

مطالعه واکنش های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چمن *Poa pratensis* L. رقم 'Barimpala' تحت تنش خشکی

مریم تاتاری^{۱*}، رضا فتوحی قزوینی^۲، نعمت الله اعتمادی^۳، علی محمد احمدی^۴ و اصغر موسوی^۵
^۱، دانشجوی سابق دکتری و استاد دانشگاه گیلان، ^۲، استادیار دانشگاه صنعتی اصفهان، ^۳، استادیار دانشگاه
شهر کرد، ^۴، استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهر کرد
(تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۳ - تاریخ: ۹۱/۷/۳۰)

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم ترین عواملی است که رشد و کیفیت چمن را کاهش می دهد. به منظور مطالعه واکنش های چمن *Poa pratensis* رقم 'Barimpala' تحت دوره های زمانی تنش خشکی، بذور این چمن در گلدان های استوانه ای به طول ۶۰ سانتی متر و به قطر ۱۵ سانتی متر در فضای آزاد کاشت شدند و آبیاری به نحوی انجام شد که آب به آرامی از انتهای زهکش گلدان خارج شود. پس از استقرار کامل گیاهان، آبیاری قطع گردید تا بیشتر گلدان ها به حدود ۸۰ درصد خشکیدگی برسند. پس از آن آبیاری مجدد انجام شد. کلیه صفات مورد ارزیابی با فواصل پنج روزه اندازه گیری شدند. تنش خشکی رشد شاخصاره، ارتفاع رشد، کیفیت ظاهری و میزان کلروفیل برگ را کاهش داد، درحالیکه با طولانی شدن تنش، نشت یونی (EL)، درصد خشکیدگی و میزان پرولین افزایش پیدا کرد. با انجام آبیاری مجدد، درصد خشکیدگی کاهش یافته و پس از گذشت ۱۱ روز مشابه گیاهان شاهد شد. در گیاهان در معرض تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ (RWC) از روز ۵ به بعد کاهش یافت. تنش اکسایشی منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپید شد. تیمار آبیاری بر طول و وزن خشک ریشه اثر معنی داری نداشت. 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: *Poa pratensis*، Barimpala، خشکی، آنتی اکسیدان، پراکسیداسیون لیپید، پرولین

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 (Pessarakli, 2007). افزایش نشت یونی نشان دهنده

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

خشکی فعالیت SOD و CAT را کاهش داده و پراکسیداسیون چربی ها را در برگ های سه گونه (DaCosta & Huang, 2007) Bentgrass افزایش داد (Fu & Bentgrass, 2007). در برگ های *Poa pratensis L.* و *Festuca arundinacea* Schreb. با طولانی شدن خشکی سطح خاک، فعالیت SOD افزایش یافته و فعالیت CAT و POD ثابت ماند. با طولانی شدن دوره تنفس و خشکی کامل خاک فعالیت این سه آنزیم کاهش یافت. تنفس خشکی اثری روی *Poa pratensis L.* SOD برگ (Fu & Bentgrass, 2007) نداشت (Huang, 2001). پرولین غیر از اسمولیت بودن، به عنوان یک آنتیاکسیدانت قوی قابل ملاحظه است، بنابراین می توان پرولین را به عنوان یک آنتیاکسیدانت غیر آنزیمی برای دفع اثرات ROS به شمار آورده (Gill & Gill, 2010). *Poa pratensis L.* (Tuteja, 2010) باریک برگان زیبا، مقاوم و پایدار به طور گسترده در سراسر دنیا به خصوص در مناطقی با اقلیم سرد مورد استفاده قرار می گیرد و دارای قدرت ترمیمی و تکثیر بسیار مناسب می باشد.

این گیاه در عین حال که در برابر سرما مقاومت نسبی داشته و در طول زمستان رنگ سبز خود را حفظ می کند، تا گرمای ۴۰ درجه سلسیوس را نیز تحمل می کند و به سایه نیز تا حدودی مقاوم است و قدرت پاخوری خوبی نیز دارد (Kafi & Kaviani, 2003). *Poa pratensis L.* Barimpala' یکی از ارقام *Poa pratensis L.* است که به سرعت استقرار پیدا می کند. در دامنه وسیعی از دما به سرعت جوانه زده و مستقر می شود. به گرما و خشکی متحمل بوده و قدرت پاخوری بالایی دارد. به زنگ طوقه، لکه برگی و آنتراکنوز متحمل بوده و قدرت ترمیم بالایی دارد (Roohollahi et al., 2010). تنفس خشکی عامل اصلی محدود کننده کیفیت، ماندگاری و تولید چمن است. مدیریت مناسب و درک پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چمن در شرایط تنفس خشکی نقش مهمی در به حداقل رساندن مشکلات چمن کاری در نواحی خشک و نیمه خشک دارد. از طرف دیگر ارقام *Poa pratensis L.* یکی از اجزای مهم تشکیل دهنده بذور چمن های مخلوط می باشند. بر این اساس هدف پژوهش حاضر شناسایی سازوکار مقاومت و میزان تحمل

بروز آسیب غشایی است. مالون دی آلدھاید (MDA^۱) محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپیدها بوده و باعث ایجاد آسیب به غشای سلولی می شود.

از MDA به عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون لیپید استفاده می شود (Jinrong et al., 2008). با طولانی شدن تنفس خشکی و شدت از دست دهی آب (RWC^۲) کمتر از ۴۰ درصد) پراکسیداسیون لیپید برگ در *Agrostis capillaries L.* گونه های *Agrostis canina L.* و *stolonifera L.* افزایش یافت (DaCosta & Huang, 2007). تنفس خشکی تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS^۳) شامل سوپراکسید (O₂⁻، اکسیژن منفرد (O₂[•])، هیدروکسیل (OH⁻) و پراکسید هیدروژن (H₂O₂) 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^۴) O₂⁻ را به H₂O₂ تبدیل می کند (Bian & Jiang, 2009). پراکسیداز (POD^۵) با استفاده از سوبستراهای مختلف پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل می کند (Mittler, 2002). کاتالاز (CAT^۶) پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می کند (Mittler, 2002). آسکوربات پراکسیداز (APX^۷) برای احیای پراکسید هیدروژن به آب از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون استفاده می کند. گلوتاتیون پراکسیداز (GPX^۸) با استفاده از گلوتاتیون، پراکسیدها را به الكل تبدیل می کند (Mittler, 2002). عدم تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیژن و توانایی گیاه برای سمت زدایی این گونه ها باعث آسیب به گیاه شده و تنفس اکسایشی را به دنبال دارد (Arghavani et al., 2010). طولانی شدن تنفس

-
1. Malondialdehyde
 - 2 . Relative water content
 - 3 . Reactive oxygen species
 - 4 . Singlet oxygen
 - 5 . Superoxide dismutase
 - 6 . Peroxidase
 - 7 . Catalase
 - 8 . Ascorbate peroxidase
 - 9 . Glutathione peroxidase

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک مورد استفاده به عنوان بستر

کشت

نیتروژن کل (درصد) گرم در کیلوگرم)	پتاسیم (میلی گرم در کیلوگرم)	فسفر (میلی گرم در کیلوگرم)	ظرفیت زراعی آلی (درصد)	مواد آبی (درصد)	pH	هدایت الکتریکی (درصد)	شن (درصد)	سیلت (درصد)	رس (درصد)
۰/۰۷۲	۴۶۸/۷	۱۰/۸	۲۷/۴۱	۰/۹۸۶	۷/۲	۱/۶۶۱	۱۶/۵	۴۴	۳۹/۵

جدول ۱- نتایج تجزیه آب مورد استفاده جهت آبیاری

نسبت جذب منیزیوم سدیم (میلی اکی والان در لیتر)	کلسیم (میلی اکی والان در لیتر)	سدیم (میلی اکی والان در لیتر)	هدایت الکتریکی (میکرو زمینس بر سانتی متر)	pH
۴/۰۵۵	۳/۱	۴/۹	۸/۱۱	۱۸۵۰

ارزیابی صفات مورفولوژیکی

ارتفاع رشد قبل از هر بار سربرداری (به فواصل پنج روزه) اندازه‌گیری شد. بدین منظور یک طرف خط کش با سطح خاک مماس شد و با جایگایی خط کش، ارتفاع رشد در سه نقطه تصادفی از گلدان به دست آمد. میانگین این سه نقطه تصادفی میان ارتفاع رشد بود. برای محاسبه طول ریشه، در پایان آزمایش پس از خارج کردن گیاهان از گلدان، ریشه‌ها جدا شده و پس از شستشو و جدا کردن بستر کشت طول بلندترین ریشه‌ها محاسبه شد. ریشه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شده و وزن خشک آنها محاسبه گردید (Qian et al., 2000). برای اندازه گیری رشد شاخصاره، پس از هر بار سربرداری، چمن‌های چیده شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شدند و وزن خشک آنها محاسبه شد. در پایان آزمایش پس از خارج کردن گیاهان از گلدان، ریشه‌ها جدا شدند و وزن خشک بخش هوایی چمن‌ها محاسبه شد. میزان رشد شاخصاره از مجموع وزن خشک چمن‌های زده شده در ۱۵ روز دوره آزمایش و وزن خشک بخش هوایی چمن‌ها در پایان آزمایش به دست آمد (Qian et al., 2000). ویژگی‌های رنگ، تراکم و بافت چمن از طریق ارزیابی‌های چشمی و طبق برنامه ملی ارزیابی چمن (NETP)^۱ صورت گرفت. رتبه ۹، چمن با رنگ سبز تیره، تراکم بالا و بافت مطلوب (مشابه گیاهان

به خشکی رقم 'Barimpala' از گونه *Poa pratensis* L. است.

مواد و روش ها

مواد گیاهی و تیمار تنش

این پژوهش طی سال‌های ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهر اصفهان و دانشگاه صنعتی اصفهان به انجام رسید.

بذرهای چمن *Poa pratensis* رقم 'Barimpala' پس از ضدغونی سطحی در گلدان‌های استوانه‌ای به طول ۶۰ سانتی متر و قطر ۱۵ سانتی متر که با خاک سیلتی-رسی-لوم (۱۶/۵ درصد شن، ۴۴ درصد سیلت و ۳۹/۵ درصد رس) پر شده بودند، کشت شده و در شرایط طبیعی رشد یافته‌ند. مشخصات خاک مورد کشت در جدول ۱ و نتایج آزمون آب مورد آبیاری در جدول ۲ آورده شده است. در طول مدت جوانه‌زنی و استقرار گیاهان، مبارزه با علف‌های هرز و کوددهی با کود کامل کریستالون (۲۰-۲۰-۲۰) انجام شد. چمن‌ها به صورت هفتگی و از ارتفاع چهار سانتی متر سرزنی شدند. تا زمان استقرار کامل چمن که دو ماه به طول انجامید، آبیاری به طور منظم و تاحدی که آب به آرامی از انتهای زهکش گلدان خارج شود، انجام شد تا از بروز خشکی جلوگیری شود و رطوبت در حد ظرفیت زراعی باقی بماند (شکل ۱۵).

پس از استقرار کامل گیاهان، آبیاری به مدت ۱۵ روز یعنی تا زمانی که بیشتر گلدان‌ها 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. تیمار شاهد نیز بدون اعمال تنش خشکی در نظر گرفته شد.

کلیه صفات یک روز قبل از اعمال تنش و نیز در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ بعد از قطع کامل آبیاری مورد ارزیابی گرفت. آزمایش به صورت کرت‌های 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 صفات بود.

سنجدش فعالیت آنژیم آسکوربات پراکسیداز محلول واکنش حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی مolar (pH 7.0)، اتیلن دی‌آمین تتراستات EDTA ۱/۱ میلی مolar، H_2O_2 ۱/۲۵ میلی مolar، آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مolar و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنژیم بود. فعالیت APX با اکسیداسیون آسکوربیک اسید که منجر به کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر می‌شود، اندازه‌گیری شد (Nakano & Asada, 1981).

سنجدش فعالیت آنژیم گلوتاپون پراکسیداز فعالیت این آنژیم با افزایش جذب در ۴۷۰ نانومتر به مدت ۷۰ ثانیه قرائت شد. محلول واکنش حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی مolar (pH 7.0)، گایاکول ۲۵ میلی مolar، H_2O_2 ۱۰ میلی مolar و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنژیم بود (Nickel & Cunningham, 1969).

سنجدش فعالیت آنژیم پراکسیداز فعالیت آنژیمی با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مolar (pH 7.0) و ۴۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۲۵ میلی مolar به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنژیم در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنژیمی با استفاده از ضریب خاموشی $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲۶/۶ محاسبه و به ازای تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (Nakano & Asada, 1981).

سنجدش فعالیت آنژیم سوپراکسید دیسموتاز محلول واکنش حاوی ۷۵ میکرومولار نیتروبلو تترازولیوم (NBT)، ۲ میکرومولار ریبوفلاوین، ۱۳ میلی مولار متیونین، ۱/۱ میلی مolar EDTA، بافر فسفات ۵۰ میلی مولاری و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنژیمی بود. نمونه ها در جعبه ایی که در آن دو عدد لامپ فلورسانس نصب شده بود، به مدت ۱۵ دقیقه روی شیکر قرار گرفتند. میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Giannopolities & Rise, 1977).

تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به بافت برگ خرد شده، تری کلرواستیک اسید حاوی تیوباربی تیوریک اسید اضافه شد و در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. جذب مایع با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر و نیز طول

در حالت طبیعی و بدون تنفس) و رتبه ۱ برای چمن‌های کاملاً زرد رنگ و با تراکم پایین و بافت نامطلوب در نظر گرفته شد (Beard, 1973). درصد خشکیدگی برگ‌ها به صورت مشاهده‌ایی بین صفر و ۱۰۰ اندازه‌گیری شد که در آن صفر نشان‌دهنده عدم وجود علامت خشکیدگی و ۱۰۰ خشکیدگی کامل در اثر تنفس خشکی بود (Qian et al., 2000).

ارزیابی صفات فیزیولوژیکی محتوی نسبی آب برگ‌ها
FW-DW)/(TW-DW) با استفاده از فرمول $100 \times \frac{FW - DW}{TW - DW}$ محاسبه شد که در آن FW وزن تر نمونه‌های برگی، TW وزن تر نمونه‌هایی که به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق حیسانده شده‌اند و DW وزن خشک نمونه‌های برگی است (Barrs & Weatherley, 1962).

میزان کلروفیل برگ‌ها
اندازه‌گیری کلروفیل برگ‌ها طبق روش Hiscox & Israelstam (1979) و با اندکی تغییرات انجام شد.

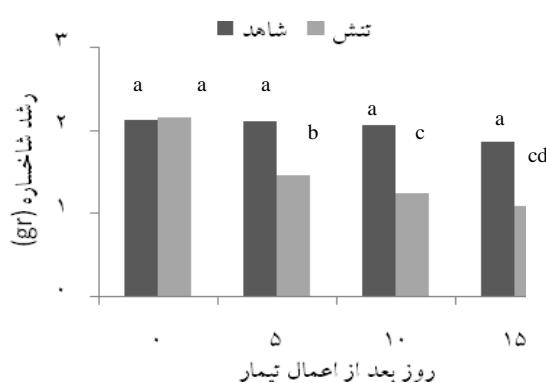
نشت یونی برگ‌ها
میزان EL از تقسیم هدایت الکتریکی اولیه بر هدایت الکتریکی سلول‌های مرده (Ci/Cmax) محاسبه شد (Hu et al., 2010).

میزان پرولین برگ‌ها
نمونه تازه برگ با نیتروژن مایع خرد شده و با سولفوسالیسیلیک اسید هموژن شد. پس از سانتریفیوژ، محلول روشناؤر به همراه اسید ناین‌هیدرین و اسید استیک در آب جوش قرار داده شد و سپس برای توقف واکنش در یخ قرار گرفت. پس از افزودن تولوئن، جذب مایع رنگی حاوی پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد و میزان پرولین با استفاده از منحنی‌های استاندارد پرولین محاسبه شد (Bates et al., 1973).

سنجدش فعالیت آنژیم کاتالاز
محلول واکنش حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی مolar (pH 7.0)، H_2O_2 ۱۰ میلی مolar و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنژیمی بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب طی مدت ۷۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر پیگیری و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنژیمی بیان شد (Aebi, 1984).

داری افزایش پیدا کرد و به ۸۸/۳۳ درصد رسید. در پژوهشی نیز که در آن پنج رقم *Poa pratensis* L. در معرض خشکی کامل قرار گرفته بودند، کاهش کیفیت Jinrong چمن همراه با افزایش درصد خشکیدگی بود (Jinrong et al., 2008). گیاهان در معرض خشکی به منظور تعیین درصد بازگشت پذیری آبیاری دوباره شدند و پس از گذشت ۱۱ روز به حالت اولیه برگشتند و مشابه *Poa pratensis* L. چمن قادر است در شرایط خشکی مدتی را زنده مانده و زمانی که شرایط رطوبتی مساعد گردید از گره ریزوم های زیرزمینی و یا تاج های پیر و قدیمی اش شاخه جدید تولید کرده و ظرف مدت کوتاهی پوشش کافی تولید کند (Christians, 2004). تیمار آبیاری بر صفات طول و وزن خشک ریشه اثر معنی داری نداشت.

در پژوهش انجام شده بر روی *Cynodon dactylon* L. و *Zoysia matrella* آبیاری اختلاف معنی داری را نشان نداد (Huang et al., 1998). تنش خشکی رشد شاخصاره را کم و در نتیجه به رشد ریشه نزدیک تر می کند، بنابراین نسبت ریشه به شاخصاره به سمت یک میل خواهد کرد. از این نظر گیاهان مختلف پاسخ های متفاوتی را در برابر تنش خشکی نشان می دهند. در این پژوهش نیز یکی از سازوکارهای مهمی که در افزایش جذب آب و جلوگیری از تنش خشکی دخالت دارد، کاهش رشد شاخصاره و عدم تغییر رشد ریشه است.



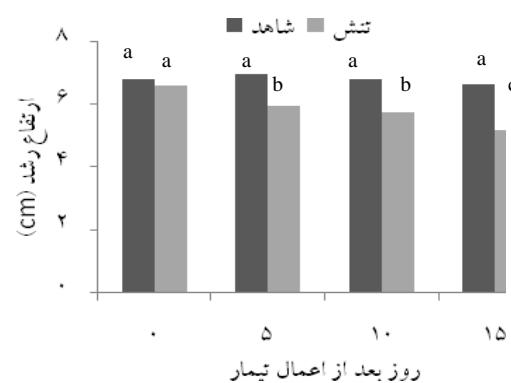
شکل ۲- تاثیر تیمار آبیاری بر رشد شاخصاره

موج غیر اختصاصی ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری شد (Heath & Parker, 1968).

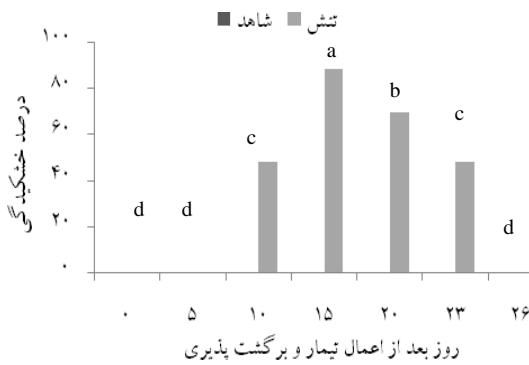
نتایج و بحث

ارزیابی صفات مورفولوژیکی

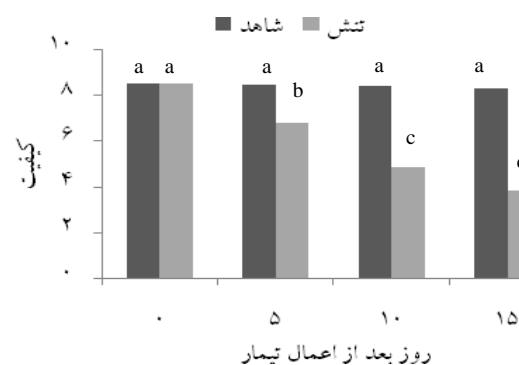
نتایج حاصل از تاثیر تیمار آبیاری بر ارتفاع رشد نشان داد که ارتفاع رشد در گیاهان تحت تنش کمتر از تیمار شاهد بود. تفاوت رشد در روز ۵ و ۱۰ در گیاهان تحت تنش معنی دار نبود، اما این تفاوت بین روز قبل از اعمال تنش و ۱۵ روز بعد از اعمال تنش معنی دار بود (شکل ۱). رشد طولی سلول در گیاه از فرآیندهای حساس به تنش خشکی است و قبل از اینکه فتوسنتر یا روزنه ها تحت تاثیر قرار گیرند، کاهش می یابد. رشد شاخصاره در گیاهان تحت تنش در کلیه روزهای نمونه گیری اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان دادند، در حالیکه گیاهان شاهد در روزهای مختلف اختلاف معنی داری را در رشد شاخصاره نداشتند (شکل ۲). در پژوهش انجام شده توسط Fu & Huang (2001) نیز در تیمار خشکی کامل خاک رشد شاخصاره کنتاکی بلو گراس به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. کیفیت چمن در گیاهان در معرض تنش به طور معنی داری کمتر از گیاهان شاهد بود. کیفیت چمن در روزهای مختلف نمونه برداری کاهش معنی داری را نشان داد (شکل ۳). گیاهان در معرض خشکی تا روز ۵ خشکیدگی را نشان نداده و مشابه گیاهان شاهد بودند. پس از آن درصد خشکیدگی تا روز ۱۵ به طور معنی



شکل ۱- تاثیر تیمار آبیاری بر ارتفاع رشد



شکل ۴- تاثیر تیمار آبیاری بر درصد خشکیدگی



شکل ۳- تاثیر تیمار آبیاری بر کیفیت چمن

باشد. بدین معنی که کاتابولیسم کلروفیل در شرایط خشکی افزایش می یابد. در *Festuca arundinacea* Schreb. وقتی که محتوای نسبی آب برگ به زیر ۶۰ درصد رسید، بر غلظت کلروفیل اثر منفی داشت (Huang et al., 1998) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

با گذشت زمان نشت یونی در گیاهان در معرض تنش خشکی افزایش پیدا کرد، اما بین روزهای ۵ و ۱۰ اختلاف معنی داری مشاهده نشد، اما در روز ۱۵ به ۱۳/۹۳ درصد رسید (شکل ۷). نشت یونی شاخصی برای استحکام غشای سلولی به شمار می رود. ارتفاع رشد و نشت یونی در روزهای ۵ و ۱۰ اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند. به نظر می رسد این دو فاکتور ارتباط منفی و معنی داری با یکدیگر دارند. نشت یونی ۵ رقم در روز ۲۱ بعد از اعمال تنش بین ۲۰ تا ۴۰ درصد متغیر بود (Jinrong et al., 2008). در پژوهش دیگری بیشترین میزان نشت یونی از غشا باخته های برگی در بیشترین سطح خشکی اتفاق افتاد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Inze & Montagu, 1995).

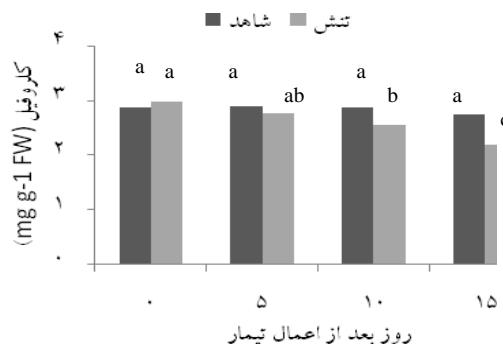
نتایج حاصل از تیمار آبیاری بر میزان پرولین نشان داد که با گذشت زمان میزان پرولین در گیاهان در معرض تنش خشکی افزایش معنی داری را نشان داد، به طوریکه میزان پرولین در روز ۱۵ به میزان ۳/۸ برابر روز قبل از اعمال تنش بود (شکل ۸). به نظر می رسد رقم *Poa pratensis* مورد مطالعه در شرایط خشکی شدید می تواند با سنتز و تجمع پرولین که یک ترکیب فعل

ارزیابی صفات فیزیولوژیکی تا پنج روز پس از قطع آبیاری اختلاف معنی داری در محتوای نسبی آب برگ بین گیاهان شاهد و در معرض تنش مشاهده نشد. محتوای نسبی آب برگ در گیاهان در معرض تنش خشکی در روزهای ۱۰ و ۱۵ کاهش پیدا کرده و در روز ۱۵ به ۵۱/۹۶ درصد رسید (شکل ۵). کاهش محتوای نسبی آب برگ به دلیل کاهش پتانسیل آب برگ رخ می دهد. در بیشتر گونه ها وقتی که جذب آب توسط ریشه با میزان تعرق و آب از دست دهی برگ ها برابر باشد، محتوای نسبی آب برگ مطلوب برگ حدود ۸۵-۹۵ درصد است (Taiz & Zeiger, 1998) بالاترین محتوای نسبی آب برگ ارقام *Poa pratensis* L. که تحت تنش خشکی قرار گرفته بودند ۴۷/۶۱ درصد و کمترین آن ۲۸/۰۸ بود. بالا بودن نسبی محتوای نسبی آب برگ در روز ۱۵ می تواند در اثر توانایی بالای جذب آب این گیاه در پتانسیل پایین آب خاک باشد (Jinrong et al., 2008).

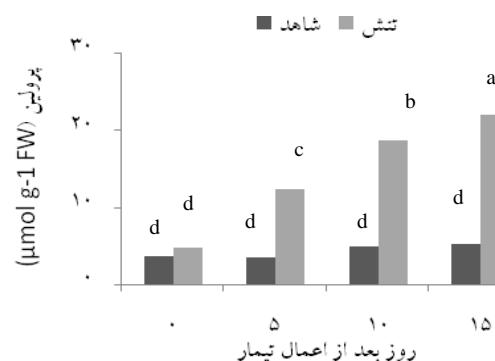
کاهش معنی دار غلظت کلروفیل بعد از روز پنجم در گیاهان تحت تنش خشکی دیده شد (شکل ۶).

با کاهش ۳۰ درصدی محتوای نسبی آب برگ ظرفیت فتوسنترزی گیاه کاهش پیدا می کند و در اثر آسیب به غشای کلروفیلاست ها، منتهی به مرگ سلول می شود (Kaiser, 1987). تنش خشکی انتقال الکترون فتوسنترزی و مقدار کلروفیل را کاهش می دهد (Fu & Huang, 2001). به نظر می رسد کاهش معنی دار کلروفیل در این تحقیق به دلیل کاهش فاکتورهای لازم جهت سنتز کلروفیل و تخریب ساختمان آن می

۱۵ (Pedrol et al., 2000). با ارزیابی میزان پرولین جمعیت تحت تنش *Cynodon dactylon* L. اختلاف معنی داری بین آنها گزارش شد، اما همبستگی معنی داری بین مقدار پرولین و مقاومت به خشکی به دست نیامد (Etemadi et al., 2006).



شکل ۶- تاثیر تیمار آبیاری بر غلظت کلروفیل

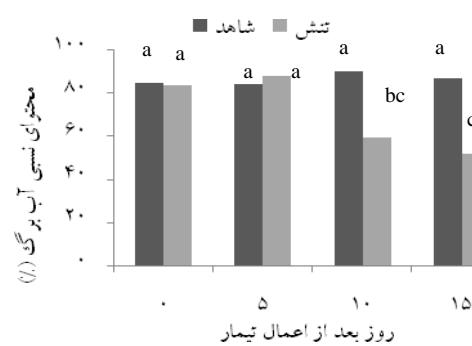


شکل ۸- تاثیر تیمار آبیاری بر محتوای پرولین

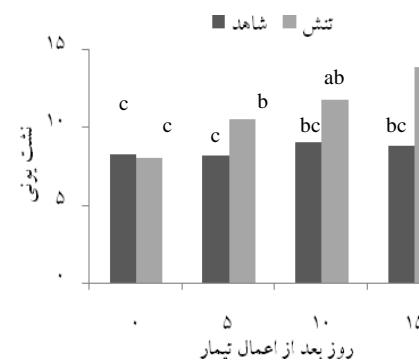
کاتالاز با پیش ماده خود، عاملی در جهت محدود نمودن عمل حفاظتی کاتالاز دخالت نموده و باعث کاهش فعالیت آن می شود (Gramer, 2002). پژوهش ها نشان می دهد افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی با افزایش ظرفیت مکانیزم های حفاظتی در برابر آسیب اکسایشی می تواند به ایجاد تحمل به تنش خشکی کمک کند (Turkan et al., 2005; Sharma & Dubey, 2005). در این پژوهش فعالیت آنزیم کاتالاز با طولانی شدن تنش خشکی کاهش یافت.

این نتیجه توسط Fu & Huang (2001) نیز گزارش شده است. با طولانی شدن دوره تنش و کاهش فعالیت کاتالاز مقدار پراکسیداسیون لیپید و نشت یونی افزایش

اسمزی است به صورت بهتری محتوای آب برگ خود را حفظ کرده و در نتیجه کاهش آماس سلولی که در چنین شرایط رخ می دهد را جبران کند (Salahvarzi et al., 2009). با پژوهش در مورد محتوای نسبی آب برگ و غلظت پرولین نتایج مشابهی به دست آمده است



شکل ۵- تاثیر تیمار آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ



شکل ۷- تاثیر تیمار آبیاری بر نشت یونی

افزایش غلظت آنزیم های آنتی اکسیدانی در شرایط تنش نشانگر نقش این آنزیم ها در سیستم دفاعی گیاه در شرایط تنش است. نتایج به دست آمده نشان داد که با پیشرفت تنش خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز تا روز دهم افزایش پیدا کرد ، اما بین روز قبل از اعمال تنش و روز پنجم اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بیشترین سرعت افزایش فعالیت این آنزیم از روز پنجم تا دهم بود و در روز دهم به حدود دو برابر گیاهان شاهد رسید. پس از آن فعالیت آنزیم کاهش پیدا کرد (شکل ۹). کاتالاز یک آنزیم تبدیل کننده پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن مولکولی است. با پیشرفت خشکی مقدار کاتالاز کاهش می یابد. این امر نشان می دهد به علت رابطه ضعیف

نشان داد. پس از آن فعالیت این آنزیم کاهش پیدا کرد به نحوی که به پایین تر از گیاهان با آبیاری مناسب تقیلی پیدا کرد (شکل ۱۱).

برگ های *Brassica napus* L. در معرض تنفس خشکی افزایش معنی داری را در فعالیت گلوتاتیون *Tohidi-Moghaddam et al.*, 2009). تنفس خشکی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را در ۲۰۰۹ برگ های چغدرقند افزایش داد (Sayfzadeh & Rashidi, 2011). نتایج این محققان با یافته های حاصل از این پژوهش همانهنج است فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز از روز پنجم تا ۱۰ بعد از عامل تیمار افزایش پیدا کرد و پس از آن کم شد (شکل ۱۲). نتایج نشان دادند که چمن مورد آزمایش در پاسخ به تنفس خشکی، فعالیت پراکسیداز را تا روز ۱۰ برابر سمتی زدایی اکسیژن فعال حفظ می کند. پراکسیدازها از جمله آنزیم هایی به شمار می روند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنفس های غیر زیستی مانند خشکی دارند. در تحقیقی افزایش، کاهش و عدم تغییر در فعالیت پراکسیداز در پاسخ به تنفس خشکی نشان داده شده است (Zhang et al., 1995). 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.

تیمار آبیاری تا روز پنجم پس از عامل تنفس 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 ۱/۷ برابر کمتر از گیاهان شاهد گردید (شکل ۱۳). افزایش، کاهش و یا عدم تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در برگ ها و ریشه های *Poa pratensis* L. نشان دهنده متabolیسم های آنتی اکسیدانی متفاوت در پاسخ به تنفس خشکی است. در گندم (*Triticum aestivum* L.) در اوایل دوره تنفس فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته و یا بدون تغییر باقی ماند، اما در تنفس شدیدتر مقدار آن کاهش پیدا کرد (Zhang et al., 1995) که با

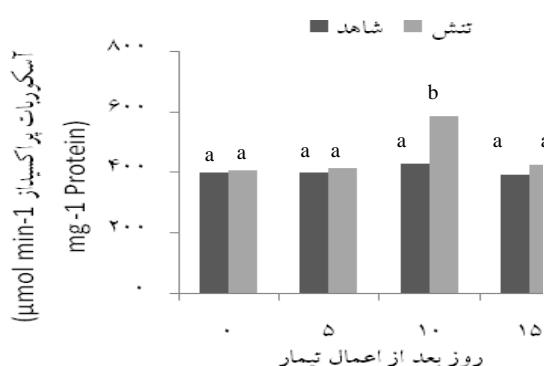
پیدا کرد که منجر به تجمع پراکسید هیدروژن و آسیب به غشای سلولی شد (Jinrong et al., 2008). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که توانایی کاتالاز برای از بین بردن گونه های فعال اکسیژن در تنفس اولیه حفظ می شود، اما فعالیت آن با طولانی شدن خشکی محدود می شود، اما در سطحی بالاتر از سطح گیاهان شاهد فعالیت می کند.

تا روز پنجم بعد از اعمال تنفس گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنفس اختلاف معنی داری را در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان ندادند. پس از آن فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان تحت تنفس به طور معنی داری افزایش یافته و پس از آن در روز ۱۵ کاهش پیدا کرد به طوریکه با گیاهان شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد (شکل ۱۰). افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در برگ ها و عدم تغییر آن در ریشه های *Poa pratensis* L. در شرایط تنفس خشکی می تواند به حفظ مقادیر آسکوربیک اسید و گلوتاتیون احیا شده که دو آنتی اکسیدانت مهم در مقابل سمتی گونه های فعال اکسیژن هستند، کمک کند (Foyer et al., 1994). افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در روز ۱۰ پتانسیل موجود برای از بین بردن گونه های فعال اکسیژن را نشان داد. افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در برگ های دورگ های بین گونه ای *Prunus* در معرض تنفس خشکی طولانی مدت نیز دیده شد (Sofa et al., 2005). به طور کلی تنفس اکسیداتیو حاصل از افزایش سطح رادیکال های آزاد درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنفس خشکی باشد. چرخه آسکوربات- گلوتاتیون یک سیستم آنتی اکسیدانی کارآمد در سم زدایی پراکسید هیدروژن است که چهار آنزیم شامل آسکوربات پراکسیداز، مونوکنی هیدروآسکوربات ردوکتاز (MDHAR)، دی هیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) در آن دخیل می باشند. در این چرخه پراکسید هیدروژن بوسیله آسکوربات و آنزیم آسکوربات پراکسیداز به مولکول آب تبدیل می شود (Birgi et al., 2010) با پیشرفت تنفس تا روز ۱۰ میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز افزایش معنی داری را نسبت به گیاهان شاهد

این میان تنها آنزیم کاتالاز بود که در روز ۱۵ با وجود کاهش فعالیت، میزان فعالیت خود را بیش از فعالیت این آنزیم در گیاهان شاهد حفظ کرد.

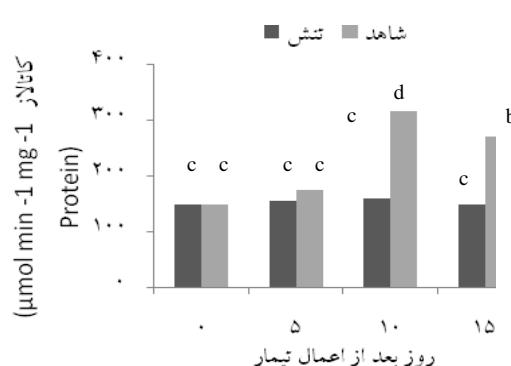
میزان پراکسیداسیون اسیدهای چرب با پیشرفت خشکی افزایش پیدا کرد، اما میان روز پنجم و روز قبل از اعمال تنش خشکی اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در روز ۱۵ میزان پراکسیداسیون لیپیدها به $4/23$ برابر گیاهان با آبیاری مناسب رسید (شکل ۱۴) که نشان می دهد خشکی طولانی منجر به تجمع گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون 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 (Zhang et al., 1995; Price & Hendry, 1991).

در پژوهش حاضر، *Poa pratensis* L. در ۱۰ روز اول به مقدار کمتری تحت تاثیر تنش خشکی خاک قرار گرفت. این نشان می دهد که قابلیت این چمن برای سازگاری با تنش خشکی می تواند مربوط به درجه پابین پراکسیداسیون لیپید و حفظ فعالیت بالای بعضی از آنزیم های آنتی اکسیدانی به ویژه سوپراکسید دیسموتاز در این ایام باشد. با طولانی شدن تنش خشکی و شدت آب از دست دهی (محتوای نسبی آب برگ کمتر از ۵۱ درصد) پراکسیداسیون لیپید برگ افزایش یافت. نتایج این پژوهش نشان داد که با پیشرفت تنش مقدار نشت یونی و مالون دی آلدهاید هم زمان با هم افزایش یافت که نشان دهنده ارتباط مثبت بین این دو شاخص است.

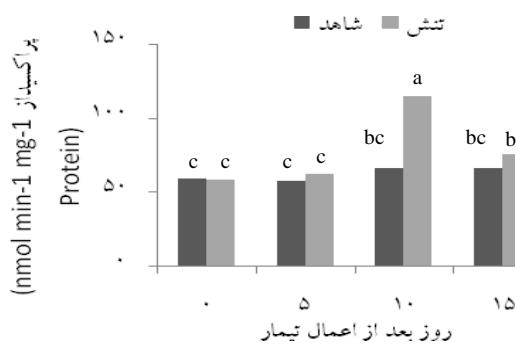


شکل ۱۰- تاثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم APX

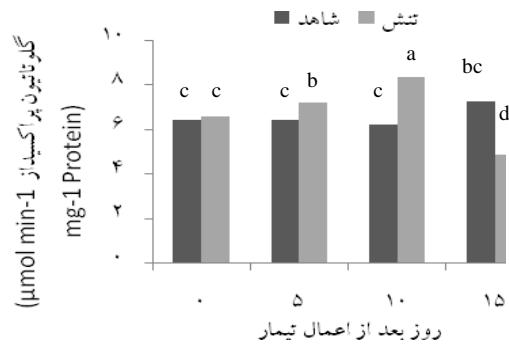
نتایج این پژوهش همسو است. با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در مراحل اولیه تنش خشکی، سمیت زدایی پراکسید هیدروژن افزایش و آسیب های حاصله از آن در گیاه کاهش می یابد. در واقع سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال های اکسیژن مقاومت می نماید و تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولید شده در گیاه باشد، این فرآیند ادامه دارد. اگر چه کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز پس از طولانی شدن تنش خشکی نشان می دهد که عمل از بین بردن پراکسید هیدروژن توسط سوپراکسید دیسموتاز تضعیف گردیده است که این امر می تواند به دلیل تخریب ساختارهای تولید کننده سوپراکسید دیسموتاز باشد. در تنش خشکی طولانی کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز منجر به تجمع گونه های فعال اکسیژن می شود. از روز پنجم تا ۱۰ به موازات افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و به دنبال آن تولید رادیکال سوپر اکسید آنزیم های آنتی اکسیدانی دیگر نیز فعالیت خود را افزایش داده و تا روز ۱۰ اقدام به مهار پراکسید هیدروژن موجود در محیط می نمایند. با طولانی شدن خشکی در روز ۱۵ به نظر می رسد میزان پراکسید هیدروژن تولید شده به حدی افزایش می یابد که پراکسیداسیون لیپید غشا افزایش و میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به کمتر از مقدار فعالیت آن در گیاهان شاهد کاهش می دهد. کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز منجر به کاهش تبدیل رادیکال سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن می شود و در نتیجه آنزیم های از بین برنده پراکسید هیدروژن نیز کاهش می یابند. در



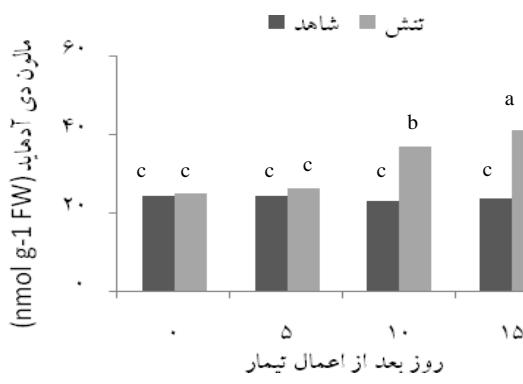
شکل ۹- تاثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم CAT



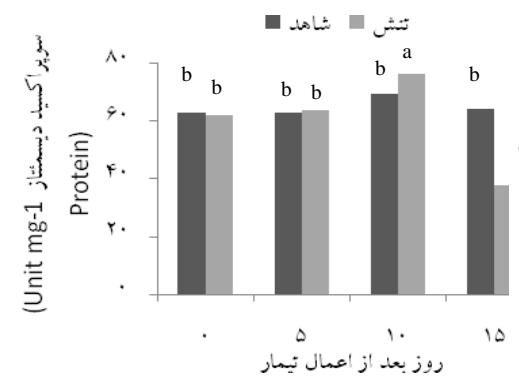
شکل ۱۲- تاثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم POD



شکل ۱۱- تاثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم GPX



شکل ۱۴- تاثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم POD



شکل ۱۳- تاثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم SOD

خشکی شدید و افزایش 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 می توانند یکی از راهکارهای مدیریتی برای مقابله با بحران کم آبی در فضای سبز باشند.

نتیجه گیری کلی

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که قطع کامل آبیاری در چمن *Poa pratensis* رقم 'Barimpala' در پنجم روز اول پس از اعمال خشکی تاثیر چندانی بر بیشتر پارامترهای 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 محتوای پرولین بیشتر در شرایط تنش

شکل ۱۵ در مرحله استقرار *Poa pratensis*. L

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
2. Arghavani, M., Kafi, M., Babalar, M. & Nadari, R. (2010). *A physiological and morphological study on Lolium perenne L. and Poa pratensis L. as affected by trinexapac-ethyl, mowing management and nitrogen source under salt stress conditions*. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran.
3. Barrs, H. D. & Weatherley, P. E. (1962). A reexamination of the relative turgidity technique for the estimating of water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428.
4. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207.
5. Beard, J. B. (1973). *Turfgrass: Science and Culture*. Prentice-Hall, Englewood, Cliffs, NJ.
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. Birgit, C. B., Shahpiri, A., Finnie, C. & Svensson, B. (2010). Proteomic and activity profiles of ascorbate- glutathione cycle enzymes in germinating barley embryo. *Phytochemistry*, 71, 1650-1656.
8. Christians, N. (2004). *Fundamentals of turfgrass management*. Jhon Wiley and Sons, Inc. New jersey. (pp. 163-166.)
9. DaCosta, M. & Huang, B., (2007). Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in responses to drought stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132, 319-326.
10. Etemadi, N., Khalighi, A., Razmjoo, K. H., Lessani, H. & Zamani, Z. (2006). *Evaluation of genetic variation, tolerance and morphological characteristic of bermudagrass (Cynodon dactylon L.)*. Faculty of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran (In Farsi).
11. Foyer, C. H., Descourvieres, P. & Kunert, K. J. (1994). Phototoxic stress in plants. *Journal of Plant Physiology*, 92, 696-717.
12. Fu, J. & 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.
13. Giannopolitis, C. N. & Rise, S. K. (1977). Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, 304-309.
14. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
15. Gramer, G. R. (2002). Response of abscisic acid mutant of Arabidopsis to salinity. *Functional Plant Biology*, 29, 561-567.
16. Heath, R. L. & Parker, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
17. Hiscox, J. D. & Israelstam, G. F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1332-1334.
18. Hu, L., Wang, Z., Du, H. & Huang, B. (2010). Differential accumulation of dehydrins in response to water stress for hybrid and common bermudagrass genotypes differing in drought tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 167, 103-109.
19. Huang, B., Fry, J. D. & Wang, B. (1998). Water relations and canopy characteristics of tall fescue cultivars during and after drought stress. *HortScience*, 33, 837-840.
20. Inze, D. & Van Montagu, M. (1995). Oxidative stress in plants. *Current Opinion Biotechnology*, 6, 153-158.
21. Jinrong, L., Xiaorong, X., Jianxiong, D., Jixiong, S. & Xiaomin, B. (2008). Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulturae*, 115, 190-195.
22. Kafi, M. & Kaviani, S. (2003). *Establishment and turfgrass maintenance management*. Cultural and Artistic Institution of Shaghayegh Rusta, 232 Pages (InFarsi).
23. Kaiser, W. M. (1987). Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, 71, 142-149.
24. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7, 405-410.
25. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
26. Nickel, R. S. & Cunningham, B. A. (1969). Improved peroxidase assay method using Ieuco 2,3,6-trichloroindophenol and application to comparative measurements of peroxidase catalysis. *Analytical Biochemistry*, 27 (2), 292-299.

27. Pedrol, N., Ramos, P. & Riegosa, M. J. (2000). Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites. *Plant Physiology*, 157, 383-393.
28. Pessarakli, M. (2007). *Handbook of turfgrass management and physiology*. CRC Press, Taylor & Francis Publishing Company, Florida.
29. Price, A. H. & Hendry, G. A. F. (1991). Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell and Environment*, 14, 477-484.
30. Qian, Y. L., Engelke, M. C. & Foster, M. J. V. (2000). Salinity effects on zoysiagrass cultivars and experimental lines. *Crop Science*, 40, 488-492.
31. 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 of Food, Agriculture and Environment*, 8, 285-288.
32. Salahvarzi, Y., Tehranifar, A. & Gazanchian, A. (2009). Physiomorphological changes under drought stress and rewatering in endemic and exotic turfcresses. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 9, 193-204 (In Farsi).
33. Sayfzadeh, S. & Rashidi, M. (2011). Response of antioxidant enzymes activities of sugar beet to drought stress. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 6 (4), 27-33
34. Sharma, P. & Dubey, R. S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzyme in growing rice seedling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 46, 209-221.
35. Sofa, 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.
36. Taiz, L. & Zeiger, E. (1998). *Plant Physiology*. (2th ed.). Sinauer Association, Sunderland, MA.
37. Tohidi-Moghaddam, H. R., Shirani-Rad, A. R., Noormohammadi, G., Habibi, D. & Boojar, M. M. A. (2009). Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress conditions. *American Journal of Agriculture and Biological Science*, 4, 215-223.
38. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. & Koca, H. (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.
39. Zhang, J., Cui, S., Li, J. & Kirkham, M. B. (1995). Protoplasmic factors, antioxidant responses, and chilling resistance in maize. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33, 567-575.