# بررسی فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی در چمن پوآ پراتنسیس رقم باریمپالا تحت شرایط تنش خشکی

مریم تاتاری [۱]، رضا فتوحی قزوینی [۲]، سید اصغر موسوی [۳]، نعمت اله اعتمادی [۴]
۱- محقق بخش تحقیقات باغبانی، موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج. ۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت. ۳- استادیار بخش تحقیقات باغبانی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال وبختیاری، شهرکرد.
۴- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

## چکیده

تنش خشکی یکی از مهم ترین عواملی است که رشد و کیفیت چمن را کاهش می دهد. به منظور مطالعه اثرات تنش خشکی بر تغییرات آنزیم های آنتی اکسیدانی چمن Poa pratensis رقم 'Barimpala' ، بذور این چمن در گلدان های استوانه ایی به طول ۶۰ سانتی متر و به قطر ۱۵ سانتی متر در فضای آزاد کاشت شدند. پس از استقرار کامل گیاهان، آبیاری قطع گردید تا بیشتر گلدان ها به حدود ۸۰ درصد خشکیدگی برسند و پس از آن آبیاری مجدد انجام شد. صفات مورد ارزیابی با فواصل پنج روزه اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد در گیاهان در معرض تنش خشکی فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) تا روز ۵ اختلاف معنی داری با گیاهان شاهد نداشت، پس از آن در روز ۱۰ افزایش یافته و با طولانی شدن تنش در روز ۱۵ کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) تا روز ۱۰ افزایش یافته و سپس کاهش پیدا کرد و به کمتر از فعالیت این آنزیم در گیاهان شاهد رسید. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) تا روز ۵ بدون تغییر ماند، از روز ۵ تا ۱۰ کمی افزایش یافته و سپس در روز ۱۵ به کمتر از فعالیت آن در گیاهان شاهد رسید.

واژه های کلیدی: چمن، Poa pratensis، رقم باریمپالا ، خشکی، آنزیم، آنتی اکسیدان

## مقدمه

یکی از چالش های اصلی در مدیریت چمن، محدودیت منابع آب آبیاری است. استفاده از ارقام چمن متحمل به خشکی در مخلوط های چمن مورد استفاده می تواند به کاهش مشکلات مدیریتی در نواحی خشک و نیمه خشک کمک کند. چمن نیز مانند سایر گیاهان دارای مکانیزم های مختلفی برای مقابله با خشکی است (۸). تنش خشکی تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)[1] شامل سوپراکسید ($O_2^-$)، اکسیژن منفرد[2] ($^1O_2$)، هیدروکسیل ($OH^-$) و پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) را تحریک می کند. گونه های فعال اکسیژن به پروتئین ها، لیپیدها، کربوهیدرات ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می رسانند. گیاهان برای از بین بردن و دفع مسمومیت حاصل از گونه های فعال اکسیژن سیستم های دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند. در سیستم آنزیمی، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، $O_2^-$ را به $H_2O_2$ تبدیل می کند (۲). پراکسیداز (POD) با استفاده از سوبستراهای مختلف پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل می کند (۵). کاتالاز (CAT) پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می کند (۵). آسکوربات پراکسیداز (APX) برای احیای پراکسید هیدروژن به آب از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون استفاده می کند. گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) با استفاده از گلوتاتیون، پراکسیدها را به الکل تبدیل می کند (۵). عدم تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیژن و توانایی گیاه برای سمیت زدایی این گونه ها باعث آسیب به گیاه شده و تنش اکسایشی را به دنبال دارد. رقم 'باریمپالا' یکی از ارقام گونه .Poa pratensis L است که در دامنه وسیعی از دما به سرعت جوانه زده و مستقر می شود و به گرما و خشکی متحمل بوده و قدرت پاخوری بالایی و قدرت ترمیم بالایی دارد (۹). تنش خشکی عامل اصلی محدود کننده کیفیت، ماندگاری و تولید چمن است. مدیریت مناسب و درک پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چمن در شرایط

[1] Reactive oxygen species
[2] Singlet oxygen

تنش خشکی نقش مهمی در به حداقل رساندن مشکلات چمن کاری در نواحی خشک و نیمه خشک دارد. بر این اساس هدف پژوهش حاضر شناسایی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و میزان تحمل به خشکی رقم 'باریمپالا' از گونه .Poa pratensis L است.

## مواد و روش ها

بررسی تغییرات آنزیم های آنتی اکسیدانی در چمن پوآ پراتنسیس رقم باریمپالا تحت شرایط تنش خشکی، بذرهای ای رقم چمن پس از ضدعفونی سطحی در گلدان‌های استوانه‌ایی به طول ۶۰ سانتی متر و قطر ۱۵ سانتی متر با خاک با بافت سیلتی- رسی- لوم کشت شده و در شرایط طبیعی رشد یافتند. در طول مدت جوانه‌زنی و تا زمان استقرار کامل چمن که دو ماه به طول انجامید، آبیاری به طور منظم و کامل انجام شد تا رطوبت در حد ظرفیت زراعی باقی بماند. پس از استقرار کامل گیاهان، آبیاری به مدت ۱۵ روز یعنی تا زمانی که بیشتر گلدان ها به حدود ۸۰ درصد خشکیدگی برسند، به طور کامل قطع شد و پس از آن به منظور تعیین میزان برگشت پذیری چمن، آبیاری مجدد انجام شد. آزمایش به صورت کرت های خرد شده در زمان و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار (هر تکرار با چهار گلدان) اجرا شد. فاکتور اصلی تنش خشکی (در دو سطح شاهد و تحت تنش) و فاکتور فرعی زمان اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز (۱)، فعالیت آنزیم های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز(۶)، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (۷) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۴) یک روز قبل از اعمال تنش و نیز در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ بعد از قطع کامل آبیاری اندازه گیری شد.

## نتایج و بحث

افزایش غلظت آنزیم های آنتی اکسیدانی در شرایط تنش خشکی نشانگر نقش این آنزیم ها در سیستم دفاعی گیاه در شرایط تنش است. نتایج نشان داد که با پیشرفت تنش خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز تا روز ۱۰ افزایش پیدا کرد ، اما بین روز قبل از اعمال تنش و روز ۵ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بیشترین سرعت افزایش فعالیت این آنزیم از روز ۵ تا ۱۰ بود و در روز ۱۰ به حدود دو برابر گیاهان شاهد رسید. پس از آن فعالیت آنزیم کاهش پیدا کرد. کاتالاز یک آنزیم تبدیل کننده پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن مولکولی است. پژوهش ها نشان می دهد افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی با افزایش ظرفیت مکانیزم های حفاظتی در برابر آسیب اکسایشی می تواند به ایجاد تحمل به تنش خشکی کمک کند (۱۰). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که توانایی کاتالاز برای از بین بردن گونه های فعال اکسیژن در تنش اولیه حفظ می شود، اما فعالیت آن با طولانی شدن خشکی محدود می شود، اما در سطحی بالاتر از سطح گیاهان شاهد فعالیت می کند. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تا روز ۵ بعد از اعمال تنش گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش اختلاف معنی داری را در نشان ندادند. پس از آن فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان تحت تنش به طور معنی داری افزایش یافته و پس از آن در روز ۱۵ کاهش پیدا کرد. افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در برگ ها و عدم تغییر آن در ریشه های .Poa pratensis L در شرایط تنش خشکی می تواند به حفظ مقادیر آسکوربیک اسید و گلوتاتیون احیا شده که دو آنتی اکسیدانت مهم در مقابل سمیت گونه های فعال اکسیژن هستند، کمک کند (۳). میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با پیشرفت تنش تا روز ۱۰ افزایش معنی داری را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. پس از آن فعالیت این آنزیم کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز از روز ۵ تا ۱۰ بعد از اعمال تیمار افزایش پیدا کرد و پس از آن کم شد. نتایج نشان دادند که چمن مورد آزمایش در پاسخ به تنش خشکی، فعالیت پراکسیداز را تا روز ۱۰ برای سمیت زدایی اکسیژن فعال حفظ می کند. پراکسیدازها از جمله آنزیم هایی به شمار می روند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش های غیر زیستی مانند خشکی دارند. پراکسید هیدروژن در غلظت های پایین می تواند نقش پیام رسان را

در فرآیندهای انتقال پیام بازی کند و ژن های وابسته به مقاومت را در گیاه فعال کند، اما در غلظت های بالا سمی بوده و توسط آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز تبدیل به آب می شود(۱۱). تیمار آبیاری تا روز ۵ پس از اعمال تنش تاثیر معنی داری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نداشت. در روز ۱۰ فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش معنی داری داشت و پس از آن کاهش پیدا کرد. افزایش، کاهش و یا عدم تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در برگ ها و ریشه های Poa pratensis L. نشان دهنده متابولیسم های آنتی اکسیدانی متفاوت در پاسخ به تنش خشکی است (۱۱) که با نتایج این پژوهش همسو است. میزان پراکسیداسیون اسیدهای چرب با پیشرفت خشکی افزایش پیدا کرد، اما بین روز ۵ و روز قبل از اعمال تنش خشکی اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در روز ۱۵ میزان پراکسیداسیون لیپیدها به ۴/۲۳ برابر گیاهان با آبیاری مناسب رسید (شکل ۱۴) که نشان می دهد خشکی طولانی منجر به تجمع گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون لیپید غشا می شود و می تواند به کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کمک کند. افزایش غلظت مالون دی آلدهاید در برگ گیاهان تحت تنش خشکی پس از یک دوره طولانی با نتایج سایر محققان تطابق دارد (۱۱). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که قطع کامل آبیاری در چمن پوآ پراتنسیس رقم باریمپالا در ۵ روز اول پس از اعمال خشکی تاثیر چندانی بر فعالیت آنزیم های مورد اندازه گیری نداشت. حتی پس از گذشت ۱۵ روز از قطع کامل آبیاری و رسیدن به سطوح بالایی از درصد خشکیدگی، آبیاری مجدد منجر به بازگشت پذیری چمن شده و گیاهانی که آبیاری مجدد شده بودند، مشابه گیاهان شاهد گردیدند. چمن مورد مطالعه با داشتن افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، پس از گذشت ۱۰ روز از زمان اعمال تنش می تواند پتانسیل اسمزی خود را پایین نگه داشته و مانع افزایش گونه های فعال اکسیژن شود و به این ترتیب مقدار تخریب غشا و نشت یونی را تحت تاثیر قرار دهد. در نهایت با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می رسد که استفاده از برخی از ارقام چمن های تجاری متحمل به خشکی می توانند یکی از راهکارهای مدیریتی برای مقابله با بحران کم آبی در فضای سبز باشند.

**REFERENCES**


1. Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
2. Bian, S. and Y. Jiang. 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.
3. Foyer, C. H., P. Descourvieres, and K.J. Kunert. 1994. Photoxidative stress in plants. *Physiology Plant Journal*, 92: 696-717.
4. Giannopolities, C. N. and S. K. Rise. 1977. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 304-309.
5. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.
6. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22: 867-880.
7. Nickel, R. S. and B.A. Cunningham.1969. Improved peroxidase assay method using Ieuco 2,3,6-trichlcroindophenol and application to comparative measurements of peroxidase catalysis. *Analytical Biochemistry*, 27 (2): 292-299.
8. Pessarakli, M. 2008. *Handbook of turfgrass management and physiology*. (pp. 437-438.) University of Arizona. CRC Press, United States of America.
9. Roohollahi, I., M. Kafi, and R. Naderi. 2010. Drought reaction and rooting characteristics in response to plant growth regulators on poa pratensis cv. Barimpala. International *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8: 285-288.
10. Turkan, I., M. Bor, F. Ozdemir,and H.Koca. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant P. acutifolius gray and drought-sensitive P. vulgaris L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
11. Zhang, J., S. Cui, , J. Li, and M. B. Kirkham. 1995. Protoplasmic factors, antioxidant responses, and chilling resistance in maize. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33: 567-575.
12.