مطالعه واکنش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی چمن *Lolium perenne*. 'Numan' تحت تنش خشکی

زهره غلامیان‌جزی*[۱]، نعمت‌الله اعتمادی[۲]
[۱،۲*] گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
*نویسنده مسئول: Z.gholamianjazi@gmail.com

چکیده

تنش خشکی از مهم‌ترین عواملی است که رشد و کیفیت ظاهری چمن را کاهش می‌دهد. در بسیاری از شهرهای ایران محدودیت منابع آب مطرح است. با توجه به نیاز آبی بالای چمن ضروری است راهکارهایی برای داشتن چمن در فضای سبز اندیشیده شود. از جمله این راهکارها، استفاده از چمن‌های مناسب برای شرایط اقلیمی خشک و نیمه‌خشک است. استفاده از گونه‌ها و ارقام مقاوم به خشکی می‌تواند یک برنامه مدیریتی مفید برای کاهش نیاز آبی در چمن باشد. در این پژوهش به‌منظور مطالعه واکنش‌های چمن *Lolium perenne* رقم 'Numan' تحت تنش خشکی، بذرهای چمن چاوداری در گلدان‌های PVC به قطر ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر در گلخانه کشت شدند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد و چمن‌ها پس از استقرار به مدت دو ماه تحت تیمارهای تنش خشکی ۱۰۰٪FC، ۷۵٪FC، ۵۰٪FC و ۲۵٪FC (FC= گنجایش زراعی) قرار گرفتند. در این مدت میزان پرولین، میزان کلروفیل، آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، تحت تنش خشکی میزان کلروفیل گیاه کاهش یافت، درحالی‌که با شدید شدن تنش خشکی، میزان پرولین افزایش پیدا کرد. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در گیاهان تحت تنش افزایش یافت ولی با شدید شدن میزان تنش، فعالیت آنزیم کاهش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی در گیاهان افزایش یافت.

***کلمات کلیدی*: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای کلروفیل، محتوای پرولین.**

مقدمه

یکی از چالش‌های اصلی در مدیریت چمن، محدودیت منابع آب آبیاری است. استفاده از ارقام متحمل به خشکی در مخلوط‌های چمن مورد استفاده می‌تواند به کاهش مشکلات مدیریتی در نواحی خشک و نیمه‌خشک کمک کند. چمن نیز مانند سایر گیاهان دارای مکانیزم‌های مختلفی برای مقابله با خشکی است. افزایش نشت یونی نشان دهنده بروز آسیب غشایی است. در مطالعه‌ای روی چمانواش بلند و کنتاکی آبی مشخص شد تنش خشکی سبب کاهش کیفیت، محتوای نسبی آب برگ و افزایش نشت یونی در گونه‌های مذکور گردید (Pessarakli, 2008). فو و هانگ تحمل به خشکی کنتاکی آبی و چمانواش بلند، را تحت سه رژیم رطوبتی خاک بررسی کردند. تحت تنش خشکی، مقدار آب نسبی برگ، کلروفیل و وزن خشک اندام هوایی کاهش یافت اما فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. کاتالاز نیز برای ۲۵ روز ثابت ماند و سپس کاهش یافت (Fu and Huang, 2001).

سانوکا و همکاران بیان کردند، تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیمی با افزایش مقاومت به خشکی در گیاهان دارد (Saneoka *et al*., 2004). تجمع پرولین در چمن‌ها طی تنش خشکی توسط (Gunes *et al*., 2008; Tatari *et al*., 2013) نیز گزارش شده است. *Lolium perenne* L. به‌عنوان یکی از باریک برگان مقاوم و پایدار به‌طور گسترده در

سراسر دنیا به‌خصوص در مناطقی با اقلیم سرد مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای قدرت ترمیمی و تکثیر بسیار مناسب می‌باشد.

تنش خشکی عامل اصلی محدودکننده کیفیت، ماندگاری و تولید چمن است. مدیریت مناسب و درک درست پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک چمن در شرایط تنش خشکی نقش مهمی در به حداقل رساندن مشکلات چمن‌کاری در مناطقی با اقلیم خشک و نیمه‌خشک دارد. از طرف دیگر ارقام *Lolium perenne* L. یکی از اجزای مهم تشکیل‌دهنده بذور چمن‌های مخلوط می‌باشند. بر این اساس، هدف از این پژوهش، شناسایی سازوکار مقاومت و میزان تحمل به خشکی رقم 'Numan' از گونه *Lolium perenne* L. است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۵-۹۴، در گلخانه‌های آموزشی- پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، انجام گرفت. بذرهای چمن چاوداری با تراکم کاشت ۲۰ گرم بر مترمربع در گلدان‌های PVC که با خاک لوم-سیلت پر شده بودند، کشت شدند. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در آزمایش، در جدول «۱» آمده است. تا استقرار کامل چمن‌ها، آبیاری بر اساس نیاز آبی و به‌گونه‌ای که آب از انتهای زهکش گلدان‌ها خارج شود، انجام گرفت. پس از استقرار چمن‌ها، تیمارهای آزمایش شامل ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی بر روی گیاهان به روش وزنی اعمال شد (Widiastuti *et al.*, 2008).

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از ۰/۱ گرم از نمونه‌های برگی و بر اساس روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) انجام شد. اندازه‌گیری کلروفیل برگ‌ها طبق روش لیشتنتالر[1] انجام شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ائبی استفاده شد (Aebi, 1984). فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش چنس و مهلی اندازه‌گیری شد (Chance and Maehly, 1955). میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از روش جیانوپلیتیس و ریس اندازه‌گیری شد (Giannopolities and Rise, 1977).

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد استفاده

بافت	FC(%)	EC_e (dS/m)	pH_e
سیلت‌لوم	۲۲/۳	۱/۲	۷/۹

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر خشکی بر محتوای کلروفیل در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید « جدول ۲». کاهش معنادار غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش خشکی مشاهده شد. بیش‌ترین میزان کلروفیل در گیاهان شاهد مشاهده شد « جدول ۳». به نظر می‌رسد کاهش معنی‌دار کلروفیل در این تحقیق به دلیل کاهش فاکتورهای لازم جهت سنتز کلروفیل و تخریب ساختمان آن می‌باشد. همچنین افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش پراکسیداسیون لیپید و تخریب غشای کلروپلاست، تخریب کلروفیل را دربر دارد. در پژوهشی توسط جیانگ و هانگ گزارش شده، تنش خشکی بر روی چمن‌های چمانواش بلند و کنتاکی آبی منجر به کاهش محتوای کلروفیل شده است (Jiang and Huang, 2001).

نتایج حاصل از تیمار آبیاری بر میزان پرولین نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان پرولین در گیاهان به‌طور معناداری افزایش یافت، اما بین سطح ۵۰٪FC و ۲۵٪FC اختلاف معناداری مشاهده نشد. میزان پرولین در سطح ۲۵٪FC، ۴/۸ برابر میزان پرولین در سطح شاهد بود « جدول ۳». به نظر می‌رسد رقم مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی شدید، با فرایندی به نام تنظیم اسمزی به تنش کم‌آبی غلبه پیدا کند و پتانسیل اسمزی سلولی خود را با

[1] Lichtenhaler, 1987

تجمع مواد محلول کاهش دهند (Mahajan and Tuteja, 2005). در پژوهشی گزارش شده است که تحت تنش خشکی توده بومی چمانواش بلند در مقایسه با چمن‌های اصلاح‌شده و تجاری مقادیر بالاتری از پرولین را در خود ذخیره کرده است (Salahvarzi et al., 2009).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر خشکی بر فعالیت کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید « جدول ۲». افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در شرایط تنش نشانگر نقش این آنزیم‌ها در سیستم دفاعی گیاه در شرایط تنش است. نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش پیدا کرد، اما بین سطح ۵۰٪FC و ۲۵٪FC اختلاف معناداری مشاهده نشد. فعالیت این آنزیم در سطح ۲۵٪FC، به ۱/۴۵ برابر سطح شاهد رسید « جدول ۳». کاتالاز آنزیمی است که تقریباً در تمام جاندارانی که از اکسیژن استفاده می‌کنند یافت می‌شود و پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌نماید (Yang *et al*., 2008). افزایش فعالیت کاتالاز در گندم در معرض تنش خشکی، گزارش شده است (Simova-Stoilova *et al*., 2010).

فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز از زمان اعمال تنش تا سطح ۵۰٪FC افزایش پیدا کرد و پس از آن کم شد، اگرچه بین سطح ۷۵٪FC و ۲۵٪FC اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد« جدول ۳». نتایج نشان دادند که چمن مورد آزمایش در پاسخ به تنش خشکی، فعالیت پراکسیداز را تا سطح ۵۰٪FC برای سمیت‌زدایی اکسیژن فعال حفظ می‌کند. پراکسیداز نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی ایفا می‌کند. این آنزیم مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسیدهیدروژن است. در کنتاکی آبی با پیشرفت خشکی فعالیت آنزیم در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد (Farkhondeh *et al*., 2012).

تیمار آبیاری باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تا سطح ۵۰٪FC گردید و پس از آن کاهش پیدا کرد، اما بین سطح ۵۰٪FC و ۲۵٪FC اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد « جدول۳». افزایش سوپراکسیددیسموتاز در مراحل اولیه تنش خشکی، گیاه را از آسیب اکسایشی حفاظت می‌کند؛ اگرچه کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز پس از طولانی‌شدن تنش خشکی نشان می‌دهد که عمل از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن توسط سوپراکسیددیسموتاز با طولانی و شدید شدن تنش خشکی تضعیف گردیده است. در ذرت نیز با شدت گرفتن خشکی، فعالیت سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت، اما در مراحل بعدی رشد و توسعه ذرت، فعالیت این آنزیم کاهش پیدا کرد (Ping *et al*., 2006).

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ویژگی‌های فیزیولوژیک چمن

		میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل کل	پرولین	کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسیددیسموتاز
بلوک	۲	۰/۶۹^{ns}	۰/۰۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۶۹^{ns}
خشکی	۳	۲/۱۷**	۰/۰۳۲**	۰/۰۰۵**	۶/۱۲**	۳۸/۰۱**
خطا	۶	۰/۲۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۱	۰/۶۹
ضریب تغییرات		۱۲/۷۹	۷/۷۳	۸/۳۱	۳/۷۶	۱۰/۸۱

** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و عدم وجود اختلاف معنی‌دار آزمون LSD

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک چمن

تیمار تنش خشکی	کلروفیل (mg g^{-1} FW)	پرولین (µmolgr^{-1}FW)	کاتالاز (U mg^{-1} Protein)	پراکسیداز (U mg^{-1} Protein)	سوپراکسیددیسموتاز (U mg^{-1} Protein)
۱۰۰٪FC	۴/۷۰^{a}	۰/۰۵^{b}	۰/۲۰^{c}	۲/۴۲^{d}	۲/۵۰^{c}
۷۵٪FC	۳/۷۳^{b}	۰/۰۷^{b}	۰/۲۴^{b}	۳/۰۱^{c}	۸/۳۳^{b}
۵۰٪FC	۳/۱۲^{bc}	۰/۲۳^{a}	۰/۲۷^{ab}	۵/۷۷^{a}	۱۰/۳۰^{a}
۲۵٪FC	۲/۷۵^{c}	۰/۲۴^{a}	۰/۲۹^{a}	۳/۵۱^{b}	۱۰/۰۰^{a}

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که محتوای کلروفیل در پاسخ به تنش خشکی با یک شیب ملایم کاهش یافت، درحالی‌که میزان پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش خشکی افزایش یافت. اما شدت و میزان تغییر این صفات در تیمارهای مختلف تنش خشکی، متفاوت بود. چمن مورد مطالعه با داشتن محتوای پرولین بیشتر در شرایط تنش خشکی شدید و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند مانع افزایش گونه‌های فعال اکسیژن شود و به‌این‌ترتیب میزان تخریب غشاء و نشت یونی را تحت تأثیر قرار دهد. در نهایت با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می رسد که استفاده از برخی ارقام چمن‌های تجاری می‌توانند یکی از راهکارهای مدیریتی برای مقابله با بحران کم‌آبی در فضای سبز باشند.

منابع

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology; 105: 121-126.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil; 39: 205-207.

Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. Methods in Enzymology; 2: 764-775.

Farkhondeh, R., Nabizadeh, E. and Jalilnezhad, N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugar beet cultivars. International Journal of AgriScience; 2: 385-392.

Fu, J. and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environmental and Experimental Botany; 45: 105-114.

Giannopolities, C.N. and Rise, S.K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology; 59: 304-309.

Gunes, A., Pilbeam, D.J., Inal, A. and Coban, S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. Commun. Soil Science Plant Analysis; 39: 1885-1903.

Jiang, Y, and Huang, B. 2001. Drought and heat stress injury of two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science; 41: 436-442.

Lichtenhaler, Hartmut K. 1987. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology; 148: 350-382.

Mahajan, S, and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stress: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics; 444: 139-158.

Pessarakli, M. 2008. Hand Book of Turfgrass Management and Physiology. CRC Press, Taylor and Francis Publishing Company, Florida.

Ping, B.L., Gong, S.F., Da, G.T., Hui, S.Z., Yan, L.Y. and Sheng, G. 2006. Effect of soil drought stress on leaf water statue, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of Maize. Soil Science Society of China; 16: 326-332.

Salahvarzi, Y., Tehranifar, A. and Gazanchian, A. 2009. Physiomorphological changes under drought stress and rewatering in endemic and exotic turfgrasses. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology; 9: 193-204 (in Persian).

Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S. and Fujita, K. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris Huds.* Environmental and Experimental Botany; 52: 131-138.

Simova-Stoilova, L., Vaseva, I. Grigorova, B., Demirevska, K. and Feller, U. 2010. Proteolytic activity and cysteine protease expression in wheat leaves under severe soil drought and recovery. Plant Physiology and Biochemistry; 48: 200-206.

Tatari, M., Fotouhi Ghazvini, N., Etemadi, N., Ahadi, A.M, and Mousavi, A. 2013. Study of some physiological responses in three species of turfgrass in drought stress conditions. Iranian journal of Plant Production., 20: 63-87 (in Persian).

Widiastuti, N., Wu, H., Ang, M. and Zhang, D.K. 2008. The potential application of natural zeolite for greywater treatment. Desalination Journal; 218: 271-280.

Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B. and Wang, J. 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of Picea asperata seedling. Acta Physiologiae Plantarum; 30: 433-440.

Study of Physiological and Biochemical Response of *Lolium perenne*. 'Numan' under Drought Stress

Zohre Gholamian[1*], Nematolalh Etemadi[2]
[1*, 2] Department of Horticulture, college of Agriculture, Isfahan University of Technology
[*]*Corresponding Author: z.gholamianjazi@gmail.com*

Abstract

Drought stress is one of the most important factors that reduce turfgrass growth and quality. Restriction of water resources is the main problem of turfgrass in some regions of Iran. According to high water requirement of turfgrass, it is essential to find suitable turfgrasses for arid and semi-arid conditions. Using resistant species and varieties can be a useful management program for reducing water requirement in turfgrass. In this study some of the physiological and biochemical responses of *Lolium perenne*. 'Numan' in drought stress condition was evaluated. Then seeds of Rye grass were cultivated at greenhouse in PVC pots (with diameter 20 cm and height 20 cm). The experiment was performed in factorial based on complete block design with four levels of drought stress (100%FC, 75%FC, 50%FC and 25%FC); (FC= field capacity) with three replications. After establishment of plants, drought stress has applied for two months. Proline, chlorophyll content, catalase, superoxide dismutase and peroxidase were measured. The results of this study showed that, chlorophyll content decreased under drought stress; however the intensive drought stress increased the proline. The activity of Peroxidase and Superoxide dismutase has increased under drought stress and the higher stress led to a decrease in activity of enzyme. The activity of catalase in grasses increased under drought stress.

***Keywords*: Antioxidant enzyme, chlorophyll, proline content.**