

تحمل به سرما و پاسخ آنتی‌اکسیدانی چمن پوآ (*Poa pratensis*) و پاسپالوم (*Paspalum vaginatum*)

شهرام بیژنی^۱، حسن صالحی^۲، ابوالفضل جوکار^{۳*} و بهاره دانشمند^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱۵)

چکیده

یکی از عوامل محدود کننده کشت چمن‌ها در مناطق معتدله، دامنه تحمل سرمایی آنها می‌باشد. به منظور بررسی میزان تحمل به سرما و پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دو گونه چمن در برابر تنش سرما، این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط کنترل شده محیطی گلخانه در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو گونه چمن پوآ (*Poa pratensis*) و چمن پاسپالوم (*Paspalum vaginatum*) و چهار دمای ۲۵، ۱۵، ۵ و -۵ درجه سلسیوس بودند. براساس تجزیه داده‌ها با کاهش دما میزان پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش معنی‌داری داشت، اگرچه در تنش سرمایی -۵ درجه سلسیوس چمن پاسپالوم کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد. هم‌چنین کاهش دما باعث شد تا کیفیت ظاهری، میزان کلروفیل، نشاسته و محتوای آب چمن‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کند. چمن پاسپالوم نسبت به چمن پوآ کاهش شدیدتری در صفات کیفیت ظاهری، میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب سلول‌ها در دمای -۵ درجه سلسیوس نشان داد. براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، چمن پوآ با مکانیسم دفاعی بهتر و کارآمدتری در مقایسه با چمن پاسپالوم با تنش سرما مواجه گردید و در نتیجه به تنش سرما تحمل بیشتری نشان داد.

واژه‌های کلیدی: چمن پوآ، پاسپالوم، تنش سرما، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانش‌آموختگان کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شیراز

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ajowkar@shirazu.ac.ir

مقدمه

میزان تحمل به سرما در چمن‌ها یکی از عوامل محدود کننده کشت این گیاهان در مناطق معتدله می‌باشد. در این مناطق، اغلب وقوع تنش سرما سبب خسارت شدید در گیاهان می‌شود (۲۴). از نظر مقاومت به دماهای پایین در میان گونه‌های چمن اختلاف وجود دارد، به طوری که حداقل دمای قابل تحمل در چمن فلوراتام ۵- درجه سلسیوس می‌باشد (۱۳). این دما در چمن برمودا گراس ۱۷- درجه سلسیوس (۱۷) و در چمن زویسیا ۸- تا ۱۴- درجه سلسیوس می‌باشد (۱۱ و ۳۰). از این رو تعیین آستانه تحمل به سرما و هم‌چنین تعیین گونه‌ای از چمن که دارای مقاومت به دماهای پایین می‌باشد، حائز اهمیت است. در شرایط استرس، برخی مواد در گیاهان به‌طور قابل توجهی زیاد می‌شود (۵). این سازگار کننده‌ها سوخت و ساز گیاه را مختل نمی‌کنند. از جمله این مواد می‌توان به قندها از جمله فروکتوز و ساکاروز و اسیدآمینها مثل پرولین و اکتوتن اشاره کرد (۱۶ و ۲۸). در واقع پرولین به‌عنوان یک محافظت‌کننده شیمیایی باعث پایداری شکل طبیعی پروتئین‌ها شده و از به‌هم خوردن شکل طبیعی ترکیب‌های آنزیمی جلوگیری کرده و تا حدی باعث حفظ شکل غشاء می‌گردد (۱۶). اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه در طی تنش تجمع می‌یابد، ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد. تجمع پرولین در ریشه‌ها با تأخیر زمانی نسبت به تجمع در برگ‌ها صورت می‌گیرد. بررسی‌ها نشان می‌دهد افزایش پرولین در ریشه‌ها ناشی از انتقال آنها از برگ‌ها می‌باشد (۳۱). در تنش دمای پایین به‌علت عدم تعادل بین نور دریافتی و فتوسنتز احتمال وقوع تنش اکسیداتیو به‌علت کاهش ترکیب $NADP^+$ و هم‌چنین انتقال الکترون‌ها از فردوکسین به اکسیژن، افزایش پیدا می‌کند (۳). برخی از گیاهان سازگار به تنش اکسیداتیو ناشی از تنش دمای پایین، از طریق به‌کارگیری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ادامه حیات در شرایط مذکور را بهبود می‌بخشد (۱۸). در این راستا سوپر اکسید دیسموتاز جزء اولین آنزیم‌هایی است که در فرایند خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد دخالت دارد. این آنزیم

رادیکال‌های سوپر اکسید را به فرم پراکسید هیدروژن در می‌آورد (۳۴). به‌دنبال افزایش رادیکال پراکسید هیدروژن آنزیم‌های اکسیدانی دیگر از جمله کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نیز زیاد می‌شود (۴).

این پژوهش با هدف ارزیابی دامنه تحمل سرمایی دو گونه چمن در شرایط کنترل شده گلخانه و هم‌چنین امکان بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارزیابی تحمل به سرما در دو چمن پوآ و پاسپالوم طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تحمل به سرما در دو گونه چمن، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار طراحی گردید. پژوهش در شرایط کنترل شده محیطی گلخانه با میانگین دمای روز ۳۰ و دمای شب ۲۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰٪ در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل دو گونه چمن *Poa pratensis* و *Paspalum vaginatum* و چهار دمای ۵-، ۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سلسیوس بودند. بذور چمن به‌طور یکنواخت در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر کشت و رشد داده شدند. در پایان آزمایش پس از ۸ هفته، شرایط ظاهری گیاهان توسط افراد غیر متخصص با توجه به رنگ، یکنواختی، تراکم و وجود غلف هرز مورد بررسی قرار گرفت. نمرات بین عدد صفر تا ۹ در نظر گرفته شدند، به این ترتیب که عدد صفر به‌عنوان بدترین و عدد ۹ به‌عنوان بهترین چمن گزارش شدند. برای اندازه‌گیری شاخص کلروفیل به روش اسپکتروفتومتری، از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل WPA ساخت کشور انگلستان استفاده گردید. برای اندازه‌گیری قند از روش فنل - اسید سولفوریک استفاده گردید. پس از استخراج قندها، میزان جذب نور در طول موج ۴۹۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و از محلول گلوکز در غلظت‌های مختلف برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید (برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک) (۱۰). میزان نشاسته با

استفاده از روش مک کردی و همکاران (۲۲) اندازه‌گیری شد و براساس میلی گرم در گرم وزن خشک گزارش گردید. به این ترتیب که پس از انتقال محلول‌های استخراج شده به حمام یخ جذب نور به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. غلظت نشاسته با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز و ضرب آنها در عدد ۰/۹۲ به دست آمد. برای اندازه‌گیری غلظت پرولین از روش بیتس و همکاران (۶) استفاده شد. براساس این روش ۰/۵ گرم بافت گیاه در ۱۰ میلی لیتر محلول آبی اسید سولفوسالسیلیک ۰/۳ ساییده شد و از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد. سپس به نمونه‌ها ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در حمام بن ماری ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس به مدت ۲۰ - ۱۰ دقیقه در حمام یخ قرار داده شد. سپس به هر نمونه ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه گردید. بعد از قرار دادن لوله‌ها در محیط آزمایشگاه دو فاز تشکیل می‌شود، از فاز رویی برای تعیین غلظت پرولین با توجه به منحنی استاندارد پرولین در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد پرولین از غلظت‌های ۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ال - پرولین استفاده گردید و از تولوئن نیز به عنوان شاهد (سطح صفر) استفاده شد و با توجه به مقادیر جذب نوری و غلظت‌های محلول ذخیره، منحنی استاندارد رسم گردید. برای محاسبه پرولین از رابطه زیر استفاده شد:

$$\text{Proline}(\mu\text{M g}^{-1}\text{fresh wt.}) = \frac{M \times T \times V}{115.5} \times 1000$$

که در آن: M = عدد خوانده شده با دستگاه اسپکتروفتومتر، W = وزن نمونه برگگی مورد استفاده بر حسب گرم و T = حجم تولوئن مورد استفاده بر حسب میلی لیتر بود.

به منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از روش بیچامپ و فریدوویچ (۷ و ۲۱) استفاده شد. اندازه‌گیری براساس توانایی آنزیم SOD در جلوگیری از احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) توسط رادیکال‌های سوپراکسید در حضور ریبوفلاوین در نور صورت

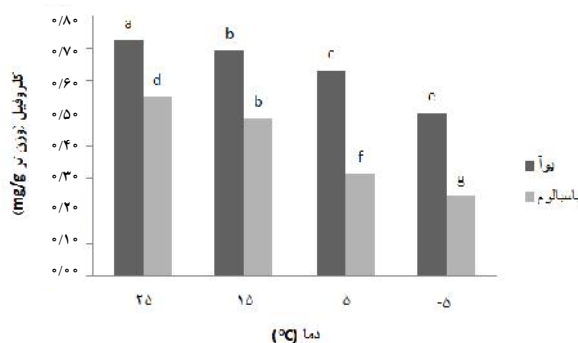
می‌گیرد. براساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی لیتر محلول اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز که شامل ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH = ۷/۸)، ۷۵ میکرومولار NBT، ۱۳ میلی مولار ال - متیونین، ۰/۱ میلی مولار EDTA و ۲ میکرومولار ریبوفلاوین است، آمیخته شد. برای انجام واکنش این آمیخته به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نور قرار گرفت. سپس محلول حاصل در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شده و میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد (Ug⁻¹ FW). به منظور اندازه‌گیری میزان غلظت کمی آنزیم کاتالاز (CAT) از روش دهنندا (۹) استفاده شد. براساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH = ۷) و ۱۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن است، آمیخته شد. سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه یک میلی مولار پراکسید هیدروژن در یک دقیقه است (Ug⁻¹ FW). برای اندازه‌گیری غلظت کمی آنزیم پراکسیداز (POD) از روش چانس و ماهلی (۸) استفاده گردید. اندازه‌گیری براساس میزان اکسید شدن گویکول توسط آنزیم صورت می‌گیرد. در این روش با اضافه کردن بافر فسفات - سیترات و گویکول به محلول استخراج و سپس قرائت جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۳۶ نانومتر به مدت ۲ دقیقه و در فواصل ۱۰ ثانیه منحنی فعالیت آنزیم رسم گردید. فعالیت پراکسیداز با تغییر رنگ محلول از نارنجی به قرمز مشخص می‌گردد. مقدار آنزیمی که در مدت زمان یک دقیقه یک میکرومول سوبسترا (گویکول) را به محصول تبدیل کند برای تعیین واحد فعالیت آنزیم استفاده می‌شود. به منظور اندازه‌گیری غلظت کمی آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش ناکانو و آسادا (۲۷) استفاده شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج با یک میلی لیتر محلول اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز مخلوط گردید. سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر دما بر واکنش بیوشیمیایی چمن پوا و پاسپالوم تحت تنش دمایی پایین

| میانگین مربعات | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------------|-------|------------------|---------------|---------------|
| کاتالز | پراکسیداز | آسکوربات | پراکسیداز | سوپراکسید | دیسموتاز | محتوای آ. سولول | نشاسته | پروکلین | قند | خصوصیات میبازان | ظاهری | کلروفیل | درجه آزادی | منابع تغییرات |
| رقم | ۵/۴۵۸۷۹** | ۰/۰۳۷۵۳** | ۱/۲۷۷۸۹** | ۱/۵۰۴** | ۱۸۱/۵** | ۰/۰۹۵۰۰** | ۶/۹۰۱۵ ^{ns} | ۱۹/۶۵۶۶** | ۲۶/۰۴۱۷** | ۰/۳۳۲۸** | ۱ | رقم | منابع تغییرات | |
| دما | ۰/۱۸۹۷۶** | ۰/۰۰۴۳۸** | ۰/۱۲۴۵۲** | ۳/۵۱۴** | ۱۱۶/۱۶۷** | ۰/۳۵۴۱۵** | ۶۲/۷۹۳۴* | ۰/۹۰۲۸** | ۲۵/۱۵۲۸** | ۰/۰۸۳۷۴** | ۳ | دما | منابع تغییرات | |
| رقم × دما | ۰/۲۹۵۷۰** | ۰/۰۱۹۴۸** | ۰/۰۵۹۳۲** | ۳/۹۹۴** | ۳۴/۸۳۳** | ۰/۰۰۳۸۲ ^{ns} | ۰/۵۲۰۴ ^{ns} | ۰/۷۱۲۸** | ۹/۵۹۷۲** | ۰/۰۰۵۷۹** | ۳ | رقم × دما | منابع تغییرات | |
| خطا | ۰/۰۰۹۸۱ | ۰/۰۰۰۴۲ | ۰/۰۰۰۷۵ | ۱/۰۰۹۶ | ۴/۳۷۵ | ۰/۰۰۰۳۲ | ۱۱/۱۷۲۰ | ۰/۰۲۲۶ | ۰/۳۳۳۳ | ۰/۰۰۰۳۲ | ۱۶ | خطا | منابع تغییرات | |
| ضریب تغییرات (%) | ۵/۶۴ | ۶/۶۶ | ۵/۵ | ۷/۴۲ | ۲/۴ | ۴/۱۱ | ۴۰/۳۷ | ۷/۳۷ | ۷/۸۳ | ۳/۴۴ | | ضریب تغییرات (%) | | |

ns: عدم وجود تفاوت معنی دار * : تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ ** : تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱٪

کرده و با داشتن فتوسنتز و انرژی بیشتر باعث افزایش تحمل نسبت به تنش سرما می‌شود. در زمان تنش سرما انتقال الکترون به گیرنده اصلی آن (NADP⁺) مختل گردیده، در نتیجه الکترون به اکسیژن منتقل می‌شود. در این زمان بالا بودن کلروفیل باعث افزایش ترکیبات اکسیژن‌دار فعال (ROS) می‌گردد، که این ترکیبات بسیار واکنش‌گر بوده و برای سلول اثرات سمی دارد و هم‌چنین باعث تخریب کلروپلاست می‌شود. یکی از راهکارهای مقابله گیاهان افزایش سنتز کلروفیل است که به دنبال آن باعث کاهش در میزان کلروفیل می‌گردد (۱). با توجه به شکل ۲ با کاهش دما، کیفیت ظاهری گیاهان کاهش معنی‌داری پیدا کرد. به طوری که این کاهش در چمن پاسپالوم، در دمای ۵ درجه سلسیوس از بقیه تیمارها به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. با توجه به کاهش کلروفیل در دماهای پایین‌تر و هم‌چنین مکانیسم دفاعی کاراتر چمن پوا در مقابله با کاهش کلروفیل کاهش کیفیت ظاهری در چمن پاسپالوم قابل توجیه است (جدول ۳). هم‌چنین نتایج قربانی و همکاران (۱۴) در کاهش میزان کلروفیل در دو رقم برنج اواندا و طارم سیاه در مواجهه با تنش سرما با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد. با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ افزایش معنی‌داری در میزان قند و پرولین مشاهده شد. بیشترین میزان قندهای محلول در چمن پوا و در دمای ۵- درجه سلسیوس مشاهده گردید که نسبت به شاهد (۲۵°C) ۴۲/۲۳ درصد افزایش داشت. به همین ترتیب بیشترین میزان پرولین در همین تیمار مشاهده شد که نسبت به



شکل ۱. اثرات متقابل رقم و دما بر میزان کلروفیل. حروف مشابه، سطح معنی‌دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می‌دهد.

اسپکتروفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار اسید آسکوربیک در یک دقیقه است. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Statistix 9 و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون LSD ($P < 0.05$) انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) و همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده، میزان کلروفیل با کاهش دما کاهش معنی‌داری پیدا کرد. میزان کاهش در چمن پوا نسبت به شاهد ۳۰/۸۷ درصد و در چمن پاسپالوم ۵۵/۱۴ درصد بود. به نظر می‌رسد چمن پوا در مواجهه شدن با استرس با مکانیسم دفاعی کاراتری نسبت به چمن پاسپالوم از اثرات منفی سرما جلوگیری

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر دما بر واکنش بیوشیمیایی چمن پوآ و پاسپالوم تحت تنش دمایی پایین

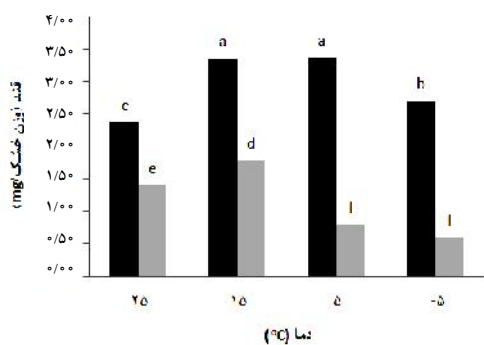
| کاتالاز (وزن تر IU/mg) | پراکسیداز (وزن تر IU/mg) | آسکوربات پراکسیداز (وزن تر IU/mg) | سوپراکسید دیسموتاز (وزن تر IU/mg) | محتوای آب سلول (%) | نشاسته (وزن خشک mg/g) | پروترین (وزن تر μM) | قند (وزن خشک mg/g) | خصوصیات ظاهری | کلروفیل (وزن تر mg/g) | تیمار دمایی |
|---------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|-----------------|
| ۱/۷۵۱ ^b | ۰/۲۸۲۷ ^c | ۱/۴۱۰۰ ^c | ۰/۱۰۷۵ ^c | ۹۱/۱۶۷ ^a | ۱/۶۵۶۷ ^a | ۴/۹۳۳ ^c | ۱/۸۱۰۲ ^c | ۹/۰۰۰۰ ^a | ۰/۶۳۶۷ ^a | ۲۵ ^c |
| ۱/۸۴۸۱ ^{ab} | ۰/۳۰۸۳ ^b | ۱/۵۸۶۷ ^b | ۰/۱۴۰۳ ^b | ۹۰/۱۶۷ ^a | ۱/۴۷۵۰ ^b | ۶/۴۵۷ ^{bc} | ۱/۶۴۲۸ ^d | ۸/۶۶۶۷ ^a | ۰/۵۸۶۷ ^b | ۱۵ ^c |
| ۱/۹۱۶۰ ^a | ۰/۳۴۵۵ ^a | ۱/۷۵۹۸ ^a | ۰/۱۶۲۷ ^a | ۸۶/۱۶۷ ^b | ۱/۲۷۸۳ ^c | ۹/۵۳۳ ^{ab} | ۲/۰۷۴۰ ^b | ۷/۳۳۳۳ ^b | ۰/۴۷۱۷ ^c | ۵ ^c |
| ۱/۵۰۹۵ ^c | ۰/۲۹۶۰ ^{bc} | ۱/۵۴۷۸ ^b | ۰/۱۵۳۸ ^a | ۸۱/۵۰۰ ^c | ۱/۰۶۱۷ ^d | ۱۲/۱۹۳ ^a | ۲/۵۵۶۷ ^a | ۴/۵۰۰۰ ^c | ۰/۳۷۳۳ ^d | -۵ ^c |

در هر ستون، حروف یکسان سطح معنی دار مشابهی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

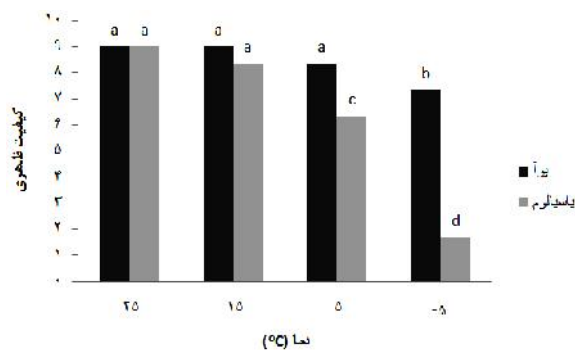
جدول ۳. مقایسه میانگین اثر رقم بر واکنش بیوشیمیایی چمن پوآ و پاسپالوم تحت تنش دمایی پایین

| کاتالاز (وزن تر IU/mg) | پراکسیداز (وزن تر IU/mg) | آسکوربات (وزن تر IU/mg) | سوپراکسید (وزن تر IU/mg) | دیسموتاز (وزن تر IU/mg) | محتوای آب سلول (%) | نشاسته (وزن خشک mg/g) | پروترین (وزن تر μM) | قند (وزن خشک mg/g) | خصوصیات ظاهری | کلروفیل (وزن تر mg/g) | رقم |
|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|----------|
| ۱/۲۷۹۳ ^b | ۰/۲۶۶۸ ^b | ۱/۳۴۵۳ ^b | ۰/۱۴۹۰ ^a | ۹۰ ^a | ۱/۴۲۲۵ ^a | ۸/۸۱۵ ^a | ۲/۹۴۳۴ ^a | ۸/۴۱۶۷ ^a | ۰/۶۳۵۸ ^a | ۰/۶۳۵۸ ^a | پوآ |
| ۲/۲۳۳۱ ^a | ۰/۳۴۷۷ ^a | ۱/۸۰۶۸ ^a | ۰/۱۳۳۲ ^b | ۸۴/۵ ^b | ۱/۳۱۳۳ ^b | ۷/۷۴۲۵ ^b | ۱/۱۳۳۴ ^b | ۶/۳۳۳۳ ^b | ۰/۳۹۸۳ ^b | ۰/۳۹۸۳ ^b | پاسپالوم |

در هر ستون، حروف یکسان سطح معنی دار مشابهی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.



شکل ۳. اثرات متقابل رقم و دما بر میزان قند. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

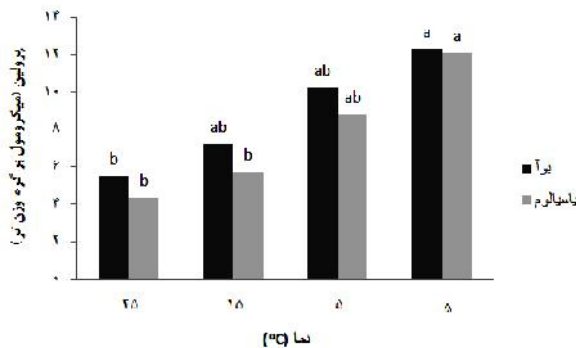


شکل ۴. اثرات متقابل رقم و دما بر کیفیت ظاهری. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

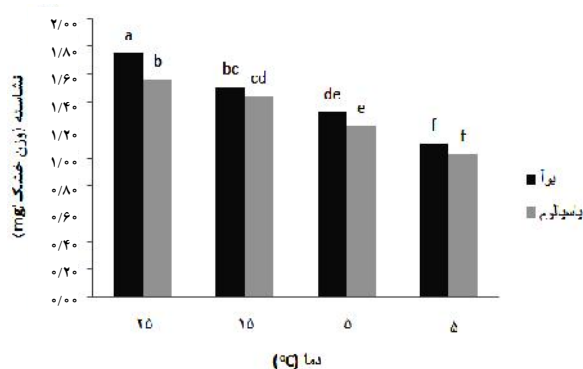
جلوگیری می کند (۲ و ۲۰ و ۲۵). به طور کلی افزایش محتوای قند برگ را می توان به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مناسب برای مقاومت به سرما در نظر گرفت (۱۵ و ۱۹). به منظور حفظ یکپارچگی غشاء، پروترین به عنوان یک ماده حفاظت کننده با برهمکنش آنزیمها از دناتوره شدن پروتئینها جلوگیری کرده و

شاهد ۱۲۲/۳۲ درصد افزایش نشان داد. گیاهان در مقابله با سرما مکانیسمهای دفاعی مختلفی دارند، که یکی از آنها تجمع بعضی ترکیبات از قبیل قندها و اسیدهای آمینه می باشد. افزایش این مواد باعث حفظ فشار اسمزی می گردد و هم چنین باعث تثبیت ساختار پروتئین می گردد و از تخریب دیواره سلولی

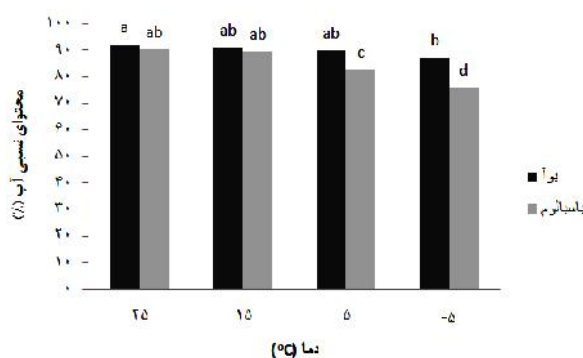
در چمن پوآ و پاسپالوم در دمای ۵- درجه سلسیوس نسبت به شاهد به ترتیب ۳۷/۱۴ و ۳۴/۵۴ درصد بود. میزان نشاسته در شرایط تنش در تحقیقی که مان و همکاران (۲۵) انجام دادند کاهش پیدا کرده بود. آنها علت این کاهش را تبدیل نشاسته به قندهای محلول عنوان کردند. همچنین آنها بیان کردند که تغییر قندهای محلول حساسیت بیشتری نسبت به تغییرات نشاسته دارد. این نتایج با گزارش پروایز و همکاران (۲۹) همسویی دارد. با توجه به شکل ۶ میزان محتوای نسبی آب سلول با کاهش دما کاهش معنی داری پیدا کرد. این کاهش در چمن پوآ و پاسپالوم در دمای ۵- درجه سلسیوس نسبت به شاهد به ترتیب ۵/۰۷ و ۱۶/۲۳ بود. با توجه به تجمع قندها و سایر مواد به منظور افزایش فشار اسمزی این کاهش قابل توجیه می باشد. به طور کلی کاهش مقدار آب در گیاه احتمال تشکیل یخ و خسارات ناشی از آن را کاهش می دهد. یکی از اولین رخدادهای مقاوم سازی غلات پاییزه در برابر سرما کاهش نسبت آب بافت به وزن خشک می باشد (۲۳ و ۲۵). با توجه به نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) از نظر دما بیشترین و کمترین میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به ترتیب با میانگین فعالیت ۰/۱۶۲۷ و ۰/۱۰۷۵ واحد آنزیمی در یک گرم برگ در دمای ۵ درجه سلسیوس و شاهد (۲۵°C) مشاهده شد. همچنین در برهمکنش اثر دما و جنس بیشترین میزان فعالیت آنزیم در چمن پوآ و دمای ۵- درجه سلسیوس مشاهده شد که نسبت به شاهد معنی دار بود و ۱۰۱/۴ درصد افزایش نشان داد (شکل ۷). کاهش دما باعث افزایش رادیکال اکسیژن دار مانند رادیکال سوپراکسید می گردد که به دنبال آن فعالیت آنزیم نیز افزایش می یابد. این آنزیم رادیکال های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می کند و در این راستا باعث افزایش فعالیت سایر آنزیم های اکسیدانی می گردد (۴). بر طبق نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین (جدول ۲) از نظر دما بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با میانگین فعالیت ۱/۷۵۹۸ و ۱/۴۱ واحد آنزیمی در یک گرم برگ گیاه در دمای ۵ درجه سلسیوس و شاهد (۲۵°C) مشاهده شد. با توجه به



شکل ۴. اثرات متقابل رقم و دما بر میزان پرولین. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

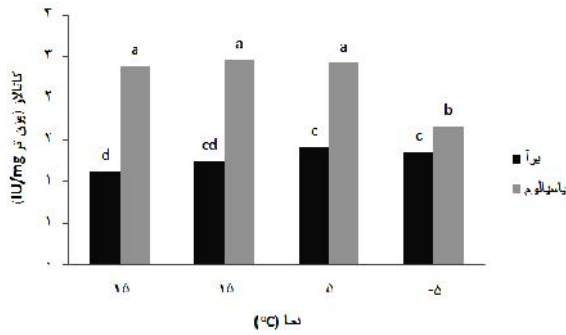


شکل ۵. اثرات متقابل رقم و دما بر میزان نشاسته. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.



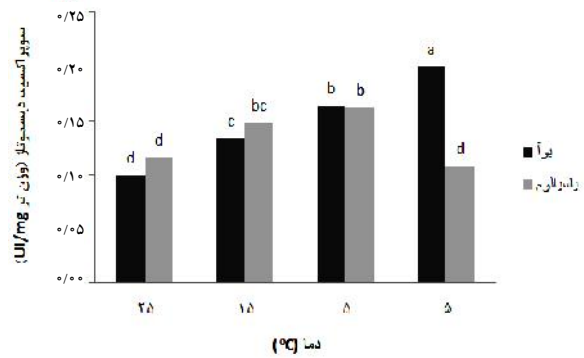
شکل ۶. اثرات متقابل رقم و دما بر محتوای نسبی آب حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

به دنبال آن از تخریب غشاء جلوگیری می کند (۲۶ و ۳۲). با توجه به شکل ۵ مشاهده می شود که میزان نشاسته به طور معنی داری در هر دو جنس چمن کاهش یافته است. این کاهش

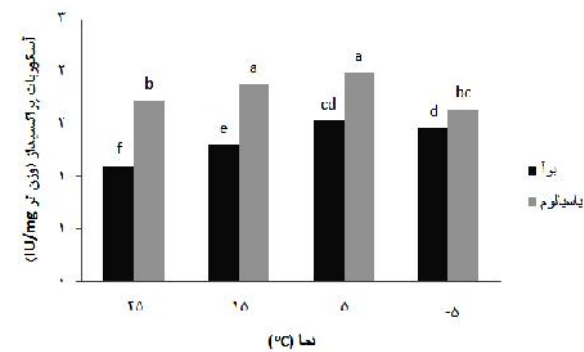


شکل ۶. اثرات متقابل رقم و دما بر فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

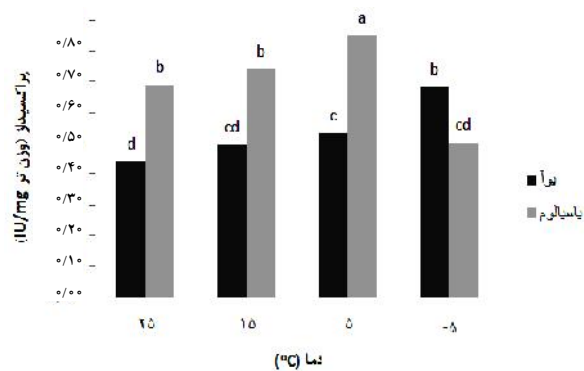
فعالیت آنزیم میگردهد. این آنزیم رادیکال فعال پراکسید هیدروژن را متابولیزه و خنثی می کند (۳۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که از نظر دما (جدول ۲) بیشترین و کمترین میزان فعالیت پراکسیداز به ترتیب با میانگین فعالیت ۰/۳۴۵۵ و ۰/۸۲۷ واحد آنزیمی در یک گرم برگ در دمای ۵ درجه سلسیوس و شاهد (۲۵°C) مشاهده شد. در برهمکنش اثر دما و جنس بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در دمای ۵ درجه سلسیوس و چمن پاسپالوم مشاهده گردید (شکل ۹). آنزیم پراکسیداز، اکسیداسیون بین رادیکال پراکسید هیدروژن و احیاء کننده ها را کاتالیز می کند. آنها معمولاً از سوبسترای فنلی برای حذف پراکسید هیدروژن استفاده می کنند. به همین دلیل جزء تنش های محیطی و اکسیداتیو محسوب می گردند (۱۸). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از نظر دما به ترتیب با میانگین فعالیت ۱/۹۱۶ و ۱/۵۰۹۵ واحد آنزیمی در یک گرم برگ در دمای ۵ درجه سلسیوس و -۵ درجه سلسیوس مشاهده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در جنس پوآ در دمای ۵ درجه سلسیوس نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت. اگرچه تغییر معنی داری در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در چمن پاسپالوم در دماهای پایین مشاهده نشد، به طور کلی فعالیت آنزیم کاتالاز در چمن پاسپالوم بیشتر از پوآ بود (شکل ۱۰). اسفندیاری و همکاران (۱۲) در پژوهشی در مورد اثر شوری روی فعالیت



شکل ۷. اثرات متقابل رقم و دما بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.



شکل ۸. اثرات متقابل رقم و دما بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.



شکل ۹. اثرات متقابل رقم و دما بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف مشابه، سطح معنی دار یکسانی را توسط آزمون LSD نشان می دهد.

شکل ۸ در برهمکنش اثر دما و جنس، بیشترین میزان فعالیت آنزیم در دمای ۵ درجه سلسیوس و چمن پاسپالوم مشاهده شد که نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت. کاهش دما باعث افزایش رادیکال فعال پراکسید هیدروژن و به دنبال آن افزایش

نتیجه گیری

بررسی نتایج کلی به دست آمده نشان می دهد که تغییرات فیزیولوژی به وقوع پیوسته در هر دو جنس در راستای حفظ عملکرد گیاه می باشد. به نظر می رسد چمن پوآ از مکانیسم دفاعی کاراتر و بهتری در مقایسه با چمن پاسپالوم برخوردار باشد.

آنتی اکسیدانته دو رقم جو (الوند رقم حساس و سرداری رقم مقاوم) بیان کردند با افزایش شوری آنزیم کاتالاز هر دو رقم افزایش پیدا می کند ولی در رقم مقاوم (سرداری) این افزایش ۳ تا ۵ برابر بیشتر از شاهد شده بود که باعث حفظ سلول ها در مقابل رادیکال های آزاد می شود. هم چنین این نتایج با یافته های مان و همکاران (۲۵) درباره تغییرهای فیزیولوژیک وابسته به تنش شوری همسو است.

منابع مورد استفاده

- Adeniyi, O. T., S. O. Akparobi and I. J. Ekanayake. 2004. Field studies on chlorophyll a fluorescence for low temperature tolerance testing of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Food, Agriculture and Environment* 2(1): 166-170.
- Alia, P. and P. Saradhi. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology* 138: 554-558.
- Allen, D. J. and D. R. Ort. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science* 6(1):36-41.
- Arora, A., R. K. Sairam and G. C. Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science* 82(10):1227-1238.
- Atal, C. K. and B. M. Kapur. 1982. Cultivation and Utilization of Medicinal Plants. Regional Research Laboratory, Jammu - Tawi.
- Bates, L. S., R. P. Waldern and I. D. Teave. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-107.
- Beauchamp, C. and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutases: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44(1): 276-287.
- Chance, B. and A. C. Maehly. 1995. Assay of catalase and peroxidase. PP. 764-765, In: S. P. Culowic and N. O. Kaplan (Eds.), *Methods in Enzymology*. Vol. 2. Academic Press, New York.
- Dhindsa, R. S., P. Plumb-Dhindsa and T. A. Thorpe. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- Dubois, M., K. A. Gille, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350- 356.
- Dunn, J. H., S. S. Bughrara, M. R. Warmund and B. F. Fresenburg. 1999. Low temperature tolerance of zoysia grasses. *HortScience* 34: 96-99.
- Esfandiari, E., M. R. Shakiba, S. A. Mahboob, H. Alyari and M. Baradaran Firozabadi. 2009. Effect of water stress on antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation of wheat seedlings. *Journal of Sustainable Agriculture and Production Science* 19(2): 129-138. (In Farsi).
- Fry, J. D., N. S. Lang and R. G. P. Clifton. 1991. Freezing resistance and carbohydrate composition of 'Floritam' St. Augustinegrass. *HortScience* 26: 1537-1539.
- Ghorbani, A., F. Zarrinkamar and A. Fallah. 2009. The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of two rice varieties in seedling stage. *Journal of Crop Breeding* 1(3): 50-66. (In Farsi).
- Griffith, M. and M. W. F. Yaish. 2004. Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends in Plant Science* 9: 399-405.
- Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J. K. Zhu and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463-499.
- Ibitayo, O. O., J. D. Butler and M. J. Burke. 1981. Cold hardiness of bermudagrass and *Paspalum vaginatum* Sw. *HortScience* 16: 683-384.
- Jafari, R., K. M. Kalantari and E. Ahmadi Mousavi. 2007. The role of paclobutrazol on accumulation of antioxidants in tomato seedlings (*Lycopersicum esculentom* L.) under cold stress. *Iranian Journal of Biology* 20(3): 206-216. (In Farsi).
- Kerepesi, I., E. Bányai-Stefanovits and G. Galiba. 2004. Cold acclimation and abscisic acid induced alterations in

- carbohydrate content in calli of wheat genotypes differing in frost tolerance. *Plant Physiology* 161: 131-133.
20. Leon, P. and J. Sheen. 2003. Sugar and hormone connections. *Trends in Plant Science* 8: 110-116.
21. Longxing, H., H. Zehui, L. Shuqian and F. Jinmin. 2012. Growth response and gene expression in antioxidant-related enzymes in two bermudagrass genotypes differing in salt tolerance. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 137(3): 134-143.
22. McCready, R. M., J. Guggolz, V. Silveira and H. S. Owens. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. *Analytical Chemistry* 22: 1156-1158.
23. Metcalf, E. L., C. E. Cress, R. C. Plien and E. H. Everson. 1970. Relationship between crown moisture content and killing temperature for three wheat and three barley cultivars. *Crop Science* 10: 362-365.
24. Mianabadi, A., M. Mousavi- Baygi, H. Sanai Nejad and A. Nezami. 2009. Assessment and mapping of early autumn, late spring and winter freezing in Khorasan Razavi province using GIS. *Journal of Water and Soil* 23(1): 79-90. (In Farsi).
25. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25: 239-250.
26. Naidu, B. and G. Thusitha. 2005. Increasing cold tolerance in rice by selecting for high polyamine and gibberellic acid content. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 793-800.
27. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
28. Orcutt, D. M. and E. T. Nilsen. 2000. *The Physiology of Plants under Stress, Soil and Biotic Factors*. John Wiley, New York.
29. Parvaiz, A. and S. Satyawati. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – A review. *Plant, Soil and Environment* 54: 89-99.
30. Rogers, R. A., J. H. Dunn and C. J. Nelson. 1977. Photosynthesis and cold hardening in zoysia and bermudagrass. *Crop Science* 17:727-732.
31. Sharifabad, H. H. 2000. *Plant, drought and drought periods*. 1st Edition. The Publication of Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran. (In Farsi).
32. Sivakumar, P., P. Sharmila, Y. Pardha and P. Saradhi. 2000. Proline Alleviates salt stress induced enhancement in the activity of ribulose-1, 5-bisphosphate oxygenase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 279: 512- 515.
33. Tajvar, Y., R. Fotouhi Ghazvini, Y. Hamidoghli and R. H. Sajedi. 2012. The effects of rootstock and low temperature on antioxidant reactions of clementine [(*Citrus reticulata* × *C. paradise*) × (*C. clementina*)]. *Journal of Horticulture Science* 26(3): 321-326. (In Farsi).
34. Wu, Q. S., Y. N. Zou and R. X. Xia. 2006. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *European Journal of Soil Biology* 42:166-172.