت آنزیمی به‌دست می‌آید (Nakano & Asada, 1981). سنجش فعالیت آنزیم CAT در مخلوط واکنش به حجم سه میلی‌لیتر دارای بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH=۷)، EDTA ۰/۱

سنجش فعالیت آنزیم‌ها  
سنجش فعالیت آنزیم‌ها در مخلوط واکنش به حجم ۱/۵ میلی‌لیتر و دارای بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبولوترازولیوم، ربیوفلاوین و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیم انجام شد. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments)

## نتایج و بحث

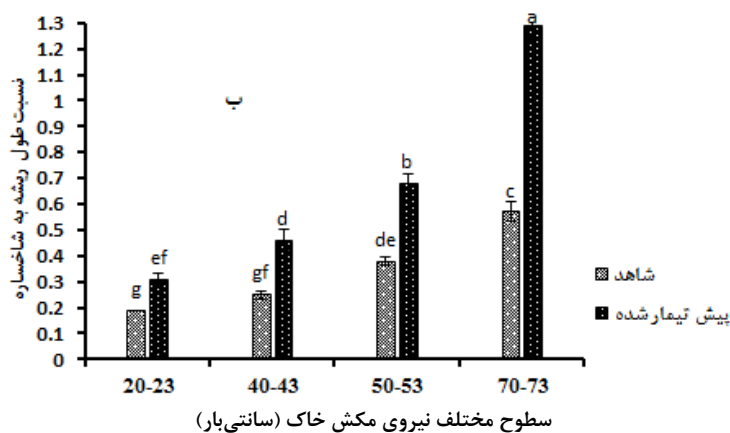
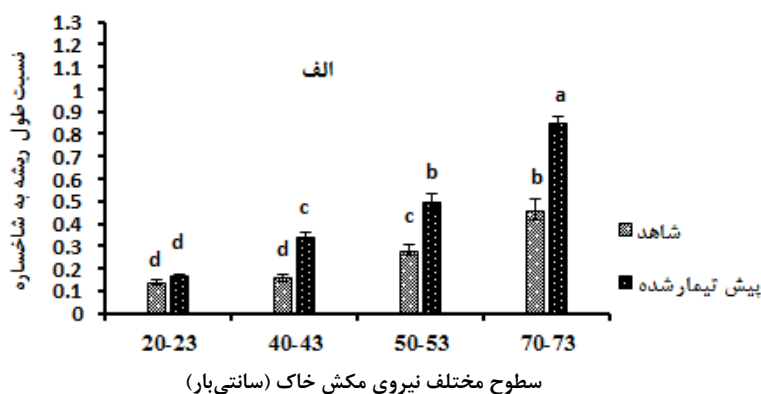
### ارزیابی صفات در پایان ۵۰ روز تنش خشکی

#### نسبت طول ریشه به شاخساره

نتایج نشان داد که با افزایش نیروی مکش خاک، نسبت طول ریشه به ساقه در هر دو گونه چمن، افزایش پیدا کرد. گیاهان پیش‌تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد، در هر کدام از سطوح نیروی مکش خاک نسبت طول ریشه به ساقه بیشتری داشتند. بیشترین و کمترین نسبت طول ریشه به ساقه در هر دو گونه به ترتیب مربوط به سطوح ۷۰-۷۳ و ۲۰-۲۳ سانتی‌بار بود (شکل ۱- الف و ب).

میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار و ۱۵ میکرولیتر عصاره آنزیم انجام شد. جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. اگر تغییرات جذب بر زمان (OD/min) را به ثابت  $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$   $40^1$  تقسیم کنیم فعالیت آنزیم به دست می‌آید (Chance & Maehly, 1955).

در نهایت تجزیه آماری داده‌های حاصل از صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار MSTAT-C توسط آزمون دانکن همچنین رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل انجام شد.



شکل ۱. نسبت طول ریشه به شاخساره در بنت‌گراس خزنده (الف) و فستوکای پایلند

(ب) پیش‌تیمار شده و شاهد در سطوح مختلف نیروی مکش خاک

ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن نشان ندادند.

(Amiard *et al.*, 2003). گزارش شده است که افزایش جذب آب بر اثر افزایش اندازه و عمق ریشه یکی از مکانیسم‌های مهم مطلوب تحمل به خشکی برای چمن‌هاست که به چمن اجازه استفاده از منابع آب در دسترس خاک را می‌دهد و مدت زمان نیاز به آبیاری

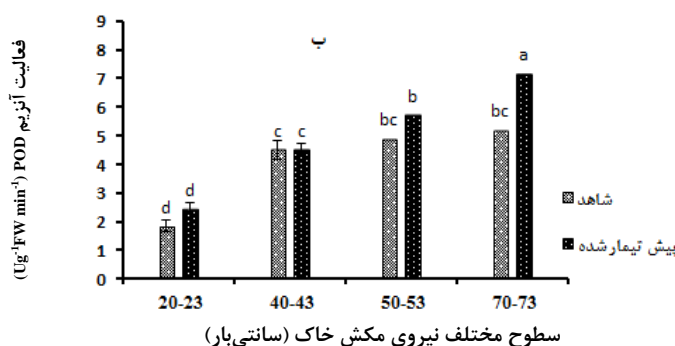
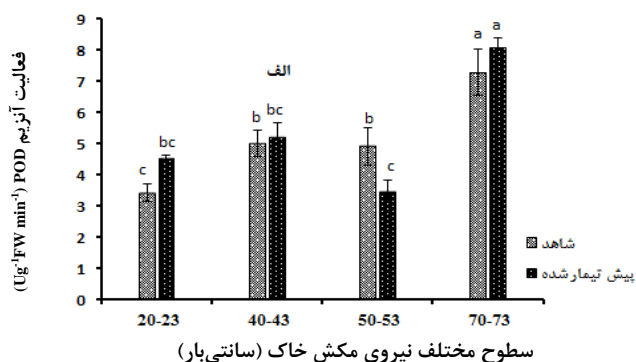
ثابت شده است که آبیاری با فواصل طولانی طول ریشه بلندتری را نسبت به آبیاری هر روز یا دو روز یک‌بار به همراه داشته است (Jordan *et al.*, 2003)، که موافق با یافته‌های ماست. اثر آشکار تنش خشکی همواره به صورت کاهش رشد بخش هوایی گیاه ظاهر می‌شود

(شکل ۲-ب)، لذا از این طریق سبب افزایش تحمل به تنش خشکی شد، درحالی‌که پیش‌تیمار خشکی تاثیر معناداری روی بنت‌گراس خزنده نداشت (شکل ۲-الف). گزارش‌های قبلی اثر سودمند پیش‌تیمار خشکی در افزایش میزان مقاومت به تنش سرما در دو رقم چمن لولیوم چندساله<sup>۲</sup> را به تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم POD نسبت داده‌اند (Hoffman *et al.*, 2012). تنش کم‌آبی در گیاه جو، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، APX، CAT و POD شد و مشخص شد در بین آنزیم‌های ارزیابی‌شده، آنزیم POD می‌تواند به‌منزله مهم‌ترین آنزیم برای افزایش مقاومت گیاه جو در مقابل تنش اکسایشی ناشی از کم‌آبی عمل کند (Amini *et al.*, 2008). در همین زمینه مطابق با نتایج این پژوهش بیان شده است که فعالیت آنزیم POD در گیاه گندم با افزایش سطح تنش افزایش یافته است، همچنین گزارش شده است که فعالیت بیشتر این آنزیم با محتوای نسبی آب برگ بالاتر همراه است (Chopra & Selote., 2007).

تکمیلی را طولانی‌تر می‌کند (Richardson *et al.*, 2008). همچنین مطابق با نتایج این پژوهش بیان شده است که پیش‌تیمار خشکی در چمن پوآ<sup>۱</sup> سبب افزایش بیشتر مقاومت به گرما، طویل‌تر شدن ریشه و تنظیم اسمزی می‌شود (Jiang & Huang, 2001). کاهش طول ساقه و افزایش طول ریشه از مهم‌ترین واکنش‌ها در پاسخ گیاه به تنش خشکی است. بنابراین، کاربرد پیش‌تیمار خشکی با کاهش طول ساقه و افزایش طول ریشه توانایی گیاه را برای حفظ تعادل مطلوب آبی حفظ می‌کند و نیاز به آبیاری تکمیلی را به حداقل می‌رساند.

### فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

نتایج نشان داد که به‌طور کلی، با افزایش نیروی مکش خاک در دو گونه چمن، میزان فعالیت آنزیم POD افزایش پیدا کرد (شکل ۲-الف و ب). در گونه فستوکای پابلند در سطح ۷۰-۷۳ سانتی‌بار گیاهان پیش‌تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد فعالیت آنزیم POD بیشتری داشتند



شکل ۲. تغییرات فعالیت آنزیم POD در بنت‌گراس خزنده (شکل الف) و فستوکای پابلند

(شکل ب) پیش‌تیمار شده و شاهد در سطوح مختلف نیروی مکش خاک

ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن را نشان ندادند.

در چمن پوآ و فستوکای پا بلند رقم شرب<sup>۱</sup> نیز با پیشرفت خشکی فعالیت SOD در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد (Fu & Huang, 2001). گزارش شده است که پیش تیمار خشکی سبب افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های APX و SOD نسبت به گیاهان شاهد در رقم سانکیس از لولیوم چندساله تحت تنش سرمای دو درجه سانتی‌گراد شده است (Hoffman *et al.*, 2012). آنزیم SOD رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌کند و به این ترتیب غلظت سوپراکسید را در حد پایین نگه می‌دارد (Bailly *et al.*, 2001). افزایش فعالیت آنزیم SOD بر اثر پیش تیمار خشکی می‌تواند ناشی از نقش محوری این آنزیم در دفاع علیه تنش‌های اکسایشی باشد که با سرعت زیادی سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند.

#### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج نشان داد که با افزایش نیروی مکش خاک تا سطح ۴۰-۴۳ سانتی‌بار فعالیت این آنزیم افزایش یافت، اما پس از آن با اعمال تنش خشکی شدیدتر، فعالیت آنزیم کاهش پیدا کرد (شکل ۴-الف و ب). در هر دو گونه چمن، گیاهان پیش تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد به‌طور معناداری فعالیت آنزیم APX بیشتری در طول دوره تیمار خشکی داشته است (شکل ۴-الف و ب). همچنین افزایش فعالیت این آنزیم بر اثر پیش تیمار خشکی می‌تواند ناشی از نقش کلیدی این آنزیم در حذف پراکسید هیدروژن باشد، که نسبت به POD و CAT میل ترکیبی و حساسیت بیشتری به پراکسید هیدروژن دارد و نقش مهمی در مدیریت ROS در شرایط تنش ایفا می‌کند (Gill & Tuteja, 2010).

پژوهش‌های قبلی نیز نشان داد که پیش تیمار خشکی در رقم سانکیس لولیوم چندساله در شرایط تنش سرما سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های APX و SOD شده است (Hoffman *et al.*, 2012). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که آنزیم‌های CAT و APX پاسخ مشابهی به تنش‌های خشکی و سرما دادند (Guo *et al.*, 2006). بیان شده است که پیش تیمار خشکی فعالیت آنزیم APX را بیش از

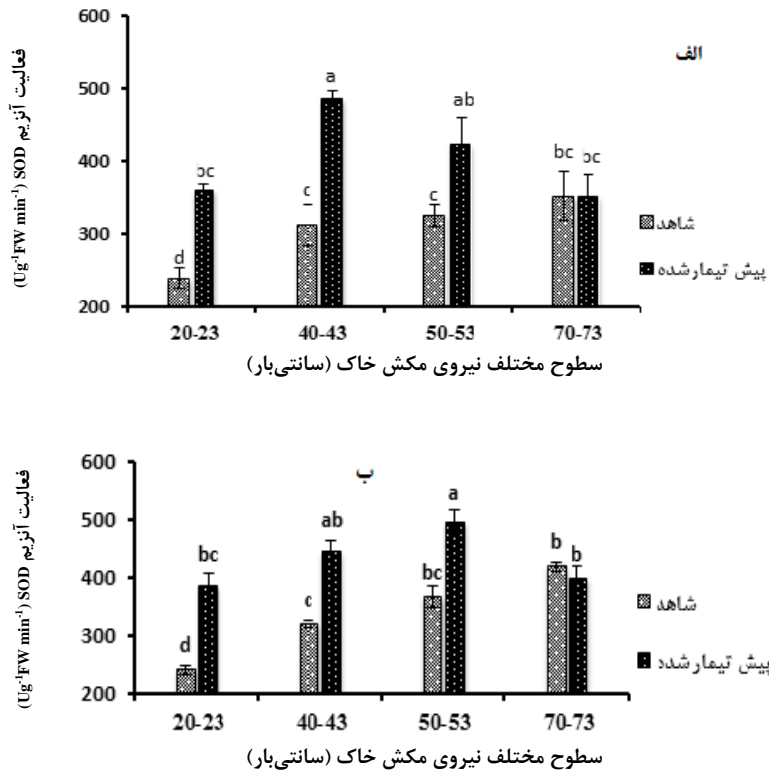
در چمن پوآ با پیشرفت خشکی فعالیت آنزیم POD در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد (Fu & Zhang, 2001). نتایج سایر پژوهش‌ها افزایش (Zhang *et al.*, 1995)، کاهش (Zhang & Kirkham, 1996) و عدم تغییر (Fangmeier *et al.*, 1994) در فعالیت آنزیم POD را در پاسخ به تنش خشکی نشان دادند. در واقع می‌توان گفت که با افزایش نیروی مکش خاک، دو گونه چمن قادرند در پاسخ به تنش خشکی آنزیم POD بیشتری را برای سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن تولید کنند و سبب افزایش تحمل به تنش خشکی شوند.

#### فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج نشان داد که با افزایش نیروی مکش خاک، فعالیت آنزیم SOD در دو گونه چمن افزایش یافت، هر چند که در بالاترین سطح تنش (۷۰-۷۳ سانتی‌بار) فعالیت این آنزیم کاهش پیدا کرد (شکل ۳-الف و ب). همچنین پیش تیمار خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با گیاهان شاهد شد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که با کاربرد پیش تیمار خشکی و افزایش نیروی مکش خاک میزان فعالیت آنزیم در ابتدا کم شد و سپس سیر صعودی را پیش گرفت و در پایان با طولانی‌تر شدن دوره خشکی میزان فعالیت آنزیم کاهش پیدا کرد. با افزایش سطح تنش، سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه فعال می‌شود و شدت پاک‌سازی یون سوپراکسید افزایش و آسیب‌های حاصله از آن در گیاه کاهش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم SOD به‌منزله اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارت ناشی از تنش خشکی است و تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولید شده در گیاه باشد، این فرایند ادامه دارد. در واقع می‌توان گفت که در سطوح بالاتر تنش خشکی کاهش فعالیت SOD منجر به تجمع سوپراکسید می‌شود و این نشان می‌دهد که در این شرایط تعادل بین تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن و سیستم آنتی‌اکسیدانی در راستای تولید بیشتر ROS است (Breusegem *et al.*, 1998).

چمن پوآ پراتنسیس فعالیت آنزیم APX در مواجهه‌شدن با تنش خشکی افزایش یافته است (Bian & Jiang, 2009)، که نتایج ما نیز آن را تأیید می‌کند.

فعالیت آن در گیاهان شاهد افزایش داده است، اما فعالیت این آنزیم در سطوح بالاتر تنش خشکی کاهش یافته است (Sharma & Dubey, 2005) در بررسی انجام‌شده روی



شکل ۳. تغییرات میزان فعالیت آنزیم SOD در گونه بنت‌گراس خزنده (شکل الف) و فستوکای پابلند (شکل ب) پیش‌تیمار شده و شاهد در سطوح مختلف نیروی مکش خاک ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن را نشان ندادند.

سطوح بالای تنش خشکی ممکن است ناشی از تضعیف ظرفیت برگ‌ها برای تجزیه ROS باشد. افزایش فعالیت آنزیم CAT در گندم پس از قرارگرفتن در معرض خشکی، گزارش شده است، طوری که ارقام حساس به خشکی فعالیت بیشتری داشته‌اند (Simova-Stoilova *et al.*, 2010). گزارش شده است که در چمن پوآ با افزایش تنش خشکی فعالیت آنزیم CAT در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا می‌کند (Fu & Huang, 2001). کاهش فعالیت آنزیم CAT منجر به تجمع پراکسید هیدروژن می‌شود که می‌تواند با سوپراکسید برای تولید رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل واکنش دهد. در مورد گونه فستوکای پابلند می‌توان گفت که توانایی CAT برای حذف ROS در سطوح پایین تنش حفظ می‌شود، اما فعالیت آن با افزایش سطوح تنش خشکی محدود

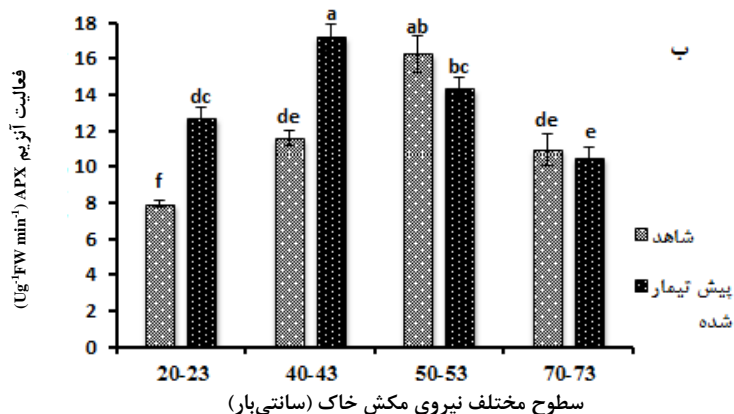
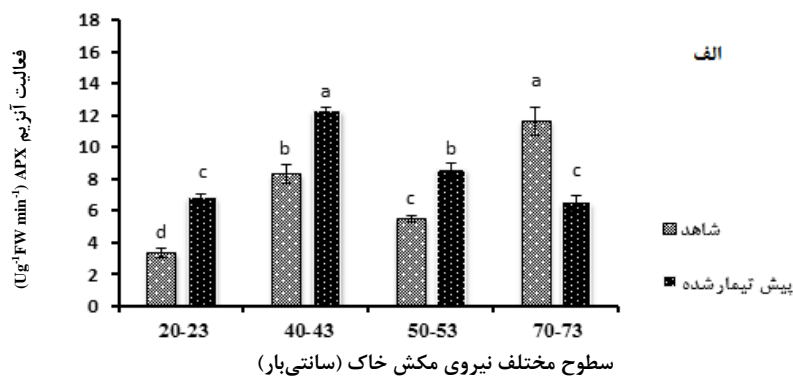
#### فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج نشان داد که با افزایش نیروی مکش خاک فعالیت آنزیم CAT به‌طور معناداری در بنت‌گراس خزنده افزایش یافت، و سطح ۷۰-۷۳ سانتی‌بار نیروی مکش خاک، بالاترین میزان فعالیت آنزیم CAT را داشت (شکل ۵-الف)، اما در گونه فستوکای بلند بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به سطح ۴۰-۴۳ سانتی‌بار بود و از آن به بعد کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده شد (شکل ۵-ب). همچنین پیش‌تیمار خشکی در هر دو گونه چمن، به‌طور معناداری فعالیت آنزیم CAT را بیش از فعالیت آن در گیاهان شاهد افزایش داد (شکل ۵-الف و ب).

در گونه بنت‌گراس خزنده که به خشکی حساس‌تر است با افزایش نیروی مکش خاک فعالیت آنزیم CAT بیشتر افزایش یافت. کاهش فعالیت آنزیم CAT در

CAT لولیوم چندساله را در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، بیش از فعالیت آن در گیاهان شاهد افزایش داده است (Hoffman *et al.*, 2012).

می‌شود (Zhang & Kirkham, 1996). به‌طور کلی، آنزیم CAT یکی از آنزیم‌های کلیدی در تجزیه  $H_2O_2$  است (Cook *et al.*, 2004). پیش‌تیمار خشکی فعالیت آنزیم



شکل ۴. تغییرات میزان فعالیت آنزیم APX در گونه بنت‌گراس خزنده (الف) و فستوکای پابلند (ب) در سطوح مختلف نیروی مکش خاک. ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن را نشان ندادند.

همچنین با افزایش نیروی مکش خاک فعالیت آنزیم APX در گیاهان شاهد افزایش یافت اما در گیاهان پیش‌تیمار شده کاهش یافت (جدول ۳). کمترین فعالیت آنزیم CAT در فستوکای پابلند مربوط به سطح ۴۰-۴۳ سانتی‌بار نیروی مکش خاک بود و بین سایر سطوح تنش، اختلاف معناداری نسبت به هم مشاهده نشد (شکل ۶).

در چمن پوآ پراتنسیس گزارش شده است که میزان بیان ژن کدکننده آنزیم POD و فعالیت آنزیم‌های APX و CAT در مرحله رشد مجدد گیاهان تنش‌دیده افزایش یافته است (Bian & Jiang, 2009). همچنین بیان شده است که فعالیت آنزیم CAT در چمن پوآ در زمان رشد مجدد به‌طور معناداری افزایش یافته است (Wang &

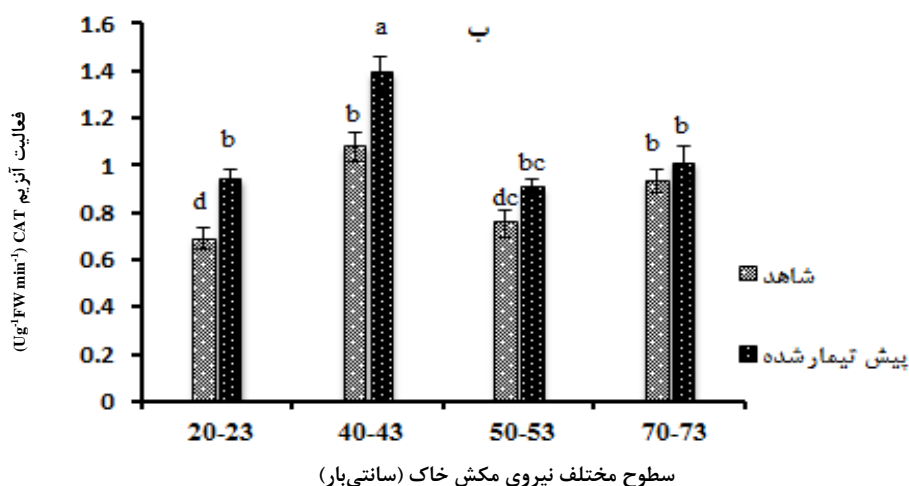
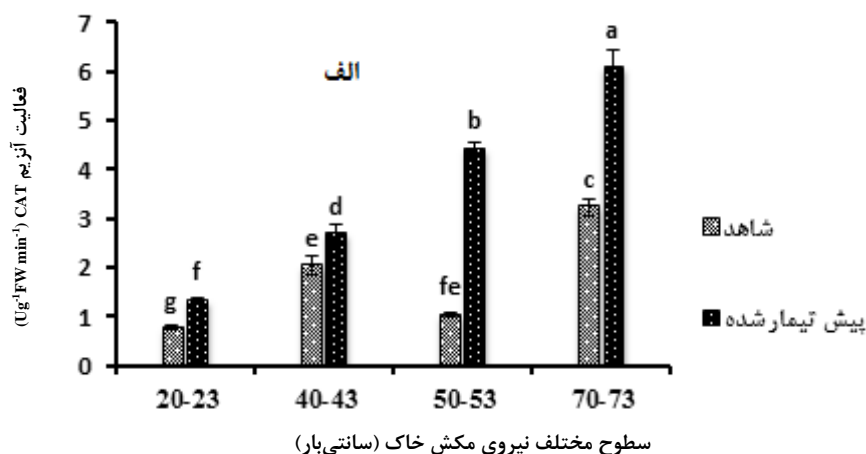
ارزیابی صفات در مرحله رشد مجدد پس از تنش خشکی در مرحله رشد مجدد گونه بنت‌گراس خزنده، گیاهانی که نیروی مکش خاک بیشتری را در مرحله تیمار خشکی دریافت کرده بودند، فعالیت آنزیم‌های POD، APX و CAT بیشتر، و به‌عکس فعالیت آنزیم SOD کمتری را نشان دادند (جدول ۲). همچنین در این مرحله، گیاهان پیش‌تیمار شده فعالیت آنزیم‌های SOD، APX، CAT و POD بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند (جدول ۲).

در فستوکای پابلند، گیاهان پیش‌تیمار شده فعالیت آنزیم‌های POD و APX (جدول ۳) و CAT (شکل ۶) کمتری داشتند اما فعالیت آنزیم SOD در مرحله رشد مجدد پس از تنش خشکی معنادار نشد (جدول ۳).

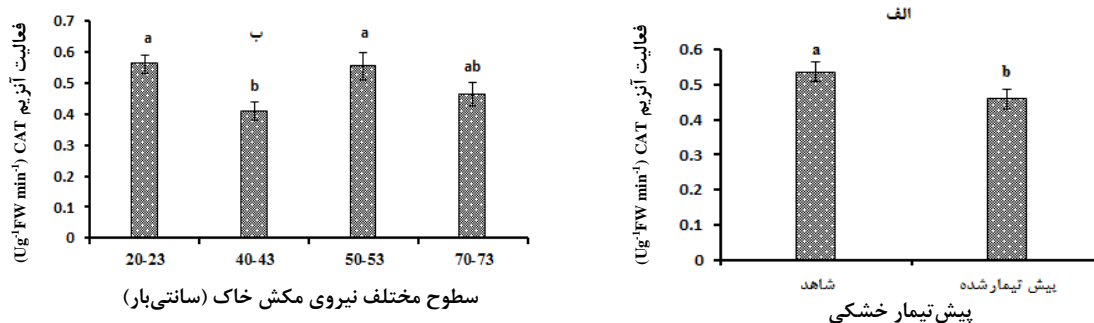


فعالیت آنزیم SOD پس از رشد مجدد در گیاه شبدر تحت تأثیر تنش خشکی افزایش می‌یابد (Zhou *et al.*, 2013)، که نتایج حاصل از چمن بنت‌گراس خزنده آن را تأیید می‌کند. بنابراین، می‌توان گفت که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان پیش‌تیمار شده بنت‌گراس خزنده، در مرحله رشد مجدد ناشی از ظرفیت بالای برگ‌ها در خنثی‌کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، افزایش سنتز، مقدار و افزایش پیش‌ماده ساخت آنتی‌اکسیدان‌ها، افزایش سطح خودتنظیمی این آنزیم‌ها و پایداری بیشتر غشای سلولی پس از یک دوره تنش ملایم خشکی باشد، که بسته به گونه گیاهی میزان تغییرات این آنزیم‌ها می‌تواند متفاوت باشد.

(Huang, 2004). گزارش‌های قبلی نشان داد که فعالیت آنزیم APX در هیبریدهای هلو پس از رشد مجدد کاهش می‌یابد (Sofa *et al.*, 2005). پاسخ‌های متفاوت آنزیم APX در زمان رشد مجدد پس از تنش را به گونه گیاهی، شدت تنش و میزان ROS های تولید شده نسبت داده‌اند (Bian & Jiang, 2009). نتایج حاصل از این پژوهش در خصوص فستوکای پابلند موافق با یافته‌های قبلی که نشان دادند فعالیت آنزیم SOD در چمن پوآ پراتنسیس در زمان رشد مجدد تغییر نکرده است (Wang & Huang, 2004)، و تنش خشکی اثری روی فعالیت آنزیم SOD در پوآ پراتنسیس نداشته است (Zhang & Schmidt, 1999). گزارش شده است که



شکل ۵. تغییرات میزان فعالیت آنزیم CAT گونه بنت‌گراس خزنده (الف) و فستوکای پابلند (ب) پیش‌تیمار شده و شاهد در سطوح مختلف نیروی مکش خاک ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن را نشان ندادند.



شکل ۶. تغییرات میزان فعالیت آنزیم CAT فستوکای پابلند بر اثر پیش تیمار خشکی (الف) و سطوح مختلف نیروی مکش خاک (ب) ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن را نشان ندادند.

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات چمن بنت‌گراس خزنده در مرحله رشد مجدد

CAT (Ug <sup>-1</sup> FW min <sup>-1</sup> )	APX (Ug <sup>-1</sup> FW min <sup>-1</sup> )	SOD (Ug <sup>-1</sup> FW)	POD (Ug <sup>-1</sup> FW min <sup>-1</sup> )	تنش خشکی (سانتی بار)	*DP
۱/۲e	۲/۴ d	۲۵۴/۷ b	۱/۲d	۲۰-۲۳	*۰
۲/۴c	۴/۹ c	۲۳۰/۵ bc	۲/۹ c	۴۰-۴۳	۰
۱/۹d	۵/۶ c	۲۲۰/۲ dc	۳/۷ bc	۵۰-۵۳	۰
۴/۱a	۷/۶ b	۱۸۹/۳ d	۴/۴ ab	۷۰-۷۳	۰
۲/۵c	۲/۹ d	۳۱۵/۹ a	۳/۵ bc	۲۰-۲۳	*۱
۳/۳b	۵/۳ c	۲۰۷/۹ dc	۳/۱ c	۴۰-۴۳	۱
۴/۲a	۸/۶ ab	۲۳۴/۵ bc	۴/۸ a	۵۰-۵۳	۱
۲/۰d	۹/۸ a	۲۰۲/۹ dc	۴/۲ ab	۷۰-۷۳	۱

\* در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار شدند. ۰: گیاهان شاهد، ۱: گیاهان پیش تیمار شده، DP: پیش تیمار خشکی.

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات چمن فستوکای پابلند در مرحله رشد مجدد

CAT (Ug <sup>-1</sup> FW min <sup>-1</sup> )	APX (Ug <sup>-1</sup> FW min <sup>-1</sup> )	SOD (Ug <sup>-1</sup> FW)	POD (Ug <sup>-1</sup> FW min <sup>-1</sup> )	تنش خشکی (سانتی بار)	*DP
۰/۵۷ a	۳/۰ d	۲۳۸/۲ a	۱/۹ bc	۲۰-۲۳	*۰
۰/۴۲a	۳/۷ d	۳۱۳/۷ a	۲/۷ a	۴۰-۴۳	۰
۰/۶۲a	۴/۴ dc	۲۳۷/۴ a	۲/۳ ab	۵۰-۵۳	۰
۰/۵۱a	۷/۸ a	۲۲۴/۴ a	۱/۲ d	۷۰-۷۳	۰
۰/۵۴a	۸/۰ a	۲۸۵/۵ a	۰/۸۹ e	۲۰-۲۳	*۱
۰/۳۹a	۶/۲ b	۲۶۷/۹ a	۲/۳ ab	۴۰-۴۳	۱
۰/۴۸a	۵/۷ bc	۲۴۲/۸ a	۱/۶ dc	۵۰-۵۳	۱
۰/۴۱a	۵/۶ bc	۲۲۵/۹ a	۱/۵ d	۷۰-۷۳	۱

\* در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنادار شدند. ۰: گیاهان شاهد، ۱: گیاهان پیش تیمار شده، DP: پیش تیمار خشکی.

### نتیجه‌گیری کلی

بود، در نتیجه می‌توان گفت این گیاهان می‌توانند خسارت ناشی از ROS را در شرایط تنش کاهش دهند. همچنین در مرحله رشد مجدد فقط در چمن بنت‌گراس خزنده پیش تیمار شده که نیروی مکش خاک بالاتری را

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل SOD، CAT، APX و POD گیاهان پیش تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد، در پایان ۵۰ روز تنش خشکی بالاتر

می‌توان گفت که پیش‌تیمار خشکی بدون صرف هزینه و استفاده از هورمون‌ها و مواد آنتی‌اکسیدان که از نظر اقتصادی در چمن‌کاری نه مقرون به صرفه و نه عملی است، چمن‌ها را در برابر کم‌آبی که مشکل اصلی توسعه چمن در فضای سبز است، از طریق افزایش طول ریشه و تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مقاوم کرد.

طی کرده بودند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در مجموع پیش‌تیمار خشکی با افزایش نسبت طول ریشه به شاخساره و تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی توانسته تحمل به تنش خشکی را در دو گونه چمن افزایش دهد. بنابراین، مطابق با نتایج این پژوهش

## REFERENCES

1. Alizadeh, A. (2004). *Soil and plant water relations*. Imam Reza University Press. Mashhad. (In Farsi)
2. Amiard, V., Bertrand, A.M., Billard, J.P., Huault, C., Keller, F. & Prudhomme, M. P. (2003). Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass. *Journal of Plant Physiology*, 132, 2218-2229.
3. Amini, Z., Hadad, R. & Moradi, F. (2008). The effect of drought stress on antioxidant enzymes activity in reproductive growth stages (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 46, 74-65.
4. Aldous, D. E. & Chivers. I. H. (2002). *Sports Turf and Amenity Grasses, a manual for use and identification*. Landlinks Press. pp. 221.
5. Baillya, C., Corbineau, F. & Van Doorn, W. G. (2001). Free radical scavenging and senescence in Iris tepals. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39, 647-656.
6. Bian, S. & Jiang, Y. (2009). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 120, 264-270.
7. Breusegem, F., Van Montague, M., Van Inze, D., Van Breusegem, F. & Van Montague, M. (1998). Engineering stress tolerance in maize. *Outlook Agriculture Journal*, 27, 115-124.
8. Cook, D., Fowler, S. & Fiehn, O. (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low temperature metabolome of Arabidopsis. *Plant Biology*, 101, 15243-8.
9. Copra, R.K. & Selote, D.S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought – resistant than- susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental Experimental Botany*, 60, 276-283.
10. Dabrowska, G., Kata, A., Goc, A., Hebda, M.S. & Skrzypek, E. (2007). Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 49, 7-17.
11. Fangmeier, A., Brunschön, S. & Jäger, R.J. (1994). Time course of oxidant stress biomarkers in flag leaves of wheat exposed to ozone and drought stress. *New Phytologist*, 126, 63-69.
12. Fu, J. & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool- season grasses to localized drought stress. *Environment Experimental Botany*, 45, 105-114.
13. Giannopolitis, C.N. & Ries, S.K. (1977). Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, 309-314.
14. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry Journal*, 48, 909-930.
15. Guo, Z., Ou, W., Lu, S. & Zhong, Q. (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology Biochemistry*, 44, 828-836.
16. Hoffman, L., DaCosta, M., Scott Ebdon, J. & Zhao, J. (2012). Effects of drought preconditioning on freezing tolerance of perennial ryegrass. *Environmental & Experimental Botany*, 79, 11-20.
17. Jiang, Y. & Huang, B. (2001). Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 41, 1168-1173.
18. Jordan, J., White, R., Vietor, D., Hale, T., Thomas, J. & Engelke, M. (2003). Effect of irrigation frequency on turf quality, shoot density and root length density of five bentgrass cultivars. *Crop Science*, 43, 282-287.
19. Kafi, M., & Kaviani, S.H. (2002). *Establishment management and turf maintenance*. Cultural & Artistic Institution Shaghayegh Rusta, Pp: 230. (In Farsi)
20. Latimer, J.G. (1992). Drought, paclobutrazol, abscisic acid, and gibberellic acid as alternatives to daminozide in tomato transplant production. *Horticulture Science*, 117, 243-247.
21. Makela, P., Sainio, P. P., Jokinen, K., Pehu, E., Setälä, H., Hinkkanen, R. & Somersalo, S. 1996. Uptake and translocation of foliar-applied glycinebetaine in crop plants. *Plant science*, 121, 221-230.
22. Peng, Y., Chenping, X.U., Lixin, X.U. & Hung, B. (2011). Improved heat tolerance through drought preconditioning associated with changes in lipid composition, antioxidant enzymes, and protein expression in Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 2, 807-817.

23. Pound, W.E. & Street, J.R. (2001). Managing turfgrass under drought conditions. *Horticulture & Crop Science*, 61, 4028-4029.
24. Richardson, M.D., Karcher, D.E., Hignight, K. & Rush, D. (2008). Drought tolerance and rooting capacity of Kentucky bluegrass cultivars. *Crop Science*, 48, 2429-2436.
25. Roohollahi, I., Kafi, M. & Naderi, R. (2010). Drought reaction and rooting characteristics in response to plant growth regulators on *Poa pratensis* cv. Barimpala. *International Journal Food Agriculture Environment*, 8, 285-288.
26. Shaoyun, L., Su, W., Li, H. & Guo, H. (2009). Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- and NO-induced antioxidant enzyme activities. *Plant Physiology & Biochemistry*, 47, 132-138.
27. Sharma, P. & Dubey, R.S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulator*, 46, 209-221.
28. Simova-stoilova, L., Vaseva, I., Grigorova, B., Demirevska, K. & Feller, U. (2010). Proteolytic activity and cysteine protease expression in wheat leaves under severe soil drought and recovery. *Plant physiology Biochemistry*, 48, 200-206.
29. Salahvarzy, Y., Tehranfar, A., Gzanchyan, A. & Aroei, H. (2008). Physiomorphological changes under drought stress and rewatering in endemic and exotic turfgrasses. *Journal of Horticultural Science*, 22, 1-12. (In Farsi)
30. Sofo, A., Tuzio, A.C., Dichio, B. & Xiloyannis, C. (2005). Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate-glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. *Plant Science*, 169, 403-412.
31. Trenholm, L.E. (2000). Improving drought tolerance in your Florida lawn. *Food & Agricultural Sciences*. ENH57.
32. Wang, Z. & Huang, B. (2004). Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Science*, 44, 1729-1736.
33. Zhang, J. & Kirkham, M.B. (1996). Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytologist*, 132, 361-373.
34. Zhang, J., Cui, S., Li, J. & Kirkham, M.B. (1995). Protoplasmic factors, antioxidant responses, and chilling resistance in maize. *Plant Physiology Biochemistry*, 33, 567-575.
35. Zhou, Li., Peng, Y. & Ma, X. (2013). Different response on drought tolerance and post-drought recovery between the small-leafed and the large-leafed white clover (*Trifolium repens* L.) associated with antioxidative enzyme protection and lignin metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 213-222.
36. Zhu, J. K. (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Biotechnology*, 6, 441-445.