بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در پاسخ به تنش خشکی در چاوی چندساله تراریخت RD29A-IPT و نمونه‌های محلی آن

سمیه اسماعیلی خویگانی*[۲و۱]، حسن صالحی[۳]، مرتضی خوشخوی[۳]

[۱] دانشجوی پیشین دکتری گیاهان زینتی بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

[۲] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۳] استاد بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

*نویسنده مسئول: s.esmaeili@scu.ac.ir

چکیده

برای بررسی تغییر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در پاسخ به تنش خشکی، گیاهان تراریخت RD29A-IPT چاوی چندساله با گیاهان ناتراریخت و نمونه‌های محلی در گلخانه پژوهشی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز مورد ارزیابی قرار گرفتند. گیاهان پس از ۱۰ روز در شرایط تنش خشکی، سرزنی و به مدت ۲ هفته آبیاری شدند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند پراکسیداز(POD) ، کاتالاز (CAT) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در ۳ مرحله پیش از تنش، خشکی و پس از بازیابی (Recovery) اندازه‌گیری شدند. بر اساس نتایج، فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD برگ و ریشه در مقایسه با فعالیت POD به‌ویژه در گیاهان تراریخت در شرایط تنش خشکی بالاتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت‌های بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت SOD و CAT با افزایش میزان سایتوکاینین های درون‌زا به‌ویژه ایزوپنتنیل آدنین (iPA) مرتبط می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد پس از بازیابی، فعالیت‌های SOD و CAT در بیشتر گیاهان به حالت بهنجار برنگشت، گرچه فعالیت پراکسیداز پس از دوهفته آبیاری دوباره کاهش یافت. به نظر می‌رسد فعالیت‌های SOD و CAT نسبت به فعالیت POD در سازگاری به خشکی و بازیابی بیشتر اثر دارند.

واژه‌های کلیدی: برگ، پراکسیداز، ریشه، سبزفرش، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز.

مقدمه

تنش خشکی یکی از تنش‌های محیطی اصلی است که رشد و نمو گیاهان را محدود می‌کند. بازدارندگی رشد ساقه و ریشه در شرایط خشکی با انگیزش آسیب اکسیداتیو به دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مانند سوپر اکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) همراه است Xu *et al*., 2016. به‌طورکلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نقش حفاظتی در پاسخ به تنش گیاهی به‌ویژه خشکی دارند و پس از یک دوره تنش طولانی‌مدت، فعالیت آنتی‌اکسیدانت شامل آسکوربات پراکسیداز (APX)، CAT و SOD به طور معنی‌داری در سبز فرش‌ها کاهش می‌یابد که منجر به کاهش ازبین‌رفتن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Shahidi *et al*., 2017). تنش خشکی در گونه‌های چندساله سبزفرش سبب آسیب به محتوای آب سلولی و کلروفیل می‌شود و تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد که منجر به پیری برگ و ریشه می‌شود (DaCosta and Huang, 2006). پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به تنش خشکی ممکن به دوره و شدت تنش، نوع بافت و اندام و همچنین گونه و رقم متفاوت باشد(Zhang and Kirkham, 1996). برای نمونه، فعالیت آنزیم‌های POD، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در فریژکنتاکی[۱] ابتدا افزایش داشت و سپس با خشکی کاهش یافت ولی در علف گندمی بیابانی[۲] یک افزایش مداوم در فعالیت این آنزیم‌ها یافت شد (Tatari *et al*, 2018).

بررسی‌های پیشین نشان داد که کاربرد بیرونی سایتوکینین و افزایش سایتوکاینین درون‌زا می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را بیشتر کند و مکانیسم دفاعی آن‌ها در برابر تنش خشکی در سبزفرش‌ها به‌ویژه اروای خزنده[۳] را افزایش دهد. بیشتر بررسی‌های پیشین بر روی متابولیسم آنتی‌اکسیدانت برگ متمرکز شده‌اند و اطلاعات کمی روی نحوه متابولیسم آنتی‌اکسیدانت در زنده ماندن ریشه در شرایط تنش خشکی در دسترس هست (Bian and Jiang, 2009).

[1]. Kentucky bluegrass
[2]. Wheatgrass (*Agropyron desertorum*)
[3] Creeping bentgrass

هدف از انجام این پژوهش بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در برگ و ریشه گیاهان تراریخت RD29A-IPT چاوی چندساله با گیاهان ناتراریخت و نمونه‌های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و پس از بازیابی است.

مواد و روش‌ها

گیاهان تراریخت RD29A-IPT دو رقم Grassland و Numan با گیاهان ناتراریخت و نمونه‌های محلی چاوی چندساله جمع‌آوری‌شده از استان فارس، در گلخانه پژوهشی بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز کشت شدند. گیاهان پس از یک ماه استقرار و سرزنی در معرض تیمار خشکی به مدت ۱۰ روز قرار گرفتند و پس از آن گیاهان سرزنی شدند و به مدت ۲ هفته به‌منظور رشد دوباره آبیاری شدند. میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، POD و SOD در بافت‌های برگ و ریشه در سه مرحله (پیش از تنش، تنش و بازیابی) در گیاهان اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم‌های CAT، POD و SOD بر اساس روش Zhang and Kirkham (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. برای سنجش هر یک از آنزیم‌ها، ۰/۵ گرم از بافت‌های برگ و ریشه در ۶ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، دارای ۰/۲ میلی مولار اتیلن دی آمین ترا استیک اسید[1] (EDTA) و ۱ درصد (W/V) پلی وینیل پیرولیدون[2] (PVP) روی یخ همگن شدند. سپس با سرعت ۱۵۰۰۰gبه مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. محلول رویی جهت خواندن آنزیم‌ها برداشته شد و به ترتیب جذب‌ها در طول موج‌های ۲۴۰، ۴۷۰ و ۵۶۰ نانومتر برای CAT، POD و SOD با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Dynamica Halo VIS-20, UK) اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد فعالیت آنزیم POD در برگ‌های تمام گیاهان به جز گیاهان ناتراریخت در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. گرچه افزایش معنی‌داری حدود ۴۱/۸۹ درصد و ۴۱/۰۵ درصد در برگ‌های GM12 و GC8 در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد دیده شد. در نمونه‌های محلی، کمهر ۱، به طور معنی‌داری یک افزایش حدود ۱۳ درصد در فعالیت POD در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد. میزان فعالیت آنزیم POD پس از دوهفته آبیاری کاهش یافت. به‌طورکلی میزان فعالیت آنزیم POD در نمونه‌های محلی کمتر از گیاهان تراریخت بود. در میان گیاهان تراریخت، NC14 و GM12 بیشترین فعالیت آنزیم POD را در ریشه داشتند (جدول ۱).

جدول ۱. فعالیت‌های POD برگ گیاهان تراریخت، ناتراریخت و نمونه‌های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و بازیابی و

[1]. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
[2]. Polyvinylpyrrolidone (PVP)

فعالیت POD ریشه پس از دوهفته بازیابی.

گیاهان تیمار شده	فعالیت POD برگ (Unit g^{-1} f.w)			فعالیت POD ریشه (Unit g^{-1} f.w.)
	پیش از تنش	خشکی	بازیابی	
GW	0.030±0.003	0.012±0.001	*	0.013±0
NW	0.034±0.002	0.015±0.002	*	0.01±0.0
NC1	0.028±0.003	0.032±0.001	0.023±0.006	0.03±0.002
NC4	0.038±0.012	0.196±0.054	0.043±0.004	0.09±0.001
NC8	0.022±0.001	0.224±0.047	0.023±0.006	0.15±0.003
NC11	0.090±0.035	0.453±0.018	0.030±0.006	0.14±0.019
NC12	0.030±0.003	0.459±0.370	0.013±0.004	0.14±0.003
NC13	0.027±0.009	0.111±0.027	0.012±0.000	0.16±0.011
NC14	0.087±0.011	0.283±0.028	0.044±0.003	0.27±0.014
GC3	0.032±0.007	0.247±0.094	0.007±0.002	0.17±0.006
GC4	0.043±0.002	0.139±0.017	0.042±0.010	0.17±0.006
GC5	0.024±0.006	0.197±0.032	0.015±0.002	0.75±0.348
GC6	0.026±0.007	0.173±0.034	0.021±0.008	1.15±0.0135
GC8	0.017±0.004	0.715±0.061	0.028±0.001	1.23±0.022
GC9	0.047±0.003	0.042±0.007	0.026±0.002	0.07±0.005
GC16	0.125±0.001	0.369±0.130	0.047±0.002	0.27±0.007
NS14	0.072±0.053	0.160±0.026	0.016±0.000	0.19±0.010
NS22	0.026±0.001	0.020±0.006	0.030±0.005	0.04±0.001
GS1	0.007±0.000	0.239±0.020	0.010±0.000	0.17±0.006
GM12	0.007±0.002	0.300±0.097	0.012±0.001	1.65±0.012
GM21	0.035±0.015	0.230±0.040	0.021±0.007	1.48±0.014
GM24	0.014±0.005	0.330±0.017	0.028±0.000	1.60±0.039
Bereshneh1	0.057±0.022	0.071±0.026	0.020±0.000	0.08±0.006
Bereshneh2	0.030±0.003	0.339±0.047	0.058±0.014	0.03±0.002
Chamsohrabkhani	0.049±0.008	0.280±0.00	0.029±0.008	0.07±0.009
Delkhan1	0.053±0.002	0.252±0.064	0.010±0.000	0.03±0.001
Delkhan2	0.033±0.010	0.325±0.045	0.031±0.000	0.04±0.004
Homayjan1	0.012±0.003	0.149±0.019	0.010±0.002	0.03±0.001
Homayjan2	0.030±0.003	0.255±0.008	0.030±0.014	0.02±0.001
Homayjan3	0.019±0.001	0.233±0.004	0.007±0.001	0.01±0.001
Homayjan-Bereshneh	0.018±0.003	0.339±0.047	0.026±0.001	0.04±0.016
Komehr1	0.042±0.009	0.589±0.041	0.035±0.003	0.08±0.006
Komehr2	0.012±0.004	0.075±0.002	0.030±0.006	0.05±0.011
Khosroshirin	0.052±0.003	0.144±0.020	0.023±0.000	0.03±0.003
Margon	0.016±0.001	0.214±0.030	0.033±0.002	0.07±0.012
Pirsabzali	0.064±0.008	0.448±0.047	0.085±0.012	0.06±0.010
Shirmohamadi	0.017±0.004	0.286±0.021	0.035±0.012	0.035±0.002
Sheshpir	0.017±0.006	0.310±0.040	0.010±0.001	0.041±0.003
Tangeh Ardakan	0.089±0.021	0.378±0.0242	0.083±0.048	0.030±0.000

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.G: رقم Grassland، N: رقم Numan.

C: گیاهان تولید شده از پینه، M: گیاهان تولید شده از مریستم، S: گیاهان تولید شده از بذر،W: گیاهان ناتراریخت.

در شرایط پیش از تنش، میزان فعالیت CAT در میان همه گیاهان متفاوت بود. بیشترین فعالیت آنزیم CAT برگ، در نمونه خسروشیرین دیده شد. تنش خشکی به طور معنی داری فعالیت کاتالاز برگ در گیاهان ناتراریخت کاهش داد درحالی که گیاهان تراریخت و بیشتر نمونه‌های محلی فعالیت CAT برگ بالاتری داشتند. یک افزایش قابل توجهی حدود ۹ و ۷ برابر در فعالیت CAT برگ به ترتیب در GM24 و GC8 یافت شد. فعالیت CAT برگ در نمونه‌های محلی کمهر ۱ و مارگون در مقایسه با گیاهان پیش از تنش تا حدود ۱/۸ و ۱/۳ برابر به ترتیب افزایش نشان داد. بالاترین فعالیت CAT ریشه به GM21 متعلق بود (جدول ۲).

جدول ۲. فعالیت‌های CAT برگ گیاهان تراریخت، ناتراریخت و نمونه‌های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و بازیابی و فعالیت CAT ریشه پس از دوهفته بازیابی.

گیاهان تیمار شده	فعالیت CAT برگ (Unit g^{-1} f.w.)			فعالیت CAT ریشه (Unit g^{-1} f.w.)
	پیش از تنش	خشکی	بازیابی	
GW	6.79±0.87	4.74±1.63	*	2.73±0.34
NW	8.77±0.85	2.49±0.48	*	2.03±0.15
NC1	6.07±0.90	26.09±3.04	13.2±2.25	8.16±0.38
NC4	7.32±0.62	30.81±0.44	18.22±7.03	10.07±0.38
NC8	4.87±2.21	25.18±3.71	9.95±2.65	9.93±1.19
NC11	6.66±0.68	25.69±3.34	9.36±1.63	10.23±1.30
NC12	10.96±1.10	23.15±1.01	7.27±1.85	10.93±0.24
NC13	10.46±0.80	27.56±2.29	8.12±1.32	9.70±0.55
NC14	8.02±0.89	37.21±0.87	11.54±0.78	6.83±0.55
GC3	8.32±1.54	24.92±3.06	6.91±1.33	7.93±0.64
GC4	3.10±1.20	33.71±3.26	7.61±0.78	11.07±0.93
GC5	11.12±2.14	24.47±1.66	7.77±1.31	12.28±0.77
GC6	4.94±1.51	23.45±2.43	16.80±2.18	13.87±1.11
GC8	5.43±0.40	46.50±1.60	14.32±0.88	11.90±0.58
GC9	4.72±1.06	20.91±2.82	9.24±2.86	13.93±0.85
GC16	5.89±0.711	30.25±3.52	8.63±1.30	15.43±0.86
NS14	2.54±0.57	31.68±0.84	6.50±1.42	18.10±1.16
NS22	2.44±0.49	35.53±4.45	5.43±0.75	10.59±0.84
GS1	8.88±1.41	25.74±4.47	5.76±1.32	21.31±0.78
GM12	10.66±0.87	47.59±4.15	10.56±1.26	18.17±1.16
GM21	5.99±0.48	38.53±3.05	10.96±0.58	22.13±0.64
GM24	4.67±0.71	47.57±3.65	18.17±2.06	21.37±0.58
Bereshneh1	9.36±1.36	13.76±0.88	4.92±0.31	9.57±4.68
Bereshneh2	9.80±2.38	20.56±1.45	5.31±1.38	6.13±0.27
Chamsohrabkhani	9.61±0.75	22.23±4.27	9.72±1.38	6.33±0.55
Delkhan1	10.10±1.60	19.54±2.70	4.87±0.98	6.33±0.47
Delkhan2	11.54±0.78	11.68±2.19	10.86±0.40	10.15±0.37
Homayjan1	8.32±1.41	19.64±1.63	9.80±1.11	5.05±0.34
Homayjan2	12.03±1.56	20.46±3.64	6.00±1.26	7.35±0.28
Homayjan3	13.05±3.08	13.76±1.80	7.87±0.68	8.17±0.42
Homayjan-Bereshneh	8.32±1.62	17.06±0.35	10.30±1.51	3.88±0.33
Komehr1	8.02±0.64	22.84±0.77	7.06±2.01	15.74±0.63
Komehr2	11.47±1.19	16.85±2.36	12.64±2.81	11.50±0.44
Khosroshirin	15.58±1.45	12.94±3.00	5.39±1.21	6.00±0.35
Margon	11.78±2.34	20.61±0.94	14.31±2.38	9.88±0.49
Pirsabzali	8.90±0.19	13.20±1.79	16.14±0.77	6.63±0.38
Shirmohamadi	5.84±0.97	10.37±1.19	9.71±0.22	6.17±0.35
Sheshpir	10.91±0.40	4.32±0.33	10.60±0.64	9.33±0.30
Tangeh Ardakan	8.63±0.36	12.13±1.66	13.96±2.38	10.66±0.32

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.G: رقم Grassland، N: رقم Numan.

C: گیاهان تولید شده از پینه، M: گیاهان تولید شده از مریستم، S: گیاهان تولید شده از بذر،W: گیاهان ناتراریخت.

فعالیت SOD به طور معنی داری تا ۵۵/۴۴ درصد و ۶۹/۸۵ درصد به ترتیب در گیاهان ناتراریخت 'Grassland' و 'Numan' در مقایسه با مرحله پیش از تنش افزایش یافت. گیاهان تراریخت قادر بودند فعالیت SOD بالاتری نسبت به گیاهان ناتراریخت و نمونه‌های محلی در شرایط تنش خشکی حفظ کنند. در میان گیاهان تراریخت، بیشترین فعالیت SOD متعلق به GC8، GM12 و GM24 بود. به‌طورکلی ریشه‌های گیاهان تراریخت، فعالیت SOD بالاتری نسبت به برگ ها در مرحله پیش از تنش داشتند. بیشترین فعالیت SOD ریشه متعلق به GM12 بود (جدول ۳).

جدول ۳. فعالیت‌های SOD برگ گیاهان تراریخت، ناتراریخت و نمونه‌های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و بازیابی و فعالیت SOD ریشه پس از دوهفته بازیابی.

گیاهان تیمار شده	فعالیت آنزیم SOD برگ (Unit g^{-1}f.w)			فعالیت SOD ریشه
	پیش از تنش	خشکی	بازیابی	(Unit g^{-1} f.w.)
GW	102.57±1.79	45.70±1.44	*	36.53±2.07
NW	99.16±0.726	29.90±3.07	*	29.16±1.71
NC1	109.67±1.80	118.74±0.60	120.81±2.67	142.67±2.60
NC4	106.54±2.50	93.48±5.31	115.24±1.53	135.67±0.88
NC8	99.79±7.17	95.53±6.03	94.26±5.73	137.33±1.76
NC11	117.98±9.51	121.63±5.42	118.63±3.25	131.33±1.76
NC12	89.08±1.35	151.08±1.37	133.20±1.86	163.33±2.91
NC13	109.00±3.46	144.80±2.07	179.33±4.39	123.71±2.47
NC14	109.58±4.18	116.08±1.68	102.87±5.09	171.67±2.33
GC3	96.02±3.85	104.53±1.13	100.03±0.84	154.67±2.40
GC4	102.67±0.57	138.47±4.93	123.34±2.13	135.44±7.24
GC5	98.28±1.35	114.21±5.19	90.67±3.28	152.67±0.88
GC6	105.00±1.93	152.33±3.65	131.16±1.54	142.00±2.65
GC8	97.44±6.58	197.17±1.49	137.38±2.8	161.33±2.73
GC9	107.99±1.94	143.74±3.60	117.25±1.69	162.33±1.20
GC16	108.27±0.58	113.94±2.02	103.41±1.03	136.90±2.93
NS14	103.88±2.16	146.19±0.403	108.67±0.88	153.15±4.87
NS22	110.38±1.82	144.27±7.85	44.13±4.02	125.70±38.90
GS1	100.39±0.72	115.33±2.79	102.90±1.43	151.90±13.10
GM12	98.81±5.71	196.67±4.65	140.16±1.12	173.00±1.73
GM21	100.17±0.79	143.11±6.06	70.57±3.71	169.67±2.91
GM24	108.03±1.6	205.12±2.68	155.63±1.4	164.33±1.45
Bereshneh1	100.54±1.64	77.80±4.22	62.50±1.27	49.00±4.05
Bereshneh2	104.94±2.48	44.80±3.58	51.80±3.46	87.07±2.37
Chamsohrabkhani	101.85±7.63	110.67±1.41	73.03±1.47	105.70±1.82
Delkhan1	106.07±1.34	81.47±1.12	70.07±2.32	98.99±0.76
Delkhan2	111.00±2.08	72.00±3.79	42.00±3.00	96.40±3.48
Homayjan1	87.60±2.58	42.20±2.31	42.07±2.60	112.67±1.45
Homayjan2	97.02±1.79	81.77±1.58	51.47±0.52	108.96±1.47
Homayjan3	95.99±5.56	63.00±2.95	160.00±12	94.90±4.13
Homayjan-Bereshneh	99.22±0.73	74.15±4.87	67.00±1.80	106.00±1.15
Komehr1	106.29±4.32	110.82±1.99	68.83±3.51	122.00±1.53
Komehr2	92.13±3.13	47.40±1.25	30.53±3.43	104.43±1.42
Khosroshirin	112.82±1.02	72.87±2.44	42.27±5.76	107.66±3.77
Margon	101.24±1.13	83.23±0.91	32.73±2.70	115.33±1.86
Pirsabzali	116.87±5.37	73.87±1.92	42.53±2.10	100.50±1.76
Shirmohamadi	100.33±1.73	81.27±1.16	84.67±2.95	111.18±1.40
Sheshpir	109.69±5.07	74.27±1.65	90.33±1.85	105.27±1.98
Tangeh Ardakan	113.33±2.16	39.43±1.77	88.53±1.43	112.00±1.15

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.G: رقم Grassland، N: رقم Numan.

C: گیاهان تولید شده از پینه، M: گیاهان تولید شده از مریستم، S: گیاهان تولید شده از بذر،W: گیاهان ناتراریخت.

فعالیت‌های SOD و CAT در برگ‌های ۳ گونه اروای خزنده در شرایط تنش شدید خشکی، کاهش یافت (DaCosta and Huang, 2007a). فعالیت SODدر برگ‌های فریژکنتاکی و چمانواش بلند[1] افزایش یافت درحالی که CAT و POD به محض خشک شدن سطح خاک کاهش نشان دادند (Fu and Huang, 2001). همبستگی مثبتی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و تحمل به خشکی در گونه‌های مختلف سبزفرش‌ها گزارش شده است، گرچه آنزیم‌های ویژه‌ای که سبب تحمل به خشکی می‌شوند ممکن است در بین گونه‌ها و رقم‌ها متفاوت باشد.

[1].*Festuca arundinacea* Scherb.

بر اساس نتایج پژوهش‌های پیشین، بیان بیش از حد ژن سنتز کننده سایتوکینین، ایزوپنتنیل ترانسفراز (*IPT*)، سبب بالا رفتن سطح سایتوکینین درون‌زا و تحمل به خشکی می‌شود. بیان بیش از حد ژن *IPT* تحت پیشبر SAG12 در اروای خزنده منجر به کاهش قابل‌توجهی در میزان گونه‌های فعال اکسیژن[1] (ROS) در شرایط تنش خشکی شد که با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند SOD، CAT، APX و ردوکتازدهیدرواسکورات (DH) در مقایسه با گیاهان ناتراریخت همراه بود (Xu and Huang, 2017).

پروتئین CAT، در برگ‌های تراریخت IPTاروای خزنده بیشتر بود که منجر به بهبود تحمل به خشکی در این گیاهان در مقایسه با گیاهان ناتراریخت شد (Merewitz *et al*., 2011). در بررسی حاضر، فعالیت‌های CAT و SOD در مقایسه با فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش خشکی به‌ویژه در گیاهان تراریخت بالاتر بودند. فعالیت‌های بالاتر آنزیم‌های CAT و SOD در شرایط تنش خشکی با افزایش در میزان سایتوکاینین‌ها به‌ویژه iPAمرتبط است. در پژوهش دیگری، Hu و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و APX برای چاوی چندساله ناتراریخت پس از ۱۲ روز تنش شوری به طور تدریجی کاهش یافت.

Chang و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند سایتوکینین‌ها می‌تواند فعالیت ایزوآنزیم‌ها را افزایش دهند که با افزایش مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانت‌ها مرتبط است و با کاهش سطح ROS در برگ‌ها، منجر به افزایش تحمل خشکی در گیاهان اروای خزنده شد. سنتز و تجمع ROS در شرایط تنش بیشتر می‌شود که می‌تواند سبب آسیب به غشاهای بیولوژیک و مولکول‌های آلی شود. ROS، فرآورده‌های جانبی فتوسنتز هستند که به سرعت در شرایط تنش تجمع می‌یابند و سبب آسیب عمده اکسیداتیو به غشای سلول، پروتئین‌ها، مولکول های DNA و RNA می‌شوند (Choudhury *et al*., 2017). سایتوکاینین‌ها با مکانیسم‌های مختلف، مانند مهار فعالیت آنزیم‌های تولید شده توسط ROS برای نمونه گزانتین اکسیداز یا افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان برای نمونه، SOD و CAT، تجمع ROS را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Hönig *et al*., 2018; Arnaud *et al*., 2017).

به‌طورکلی، این نتایج نشان داد فعالیت‌های SOD و CAT در بیشتر گیاهان به حالت نرمال پس از ۲ هفته آبیاری دوباره برنگشت، گرچه فعالیت پراکسیداز پس از بازیابی کاهش داشت. به نظر می‌رسد فعالیت‌های CAT و SOD نسبت به فعالیت پراکسیداز در سازگاری به خشکی و بازیابی کاراتر هستند.

منابع

Arnaud D., Lee S., Takebayashi Y., Choi D., Choi J., Sakakibara H., Hwang I. 2017. Cytokinin-mediated regulation of reactive oxygen species homeostasis modulates stomatal immunity in *Arabidopsis*. Plant Cell, 29: 543–559.

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.

Chang, Z., Liu, Y., Dong, H., Teng, K., Han, L., Zhang, X. 2016. Effects of cytokinin and nitrogen on drought tolerance of creeping bentgrass. PLoS One, 11: e0154005.

Choudhury, F.K., Rivero R.M., Blumwald, E., Mittler, R. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. The Plant Journal, 90: 856–867.

DaCosta, M. B. Huang. 2006. Deficit irrigation effects on water use characteristics of bentgrass species. Crop Science, 46: 1779–1786.

Hönig, M., Plíhalová L., Husičková, A., Nisler, J., Doležal, K. 2018. Role of cytokinins in senescence, antioxidant defence and photosynthesis. International Journal of Molecular Sciences, 19: 4045.

Hu, L., Li, H., Pang, H., Fu, J. 2012. Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. Journal of Plant Physiology, 169: 146-156.

Merewitz, E. B., Du, H., Yu, W., Liu, Y., Gianfagna, T., Huang, B. 2011. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. Journal of Experimental Botany, 63: 1315-1328.

Shahidi, R., Yoshida, J., Cougnon, M.; Reheul, D., Van Labeke, M.C. 2017. Morpho-physiological responses to dehydration stress of perennial ryegrass and tall fescue genotypes. Functional Plant Biology, 44: 612–623.

[1]. Reactive Oxygen Species (ROS)

Tatari, M., Fotouhi Ghazvini, R., Mousavi, A., Babaei, G. 2018. Comparison of some physiological aspects of drought stress resistance in two ground cover genus. Journal of Plant Nutrition, 41: 1215–1226.

Xu, Y., Burgess, P., Zhang, X., Huang, B. 2016. Enhancing cytokinin synthesis by overexpressing ipt alleviated drought inhibition of root growth through activating ROS-scavenging systems in Agrostis stolonifera. Journal of experimental botany, 67: 1979-1992.

Xu Y., Huang B. 2017. Transcriptional factors for stress signaling, oxidative protection, and protein modification in *ipt*-transgenic creeping bentgrass exposed to drought stress. Environmental and Experimental Botany, 144: 49–60.

Zhang, J., Kirkham, M. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. New Phytologist, 132: 361-373.

Investigation on antioxidant enzymes in response to drought stress in RD29A-IPT transgenic perennial ryegrass and its local accessions

Somayeh Esmaeili Khuygani[1, 2*], Hassan Salehi[3], Morteza Khosh-Khui[3]
[1*] Former PhD Student in Ornamental Plants, Dept. of Horticultural Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[2] Assistant Prof., Dept. of Horticultural Science, Agriculture College, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Prof., Dept. of Horticultural Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[*]Corresponding Author: s.esmaeili@scu.ac.ir

Abstract

To study the change in antioxidant enzymes in response to drought stress, RD29A-IPT transgenic perennial ryegrass plants with non-transgenic plants and local accessions were evaluated at the Research Greenhouse Horticultural Science Department, School of Agriculture, Shiraz University, Iran. After ten days under drought stress, the plants were clipped and rewatered for two weeks. Antioxidant enzymes such as peroxidase (POD), Catalase (CAT), and superoxide dismutase (SOD) were measured at three stages: before stress, during stress, and after recovery. The results showed that leaf and root CAT and SOD activities were higher than POD activity under stress, especially in transgenic plants. These results suggest that higher SOD and CAT antioxidant enzyme activities under drought stress are associated with increased endogenous CK content, especially isopentenyl adenine (IPA). The results also indicated that CAT and SOD activities in most plants did not back to their normal levels; however, POD activity was decreased after two weeks of rewatering. It appears that CAT and SOD are more active than POD for drought adaptation and recovery.

***Keywords*:** Leaf, Peroxidase, Root, Turfgrass, Superoxide dismutase, Catalase.