



دانشگاه گوارش و منابع طبیعی گرگان

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۹

۲۳۱-۲۱۵

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2020.17173.2576

## تأثیر بنزیل آدنین بر کربوهیدرات‌های غیر ساختاری و محلول در آب در چمن فستوکای بلند تحت تنش خشکی

زهرا رضایی قلعه<sup>۱</sup>، \* مصطفی خوشحال سرمست<sup>۲</sup> و صادق آتشی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،  
<sup>۲</sup> استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،  
<sup>۳</sup> کارشناس آزمایشگاه‌های گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۹

### چکیده

**سابقه و هدف:** کاربرد سایتوکینین خارجی بر روی برگ چمن‌ها و اثر آن در تعدیل تنش خشکی به شکل خیلی محدود گزارش شده است که با بهبود مقاومت به خشکی همراه بوده است. اما اثر بنزیل آدنین در محتوای کل کربوهیدرات‌های غیر ساختاری و کربوهیدرات‌های محلول در آب برگ فستوکای بلند (*Festuca arundinacea Schreb.*) تحت شدت‌های مختلف تنش خشکی مورد بررسی قرار نگرفته است که از جمله اهداف این آزمایش بود.

**مواد و روش‌ها:** یک دوره تنش یک‌ماهه روی گونه فستوکای بلند که به صورت هم‌گروهی تکثیر و طی یک‌سال در گلخانه مستقر گردید. طرح به صورت کاملاً تصادفی با حداقل سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت که شامل تیمارهای آبیاری در چهار سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) بود و بر روی تیمارهای ذکر شده محلول‌پاشی برگی ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین با فاصله هر ۷ روز یکبار انجام شد. در نمونه‌های شاهد تحت تنش خشکی، برای مقایسه، محلول‌پاشی با بنزیل آدنین صورت نگرفت.

**یافته‌ها:** تیمار با بنزیل آدنین تنش شدید ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه را به شکل جالبی تعدیل نمود و منجر به بازگشت مشهود برگ‌ها به حالت عادی رشد شد. بررسی کربوهیدرات‌های محلول در آب (WSCs) نشان از افزایش چندین برابری نسبت به شاهد داشت که این افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول در آب در تنش ۵۰ درصد و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به دیگر تیمارها مشهودتر بود. محلول‌پاشی با بنزیل آدنین اگرچه که این افزایش تولید قندهای محلول را به سطح مشاهده شده در شاهد نرساند اما محتوای کربوهیدرات‌های محلول در آب را به نصف مقدار تولید شده نسبت به تنش خشکی ۵۰ درصد و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه بدون محلول‌پاشی کاهش داد. تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل و نشاسته ذخیره‌ای برگ شد. این کاهش کلروفیل در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه، به شکل معنی‌داری در گیاهان تحت تنش که با ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین تیمار شده بودند، جبران شد. فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز برگ با شروع تنش خشکی و محلول‌پاشی بنزیل آدنین در مقایسه با شاهد به صورت معنی‌داری افزایش و سپس کاهش یافت.

\* مسئول مکاتبه: [khoshhal.sarmast@gmail.com](mailto:khoshhal.sarmast@gmail.com)

**نتیجه‌گیری:** کاهش شدید محتوای آب خاک و سپس آب گیاه منجر به فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته و افزایش در کربوهیدرات‌های محلول در آب می‌شود که هم به حفظ هموستازی سلول برگ کمک کرده و هم با فراهم نمودن ATP به تحمل بیش‌تر گیاه به تنش خشکی کمک خواهد نمود. قسمتی از این تجزیه نشاسته به‌وسیله افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در برگ قابل توجه خواهد بود. کاربرد ۵۰ میکرومولار بنزیل‌آدنین به شکل معنی‌داری از شدت تنش وارد شده به گیاه کاست. این تیمار باعث احیاء کلروفیل برگ و بهبود فتوسنتز در تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی شد و از تجزیه بیش‌تر نشاسته و تبدیل شدن آن به فروکتوز، گلوکز و ساکارز کاست تا بدین‌صورت گیاه منابع کربوهیدراتی خود را حفظ نماید.

**واژه‌های کلیدی:** سایتوکینین، فستوکای بلند، کربوهیدرات‌های محلول در آب، مقاومت به خشکی

### مقدمه

چمن‌ها یکی از ارکان اصلی فضای سبز بوده و علاوه بر نقش زیباشناسانه، در اصلاح خاک و آب، جلوگیری از فرسایش، تلطیف و کاهش دمای هوا و موارد زیاد دیگر نقش دارند (۱ و ۳۰). تیره چمن‌ها (پوآسه)<sup>۱</sup> شامل بیش از ۹۰۰۰ گونه C<sup>۳</sup> و C<sup>۴</sup> تک‌لپه است که یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهان‌گلداز است. چمن‌ها شامل گروه‌های فصل سرد و گرم می‌شوند که بر اساس سازگاری آن‌ها با محدوده‌های مشخصی از درجه حرارت و میزان بارش، که به‌طور عمده توسط عرض جغرافیایی و ارتفاع تعیین می‌شود تقسیم‌بندی می‌شوند (۲). فستوکای بلند<sup>۲</sup> گیاهی چندساله و سردسیری است (۶). جنس فستوکا بالغ بر ۸۰ گونه دارد که گونه اشاره شده در این پژوهش یکی از دو گونه پر اهمیت از لحاظ کشاورزی است. این چمن، به‌خاطر خصوصیت‌های فیزیولوژیکی مانند سطح تبخیر بالای برگ (۱۰) و سیستم ریشه‌ای عمیق و گسترده (۶) از مقاومت به خشکی بالاتری نسبت به تمامی چمن‌های فصل سرد متداول در فضای سبز مانند چاوی<sup>۳</sup> و فریژ<sup>۴</sup> برخوردار است (۴۱) و این موضوع از جمله دلایل افزایش علاقه به این گونه در اروپا غربی و دیگر نقاط دنیا است (۹).

کم‌آبی در هنگام تنش خشکی باعث ایجاد تغییراتی در روابط آبی، ساختار غشاء، فرآیندهای زیست-شیمیایی و فیزیولوژیکی می‌شود. هم‌چنین اندازه برگ، توسعه ساقه، رشد ریشه و جذب آب در شرایط کم آبی دچار اختلال می‌شود. گیاهان در سطح سلول و کل اندام‌ها، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی متفاوتی با توجه به میزان تنش خشکی وارد شده نشان می‌دهد (۲۰). فستوکای بلند، با تغییرات مختلف ریخت‌شناسی، از جمله کاهش تعداد روزنه و برگ‌ها، افزایش کرک برگ، افزایش عمق ریشه و گسترش آن از تنش خشکی اجتناب می‌کند (۴۶). طی تنش خشکی در چمن‌هایی مانند فستوکای بلند، سطوح هورمون‌های مربوط به تنش، مانند اسید آبسزیک به‌شدت افزایش و سطوح هورمون‌های مرتبط با رشد و بازایی گیاه مانند سایتوکینین کاهش می‌یابد (۲۸). سایتوکینین هورمون گیاهی است که گستره وسیعی از فرآیندهای حیاتی برای رشد گیاه را تنظیم می‌کند (۵۹). سایتوکینین ابتدا به‌عنوان یک عامل القاء‌کننده تقسیم‌سلولی در کشت‌بافت شناسایی شد اما اکنون به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی در چرخه‌سلولی شناخته می‌شود (۳۸). به‌طورکلی، سایتوکینین نقش منفی در سازگاری گیاهان با تنش دارد، اما این امر همیشگی نیست در واقع شواهدی وجود دارد که سایتوکینین دارای اثرات مثبت و منفی بر تحمل به تنش است (۱۹). به خوبی

- 1- Poaceae
- 2- *Festuca arundinacea* Schreb.
- 3- *Lolium* spp.
- 4- *Poa* spp.

فروکتانز کربوهیدرات‌های محلول در آب<sup>۲</sup> بوده و در برگ‌ها و ساقه تجمع می‌یابند که برای رشد به سرعت مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما کل کربوهیدرات‌های غیرساختاری<sup>۳</sup> شامل کربوهیدرات‌های محلول در آب و نشاسته می‌شود که معیاری برای اندازه‌گیری کربوهیدرات کل می‌باشد (۱۵) که طی تنش گیاه با تبدیل این‌ها به کربوهیدرات‌های محلول در آب تنش را تعدیل می‌کند (۱۵). گزارش شده که کربوهیدرات غیرساختاری در چندین گونه چمن C<sup>۳</sup> در شرایط تنش خشکی افزایش یافته است (۱۲ و ۲۵). بنابراین درک تغییرات ایجاد شده در میزان کربوهیدرات‌های غیرساختاری و کربوهیدرات‌های محلول در آب پیش و پس از محلول‌پاشی با بنزیل‌آدنین در چمن‌های تحت سطوح مختلف تنش خشکی نقش نسبی سایتوکنین‌ها را در رابطه با آسیمیلایون، تخصیص و حتی مصرف کربوهیدرات‌ها آشکارتر خواهد نمود. اخیراً گزارش شده است که کاربرد همزمان اسیدآبسیزیک به‌عنوان بازدارنده رشد به همراه براسینولید می‌تواند باعث تعدیل تنش خشکی در فستوکای بلند شود (۸). در اینجا گزارش می‌شود که کاربرد سایتوکنین به‌عنوان یک محرک رشد در فستوکای بلند، در تعدیل تنش خشکی به کمک تغییر در آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول و غیرمحلول در آب مؤثر عمل می‌کند.

### مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی و شرایط رشد:** این پژوهش روی رقم Mini-Mustang چمن فستوکای بلند در گلخانه شیشه‌ای پژوهشی علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. از یک نمونه بالغ فستوکای بلند در کلکسیون چمن واقع در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی گرگان برای تکثیر

مشخص شده است که گیاهان دارای سایتوکنین بالاتر در بافت خود، نسبت به تنش خشکی مقاومت بیشتری را نشان می‌دهند و همچنین اعمال سایتوکنین خارجی مانند زانتین‌ریبوزاید می‌تواند تحمل چمن‌ها در برابر تنش خشکی را بهبود بخشد (۶۸، ۶۹ و ۷۰). بنابراین منطقی است که بهبود بالانس هورمونی به‌سمت سایتوکنین اثر تنش ایجاد شده را تعدیل نماید. این فرضیه با افزایش بیان ژن *ipt* در بنت‌گراس رونده پیش‌تر اثبات شده است (۳۷). حتی افزایش نسبت سایتوکنین به اسید آبسزیک پس از محلول‌پاشی با سایتوکنین و اثر آن بر روی باز شدن روزنه‌ها بلافاصله پس از آبیاری دوباره کنتاکی بلوگراس تحت تنش مشاهده شده است. گزارش شده که سازگاری گیاه به تنش خشکی شامل تنظیم متابولیسم کربن، تخصیص و استفاده از کربن است (۲۶). برای مقابله با تنش خشکی و سایر تنش‌های غیرزنده، گیاهان یک سری سازوکارها را برای به حداقل رساندن آسیب‌های احتمالی ناشی از این تنش‌ها فعال می‌کنند. یکی از این پاسخ‌های کلی به تنش آبی، حفظ تعادل اسمزی سلول است که مبتنی بر سنتز و تجمع "اسمولیت‌ها" در سیتوپلاسم می‌باشد تا از دهیدراته شدن سلولی جلوگیری کند (۴۴، ۵۷ و ۵۸). اسمولیت‌ها، مانند قندهای محلول یا برخی اسیدهای آمینه، نقش محافظت‌کننده‌های اسمزی را در پاسخ به تنش داشته و باعث حفظ سیالیت غشای پلاسمایی و فعالیت مناسب آنزیم‌ها می‌شوند (۵ و ۴۷). سوکروز رایج‌ترین کربوهیدرات جابجاشونده در گیاهان است. نشاسته و فروکتان<sup>۱</sup> (پلیمری از مولکول‌های فروکتوز می‌باشد) جزء کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای چمن‌هاست. فروکتانز کربوهیدرات غالب ذخیره‌ای در چمن‌های فصل خنک مانند فستوکای بلند است و در چمن‌های فصل گرم، نشاسته اغلب برای این منظور غالب است. گلوکز، فروکتوز، سوکروز و

2- Water-soluble carbohydrates (WSCs)

3- Total non-structural carbohydrates (TNCs)

1- Fructans

$$\theta_m = \frac{m_w}{m_s} * 100 \quad (1)$$

که در آن،  $\theta_m$  درصد رطوبت خاک،  $m_w$  وزن خاک مرطوب با جرم آب و  $m_s$  وزن خاک خشک می‌باشد. برای کنترل وزن خشک بوته‌ها هر تیمار رطوبتی دارای گلدان اضافی بود تا وزن خشک بوته‌ها به وزن خشک گلدان‌ها اضافه شده و مقدار صحیحی از آب در زمان اعمال تیمارهای رطوبتی به هر گلدان به‌دلیل تبخیر اختصاص یابد. در شروع آزمایش تمامی گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی نگهداری شدند و سپس آبیاری قطع گردید و از گلدان‌ها در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ که به ترتیب ظرفیت زراعی خاک گلدان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد بود نمونه‌برداری انجام گرفت (۷۱). محلول‌پاشی برگ‌ی با استفاده از بنزیل آدنین<sup>۲</sup> (شرکت سیگما، Cas#1214-39-7) روی گیاهان تحت تنش خشکی ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مزرعه صورت گرفت. تیمار ۷ روز پس از شروع تنش با استفاده از بنزیل آدنین با غلظت ۵۰ میکرومولار در بازه ۷ روزه در ۳ نوبت صورت گرفت. محلول‌پاشی در ساعات اولیه صبح انجام و در هر بار محلول‌پاشی سعی شد تمام برگ‌ها خیس شوند. در گیاهان شاهد و تحت تنش خشکی، محلول‌پاشی با آب روی سطح برگ انجام شد. زمان انجام این پژوهش اوایل بهار بود. نمونه‌برداری از برگ‌های بالغ میانی صورت گرفت. در زمان‌های نمونه‌برداری از گلدان‌های شاهد که در حد ظرفیت مزرعه بودند نیز نمونه‌برداری به‌عنوان شاهد صورت گرفت. نمونه‌های برداشت‌شده از برگ بلافاصله در ازن مایع فریز و سپس به فریزر ۸۰- منتقل و تا زمان انجام اندازه‌گیری در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

غیرجنسی استفاده شد. نمونه‌های جداشده از گیاه مادری<sup>۱</sup> در ابتدا در لیوان‌های پلاستیک کوچک ریشه‌دار و پس از ۳ ماه به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر منتقل شد. گلدان‌ها با خاک برداشت شده (وزن مشخص) از ۱۰ تا ۲۰ سانتی‌متری سطح خاک دانشکده پر شدند و در ته گلدان از سبوس برنج برای زهکش استفاده شد. تا استقرار کامل چمن‌ها (۵ ماه)، آبیاری بر اساس نیاز و به مقدار کافی به‌نحوی که آب از ته گلدان‌ها خارج شود انجام گرفت.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل شده در اواخر زمستان ۹۷ با دمای کمینه و بیشینه به‌ترتیب ۱۶ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد با میزان تغییرات ۵ درجه همراه با رطوبت نسبی ۶۰ درصد در گلخانه نگهداری شدند که شامل تیمارهای آبیاری در چهار سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مزرعه) بود که علاوه بر تیمارهای ذکر شده گلدان‌هایی با تیمار آبیاری مشابه برای محلول‌پاشی با بنزیل آدنین نیز وجود داشت. گلدان‌ها با استفاده از ترازو به‌صورت هم‌وزن از خاک پر شدند. یک نمونه از خاک مورد استفاده با آب به حالت اشباع درآمد و سپس در داخل چهار لوله آزمایش قرار داده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه با ۴۹۰۰ دور سانتریفیوژ گردید تا آب ثقلی آن جدا گردد بعد از جدا نمودن آب ثقلی، خاک داخل هر چهار لوله وزن گردید و سپس به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید و دوباره وزن گردید. در نهایت با کسر نمودن وزن خشک خاک از وزن مرطوب خاک، درصد رطوبت در حد ظرفیت زراعی از رابطه زیر به‌دست آمد (۴۰).

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil used in this experiment.

هدایت الکتریکی (dS/m)	اسیدیته (pH)	درصد اشباع	لای (%)	ماسه (%)	رس (%)	بافت خاک
Electrical conductivity	Acidity	Saturation percentage	Silt	Sand	Clay	Soil texture
0.56	7.40	27.48	36	59	5	شنی- لومی Sandy loam

نوری با طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد و پس از رسم منحنی استاندارد ساکارز، محاسبه سوکروز انجام شد.

برای اندازه‌گیری گلوکز ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره الکلی تغلیظ‌شده با ۱/۵ میلی‌لیتر دی‌نیتروسالیسیلیک که به‌عنوان معرف استفاده شد، مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر پتاسیم سدیم تارتارات ۴۰ درصد افزودیم و پس از سرد شدن لوله‌های آزمایش در طول موج ۵۷۵ نانومتر جذب گلوکز خوانده شد (۵۷).

برای اندازه‌گیری فروکتوز ۲ میلی‌لیتر عصاره الکلی تغلیظ‌شده، به‌ترتیب ۱ میلی‌لیتر معرف ری‌سورسینول و ۷ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک رقیق اضافه شد، لوله‌های آزمایش در حمام آب‌گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و پس از آن لوله‌های آزمایش را در آب خنک غوطه‌ور شد تا خنک شوند سپس جذب رنگی هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد، قندهای احیایی با روش میلر (۳۹) اندازه‌گیری شد. میزان فروکتوز بر اساس منحنی استاندارد فروکتوز محاسبه شد.

مجموع سوکروز، گلوکز و فروکتوز به‌عنوان کربوهیدرات‌های محلول در آب در نظر گرفته شد (۱۵).

**اندازه‌گیری کل کربوهیدرات‌های غیرساختاری و اندازه‌گیری نشاسته:** با استفاده از روش مک‌ردی و همکاران (۳۳)، ابتدا بقایای بافتی باقی‌مانده و عاری از قندهای محلول را در میکروتیوب ریخته و ۰/۲

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های غیرساختاری و کربوهیدرات‌های محلول در آب

تهیه عصاره الکلی برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول در آب: با استفاده از روش اوموکولو و همکاران (۴۲) ۴۰ میلی‌گرم از برگ فستوکای بلند را در هاون چینی ریخته و با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد کوبیده و در لوله‌های پلی‌اتیلنی ریخته سپس به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. عصاره الکلی به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول شفاف حاوی قندهای محلول در لوله آزمایش دیگری ریخته شد و سپس این عمل بر روی بقایای گیاهی باقی‌مانده چهار بار تکرار شد. عصاره الکلی با حرارت تغلیظ شده و حجم آن به یک پنجم حجم اولیه رسیده سپس برای از بین بردن کلروفیل با نسبت ۱ به ۵ با کلروفورم مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و فاز بالایی آن جدا و برای اندازه‌گیری قندهای محلول استفاده گردید.

برای محاسبه سوکروز بر اساس روش هندل (۲۲) به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره الکلی تغلیظ‌شده، هیدروکسید پتاسیم ۳۰ درصد به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر افزودیم، سپس آن‌ها را برای مدت زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار دادیم. ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون را پس از سرد شدن لوله‌های آزمایش به آن اضافه نمودیم و به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم، سپس جذب

(۳)

$$\text{Total chlorophyll (mg/g FW)} = 20.2 (A645) - 8.02 (A663) \times (V/1000 W)$$

**فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز:** به‌طور خلاصه میزان فعالیت آلفا و بتا آمیلاز به کمک نشانگر رنگی ۳-۵ دی‌نیترو سالیسیلیک اسید و محلول نشاسته ۱ درصد و عصاره در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۳).

**آنالیز داده‌ها:** این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در هر تیمار در گلخانه انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

### نتایج و بحث

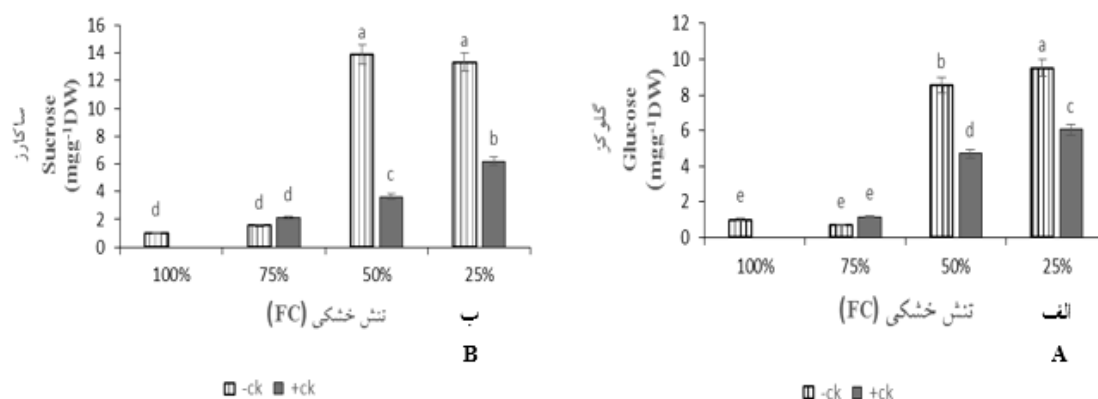
اثر تعدیل‌کنندگی سایتوکینین خارجی در کاهش مصرف کربوهیدرات‌های محلول در آب تحت تنش شدید غلظت سوکروز و گلوکز به‌عنوان یک کربوهیدرات محلول در آب با افزایش تنش خشکی در ۲۵ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به‌شدت افزایش نشان می‌دهد که افزایش به شکل معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد از گیاهان رشد یافته در ۷۵ درصد و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) بیش‌تر است. نکته قابل‌تأمل به‌دست آمده از نتایج این است که گیاهانی که نیز با سایتوکینین تیمار شده بودند، این افزایش در میزان سوکروز را نسبت به گیاه شاهد تجربه نمودند اما محلول‌پاشی برگی سایتوکینین به شکل معنی‌داری سطوح گلوکز و فروکتوز برگ را به نصف مقدار مشاهده شده در تنش ۲۵ درصد و ۵۰ درصد رسانده است (شکل ۱) و از طرفی با طولانی شدن دوره تنش غلظت سوکروز نیز در گیاه افزایش یافت.

میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده و در یخ نگهداری شدند و بلافاصله به آن ۰/۲۶ میلی‌لیتر اسیدپرکلریک ۵۲ درصد اضافه شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در یخ نگهداری شدند، سپس ۰/۴ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۵۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ را انجام شد و فاز بالایی را به درون لوله آزمایش منتقل گردیده و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. استخراج را دوباره برای رسوبات باقی‌مانده انجام گرفت و به آن ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر ۰/۱۳ میلی‌لیتر اسید پرکلریک ۵۲ درصد افزوده شد و پس از سانتریفیوژ، فاز بالایی را درون لوله آزمایش ریخته و حجم آن را با آب مقطر به ۱ میلی‌لیتر رساندیم و از آن برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده گردید. ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره حاوی نشاسته را با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط گردید و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس بعد از سرد شدن لوله‌های آزمایش جذب نور در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد. حال کل کربوهیدرات‌های غیرساختاری از رابطه زیر محاسبه می‌شود (۱۵، ۲۶ و ۳۳).

$$(۲) \text{ WSCs} + \text{نشاسته} = \text{کل کربوهیدرات‌های غیرساختاری}$$

**محاسبه کلروفیل کل:** محاسبه کلروفیل کل برگ‌های بالغ فستوکای بلند بر اساس روش Non Maceration (۲۴) انجام شد. بدین‌منظور ۰/۵ میلی‌گرم از برگ تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفواکساید<sup>۱</sup> غوطه‌ور شد و به‌مدت ۴ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب نوری عصاره‌های برگی در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ اندازه‌گیری شد و با قرارگیری اعداد به‌دست آمده در رابطه زیر کلروفیل کل محاسبه شد.

1- Dimethyl sulfoxide

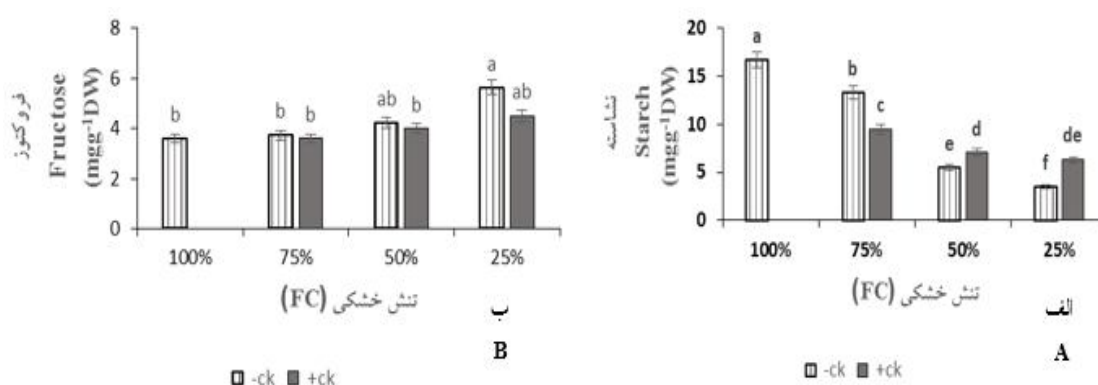


شکل ۱- اثر تنش‌های خشکی مختلف بر محتوای گلوکز (الف) و ساکارز (ب) برگ‌ها در حضور یا عدم حضور بنزیل‌آدنین (Ck). حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig. 1. Effects of different drought stress regimes on glucose (A) and sucrose (B) content of tall fescue leaves in presence and absence of 6-Benzylaminopurine. Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at  $P \leq 0.05$ .

شاهد بدون تغییر مانده است. محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین در گیاهانی که تحت تنش ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه بودن توانست سطح فروکتوز برگ را به حد شاهد کاهش دهد (شکل ۲). افزایش مشاهده شده در میزان گلوکز، سوکروز و تا حدی کم‌تر در فروکتوز می‌تواند در نتیجه تجزیه نشاسته و تبدیل آن به قندهای ساده‌تر به‌خصوص گلوکز باشد (شکل ۲).

تیمار بنزیل‌آدنین در تنش ۷۵ درصد ظرفیت زراعی نه با گیاه شاهد و نه گیاهان تحت تنش ۷۵ درصد ظرفیت زراعی فاقد تیمار بنزیل‌آدنین، تفاوتی در میزان قندهای محلول ایجاد نکرد. بررسی میزان فروکتوز برگ نشان می‌دهد که تنها چمن‌های قرار گرفته در تنش شدید ۲۵ درصد ظرفیت زراعی یک افزایش معنی‌دار را در میزان فروکتوز تجربه می‌کنند در حالی‌که در تنش‌های دیگر این میزان نسبت به



شکل ۲- اثر تنش‌های خشکی مختلف بر میزان الف- نشاسته و ب- فروکتوز برگ‌ها در حضور یا عدم حضور بنزیل‌آدنین (Ck). حروف مشترک بیان‌کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig. 2. Effects of different drought stress regime on starch (A) content and fructose (B) of tall fescue leaves in presence and absence of 6-Benzylaminopurine. Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at  $P \leq 0.05$ .

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات ساکارز، گلوکز، فروکتوز و نشاسته.

**Table 2. Analysis of variance in sucrose, glucose, fructose and starch.**

میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی df	منبع تغییرات S.O.V
نشاسته Starch	فروکتوز Fructose	گلوکز Glucose	ساکارز Sucrose		
175.6**	2.71**	17.47**	124.23**	3	تنش خشکی Drought stress
0.12 <sup>ns</sup>	0.85 <sup>ns</sup>	79.14**	105.73**	1	محلول‌پاشی Foliar application
12.54**	0.41 <sup>ns</sup>	7.66**	42.90**	3	برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی Interaction of drought and foliar application
0.62	0.53	0.13	0.33	16	خطا Error
0.51	0.22	0.77	0.87		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

\*\* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و غیرمعنی‌دار.

Significant and non-significant at 5% probability level.

است که توقف ساخت نشاسته در تنش خشکی پیش‌تر گزارش شده است (۱۲). در گونه C4 نوعی ارزن<sup>۱</sup> کاهش میزان سوکروز و نشاسته در طول تنش خشکی کوتاه‌مدت مشاهده شد، اما در تنش‌های طولانی‌مدت خشکی، افزایش سوکروز مشاهده شد (۵۸). در چمن کنتاکی بلوگراس میزان فروکتان و نشاسته کاهش یافت در حالی‌که سوکروز و قندهای احیایی (فروکتوز و گلوکز) با دوره طولانی‌مدت (۱۰ روزه) تنش خشکی افزایش یافته است. علاوه بر این، تجمع سوکروز با مقاومت بیشتر به تنش خشکی در ارقام مقاوم به خشکی همراه بود (۶۲) که هم‌راستا با نتایج حاصل از این پژوهش است. تجمع سوکروز در شرایط تنش خشکی با حفظ فعالیت بالاتر سوکروز فسفات سنتاز<sup>۲</sup> و سوکروز سنتاز<sup>۳</sup> و فعالیت‌های کم‌تر اسید اینورتاز<sup>۴</sup> در فستوکای بلند (۱۷) و کنتاکی بلوگراس (۶۲) همراه بود. به‌نظر

میزان نشاسته با شدت یافتن تنش خشکی حتی در حضور تیمار بنزیل‌آدنین کاهش یافت و بیش‌ترین مقدار نشاسته مربوط به گیاه شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) می‌باشد (شکل ۲). نشاسته به قندهای احیایی و غیراحیایی شکسته می‌شود در نتیجه میزان گلوکز و فروکتوز و سوکروز افزایش و مقدار نشاسته کاهش می‌یابد. تجمع کربوهیدرات‌ها تحت تنش خشکی ممکن است ناشی از مهار رشد قبل از کاسته شدن از میزان فتوسنتز (۷) و تجزیه مواد ذخیره‌ای برای تامین قند در فرایند گلیکولیز برای تولید ATP باشد. تا تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی کاهش در میزان نشاسته حتی در گیاهان تحت تیمار بنزیل‌آدنین مشهود است اما در تنش‌های شدیدتر و زمانی که تعداد دوره‌های محلول‌پاشی با بنزیل‌آدنین افزایش می‌یابد بنزیل‌آدنین به‌صورت معنی‌داری کاهش معنی‌دار در نشاسته را در تنش ۵۰ درصد و ۲۵ درصد زراعی جبران می‌کند. که این امر بیانگر بهبود جریان کربن به‌سمت تولید نشاسته در اثر تعدیل تنش خشکی به‌وسیله سایتوکنین می‌باشد. این در حالی

- 1- *Setaria sphacelata*
- 2- Sucrose phosphate synthase (SPS)
- 3- Sucrose synthase (SS)
- 4- Acid invertase

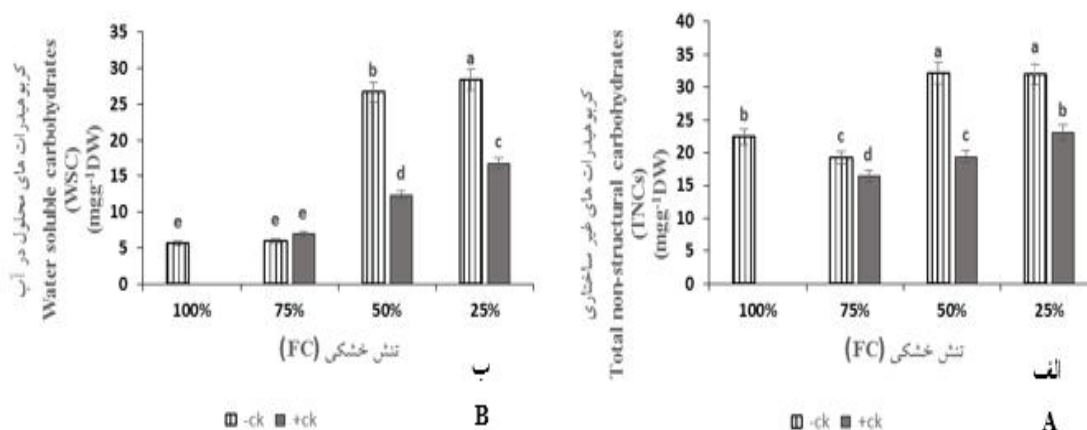


می‌توان نتیجه گرفت که تیمار بنزیل‌آدنین که باعث بهبود مقاومت به تنش خشکی می‌شود و میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب را به‌طور قابل‌توجهی نسبت به گیاهان تیمارنشده با سایتوکینین به نصف کاهش می‌دهد (شکل ۳). طی تنش شدید خشکی که حالت گرسنگی در سلول رخ می‌دهد سیگنال TP6 کاهش و SnPK1 فعال شده و این امر باعث انتقال یا تجزیه نشاسته سلول به نقاط نیازمند به این منبع انرژی می‌شود (۴۳). نتایج نشان می‌دهد که تیمار بنزیل‌آدنین از این تقسیت و جریان نشاسته به سود سوکروز جلوگیری می‌کند اما نحوه جلوگیری از این تبدیل تا حدی به‌وسیله کاهش فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا‌امیلاز قابل‌توجه است اما جزئیات بیشتری از دیگر آنزیم‌های دخیل در این فرایند و سطح بیان ژن‌های آن‌ها لازم می‌باشد (۴، ۲۱ و ۶۳). انتقال دائمی ژن ایزوپنتنیل ترانسفراز<sup>۱</sup> به چمن بنت‌گرس‌خزنده که موجب افزایش محتوای سایتوکینین درونی شد، منجر به تجمع فروکتوز، گلوکز، گالاکتوز و مالتوز بیش‌تری از گیاهانی که ژن ایزوپنتنیل ترانسفراز به آن‌ها منتقل نشده بود گردید. محتوای سوکروز به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در شرایط آبیاری شده و تحت تنش خشکی در گیاهان تراریخته در مقایسه با گیاهان غیرتراریخته بیش‌تر بود (۳۶)، این امر می‌تواند به دلیل فعالیت‌های بیش‌تر فتوسنتزی، افزایش سطح پروتئین‌های درگیر در برداشت نور، تثبیت کربن و هم‌چنین سایر پروتئین‌های درگیر در سوخت و ساز قند در شرایط تنش خشکی ناشی از سایتوکینین<sup>۲</sup> بالا باشد (۳۴، ۳۵ و ۳۷). اثر تنش خشکی در افزایش کربوهیدرات‌های محلول در آب در گونه‌های غیرچمنی نیز گزارش شده است (۲۹).

می‌رسد که این میزان بالای کربوهیدرات‌های محلول در آب تولید شده در برگ هم ATP مورد نیاز برای مقابله با تنش خشکی را مهیا می‌کند و از سوی دیگر به دلیل ویژگی تنظیم اسمزی، از هدررفت آب برگ ممانعت می‌نماید. ژانگ و همکاران (۶۶)، گزارش نمودند که پیری برگ القاء شده در چمن *Lolium perenne* L. به‌وسیله تنش گرمایی با کاربرد بنزیل‌آدنین تعدیل می‌شود. آن‌ها نقش سایتوکینین در حفظ کلروفیل برگ را با اهمیت‌تر از نقش آن در حفظ آب سلول دانستند. در گزارش‌های دیگر طی تنش‌های کم‌آبایی بر روی *Agropyron cristatum*، میزان پرولین تولیدشده در برگ با شدت تنش رابطه مستقیمی نشان می‌داد به شکلی که تنش‌های شدیدتر خشکی باعث تولید پرولین بیش‌تری شد (۴۹ و ۵۰). ارتباط بین پرولین به‌عنوان یک ترکیب سازگار با سوخت و ساز در حفظ فشار اسمزی سلول و تحمل به تنش خشکی در فستوکای بلند به‌وسیله دیگران نیز گزارش شده است (۴۸). هم‌چنین در پژوهش حاضر کاهش میزان پرولین داخلی برگ در اثر تیمار سایتوکینین در تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی در فستوکای بلند مشاهده شد (داده‌های منتشر نشده). نکته جالب توجه این است که در شرایط تنش شدید، هورمون سایتوکینین فراهم شده در برگ به‌وسیله محلول‌پاشی به دلیل تعدیل تنش خشکی از نیاز بیش‌تر برگ به کربوهیدرات‌های محلول در آب می‌کاهد (شکل ۳). اسپولن و نلسون (۵۳)، هم‌چنین از کاهش میزان فروکتان در فستوکای بلند تحت تنش خشکی خبر دادند. دلیل دیگری که برای افزایش محتوای سوکروز برگ فستوکای بلند وجود دارد این است که این امر به‌خاطر هیدرولیز فروکتان و نشاسته تحت تنش خشکی یا مهار تبدیل سوکروز به فروکتان تری‌ساکارید به‌وسیله جلوگیری از فعالیت سوکروز، سوکروز فروکتوزیل ترانسفراز یا حفظ فعالیت‌های آنزیمی درگیر در سنتز سوکروز می‌باشد (۲۷).

1- Isopentenyl transferase (*ipt*)

2- Cytokinin

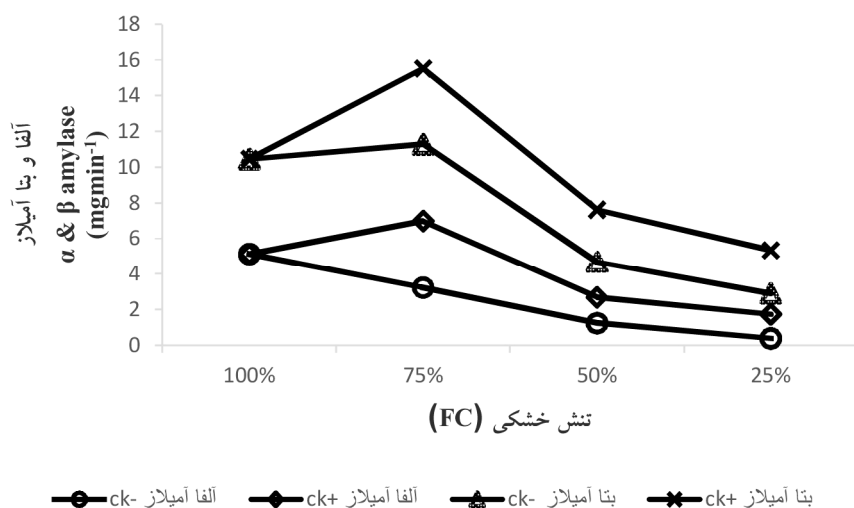


شکل ۳- اثر تنش‌های خشکی مختلف بر میزان کربوهیدرات‌های غیرساختاری (الف) و کربوهیدرات‌های محلول در آب (ب) برگ‌ها در حضور یا عدم حضور بنزیل‌آدنین (Ck). حروف مشترک بیان‌کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  با استفاده از آزمون دانکن است.

**Fig. 3. Effects of different drought stress regime on TNCs (A) and WSCs (B) content of tall fescue leaves in presence and absence of 6-Benzylaminopurine. Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at  $P \leq 0.05$ .**

فسفوریل‌لاز و گلوکان و اتر دی‌کیناز (۱۳) در سلول‌های برگ خواهد بود. البته تا حدودی کاهش نشاسته دیده شده در تنش ۵۰ درصد را می‌توان به دلیل فعالیت این دو آنزیم در تنش ۷۵ درصد دانست، زیرا افزایش فعالیت آنزیمی که در تنش ۷۵ درصد رخ داده است به تدریج باعث تبدیل نشاسته به قندهای ساده‌تر شده و فعالیت خود آنزیم در تنش‌های بالاتر کاهش می‌یابد. بنابراین ممکن است اثر فعالیت این آنزیم در تنش ۷۵ درصد نتیجه خود را کمی با وقفه، یعنی در تنش ۵۰ درصد نشان داده باشد. البته این نکته را نباید از نظر دور داشت که این تجزیه بیش‌تر طی شب رخ می‌دهد. نکته قابل‌توجه دیگر این است که در فستوکای بلند هم‌چنین آنزیم بتا‌آمیلاز نسبت به آلفا‌آمیلاز دارای فعالیت بیش‌تری است (شکل ۴) که قادر است نشاسته را به مالتوز تبدیل کند. مالتوز و گلوکز تولید شده در پلاستیدها پس از انتقال به سیتوزول، هگزوز فسفات لازم برای مسیرهای متابولیکی مختلف را فراهم می‌کنند (۱۸).

فعالیت دو آنزیم آلفا و بتا‌آمیلاز که در تجزیه نشاسته دخیل می‌باشند با شدت یافتن تنش نسبت به شاهد کاهش می‌یابد، اما در طی دوره تنش خشکی همیشه فعالیت این دو آنزیم در فستوکای بلند تحت تیمار بنزیل‌آدنین، بیش‌تر از چمن‌هایی بودند که تحت تیمار بنزیل‌آدنین نبودند. این موضوع تا حدودی اثر تعدیل‌کنندگی این هورمون در کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های درگیر در آسیمیلایسیون قندها را نشان می‌دهد. نکته دیگری که قابل‌فهم است این است که در ظرفیت زراعی ۷۵ درصد که فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا‌آمیلاز افزایش می‌یابد، تجزیه نشاسته نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری تسریع می‌شود اما تجزیه بیش‌تر نشاسته برگ که در تنش‌های ۵۰ درصد و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی دیده می‌شود، هم‌راستا با افزایش فعالیت این دو آنزیم نیست (شکل ۲). بنابراین تجزیه بیش‌تر نشاسته که در تنش‌های شدیدتر مشاهده می‌شود به احتمال زیاد مربوط به فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده دیگری مانند آلفا گلوکان



شکل ۴- اثر تنش‌های خشکی مختلف بر فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز برگ در حضور یا عدم حضور بنزیل‌آدنین (Ck). حروف مشترک بیان‌کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig. 4. Effects of different drought stress regime  $\alpha$ -amylases and  $\beta$ -amylase of tall fescue leaves in presence and absence of 6-Benzylaminopurine. Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at  $P \leq 0.05$ .

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات کربوهیدرات‌های محلول در آب، کربوهیدرات‌های غیرساختاری، آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز.

Table 3. Analysis of variance in water soluble carbohydrate, total non-structural carbohydrate,  $\alpha$ -amylases and  $\beta$ -amylase.

میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی df	منبع تغییرات S.O.V
بتا آمیلاز $\beta$ -Amylase	آلفا آمیلاز $\alpha$ -Amylase	کربوهیدرات‌های غیرساختاری TNCs	کربوهیدرات‌های محلول در آب WSCs		
15.80**	23.36**	108.27**	461.39**	3	تنش خشکی Drought stress
1.84**	1.14**	225.95**	236.76**	1	محلول‌پاشی Foliar application
0.65**	0.26 <sup>ns</sup>	49.98**	93.18**	3	برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی Interaction of drought and foliar application
0.04	0.10	0.77	0.50	16	خطا Error
0.44	0.69	0.25	0.63		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و غیرمعنی‌دار.

Significant at 5% probability level.

نداد. امانت‌یج بسیار جالب در دوره‌های سوم و چهارم محلول‌پاشی روی گیاهانی که تنش شدیدی را متحمل شده بودند مشاهده شد. این گیاهان به تدریج و به‌طور مشهودی کلروفیل خود را احیاء نموده و میزان کلروفیل خود را به سطح تنش ۷۵ درصد ظرفیت زراعی رساندند (جدول ۴). این بازگشت سبزینه به‌طور مستقیم به نقش سایتوکینین‌ها در جلوگیری از تجزیه و احیاء کلروفیل و ممانعت از پیری در گیاهان مربوط است (۶۸).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های مربوط به محتوای کلروفیل برگ نشان داد که با کاهش سطح آبیاری مقدار کلروفیل برگ روند کاهشی داشته است. بیش‌ترین مقدار کلروفیل برگ مربوط به تیمار گلدان‌های ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه و کم‌ترین مقدار کلروفیل مربوط به ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه بود. محلول‌پاشی سایتوکینین در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در مقایسه با شاهد تحت تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه، اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل نشان

جدول ۴- محتوای کلروفیل برگ فستوکای بلند تحت تنش خشکی و تیمار بنزیل‌آدنین.

Table 4. Chlorophyll content of tall fescue leaves subjected to drought stress and cytokinin treatment.

100	75	50	25	ظرفیت مزرعه (%) Field capacity
0.64 <sup>a</sup>	0.57 <sup>ab</sup>	0.45 <sup>bc</sup>	0.40 <sup>c</sup>	تنش بدون محلول‌پاشی Stress without treatment
-	0.66 <sup>a</sup>	0.42 <sup>c</sup>	0.57 <sup>ab</sup>	تنش همراه با محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین (Ck) Stress with treatment

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمون Duncan تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at  $P \leq 0.05$ .

ملازم در آراییدوپسیس‌های جهش‌یافته مشاهده شد که با کاهش فعالیت  $\beta$ -آمیلاز در سلول‌های نگهبان روزنه همراه بود. این مسیر، محتوای نشاسته را تحت تنش خشکی حفظ کرد، زیرا حداقل تخریب قند وجود داشت (۴۵ و ۵۸) وجود قند کم‌تر در سلول‌های نگهبان روزنه این جهش‌یافته‌ها باعث کاهش باز شدن روزنه، کاهش هدررفت آب و در نتیجه پاسخ به تنش خشکی بهتری می‌شود. نمونه دیگر را می‌توان در دانه‌های برنج مقاوم به خشکی مشاهده کرد. به این‌صورت که دانه‌های تحت تنش خشکی دارای نشاسته کم‌تری در ساقه و برگ‌ها و میزان بیش‌تری ماده خشک و قند محلول در ریشه بودند (۳۲). دو و همکاران (۱۴) با مطالعه بر روی چمن برم‌داگراس تحت تنش خشکی کوتاه و بلندمدت مشاهده نمودند که قندهای مهم محلول در آب مانند ساکارز، گلوکز

در بسیاری از گونه‌ها طی تنش سطوح کلروفیل کاهش یافته یا تغییر نکرده است که این بسته به مدت زمان و شدت تنش خشکی دارد (۶۷). فو و هوانگ (۱۶) بیان کردند که مقدار کلروفیل در چمن فستوکای بلند و کنتاکی بلوگراس تحت تنش ملازم کاهش نمی‌یابد ولی در تنش‌های شدید کاهش می‌یابد.

کاهش نشاسته و افزایش قندها طی تنش‌های کم‌آبیاری در گیاهان می‌تواند یا به دلیل کاهش بیوسنتز نشاسته یا تجزیه بیش‌تر نشاسته به قندها باشد (۵۹). تنش خشکی باعث فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته شده و منجر به افزایش قند می‌شود که این تغییر فعالیت آنزیمی با نوع تنش و شدت آن و گونه گیاهی متفاوت می‌باشد. این آنزیم‌ها شامل  $\alpha$ -گلوکان فسفریلاز (۶۵)،  $\alpha$ -آمیلاز ۳ (۵۷) و  $\beta$ -آمیلاز ۱ (۶۴) هستند. افزایش تجمع نشاسته تحت تنش خشکی

تخریب‌کننده سایتوکینین می‌گردد (۷۱). بررسی‌های صورت گرفته تا زمان نوشتن این مقاله نشان از فقدان درک درست اثر سایتوکینین خارجی در تغییر میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و کل کربوهیدرات‌های غیرساختاری در برگ فستوکای بلند تحت تنش‌های متفاوت خشکی در شرایط گلخانه دارد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که کاهش شدید محتوای آب خاک و سپس آب گیاه (تنش ۵۰ درصد و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) به شدت باعث تجزیه کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای فستوکای بلند و فراهم نمودن قندهای محلول در آب، هم برای حفظ هموستازی برگ و هم تولید ATP بیش‌تر برای کمک به تحمل تنش خشکی خواهد شد.

### نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این بررسی نشان می‌دهد که کاربرد ۵۰ میکرومولار بنزیل‌آدنین به‌عنوان یک محرک رشد در فستوکای بلند، در تعدیل تنش خشکی به کمک تغییر در آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول و غیرمحلول در آب مؤثر عمل می‌نماید.

این تیمار باعث احیاء کلروفیل برگ و بهبود فتوسنتز در تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی شد و از تجزیه بیش‌تر نشاسته و تبدیل شدن آن به فروکتوز، گلوکز و ساکارز کاست و با این روش سعی در حفظ منابع کربوهیدراتی گیاه نمود. اگرچه که میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و کربوهیدرات‌های غیرساختاری و آنزیم‌ها در بافت‌های ذخیره‌ای دیگر مانند طوقه و ریشه مورد بررسی قرار نگرفته اما نتایج این گزارش، مسیر جدیدی برای درک درست تخصیص و آسیمیلایون کربن در برگ‌های فستوکای بلند متأثر از سایتوکینین خارجی را طی تنش خشکی آشکار می‌نماید.

روند افزایشی قابل‌توجهی داشتند، به‌خصوص ساکارز، که محتوای نسبی آن در مقایسه با کنترل ۲۷ برابر افزایش نشان می‌داد. این افزایش در قندهای محلول در آب ناشی از تجزیه نشاسته می‌باشد. همچنین براساس پژوهش زو و همکاران (۶۱) مشخص شد که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش غلظت قندهای محلول در آب در ریشه‌ها و برگ‌های گونه‌های مختلف برنج حساس به تنش خشکی می‌شود اما در گیاهان مقاوم به تنش، تغییری ایجاد نشد. تنش خشکی همچنین می‌تواند باعث افزایش تخصیص کربن به اندام‌های زایشی گیاه برای ذخیره‌سازی نشاسته شود. به‌عنوان مثال، در شرایط تنش کم‌آبایی، نشان داده شد که در لوبیاهای مقاوم به تنش خشکی، کربن از برگ‌ها به سمت بذرها جریان می‌یابد، در حالی‌که در رقم‌های حساس این اتفاق نمی‌افتد (۱۱). در مطالعات لیو و همکاران (۳۱) روی غلاف و برگ سویا مشاهده شد که تنش خشکی باعث کاهش غلظت نشاسته و ساکارز و افزایش میزان گلوکز و فروکتوز در برگ سویا شد و در غلاف میزان ساکارز، گلوکز و فروکتوز نسبت به گیاه کنترل افزایش پیدا کرد. تغییرات در محتوای سایتوکینین ممکن است موجب تغییر تجمع فرم‌های مختلف کربوهیدرات‌ها شده و منجر به بهبود تحمل به خشکی شود، اگرچه همه گونه‌ها ممکن است در پاسخ به افزایش سایتوکینین تجمع همان نوع کربوهیدرات‌ها را نشان ندهند (۳۴). افزایش و تجمع قندهای محلول در سلول، باعث حفظ فشار اسمزی در برگ گیاه شده و جذب آب را تحت تنش خشکی تسهیل می‌نماید. همچنین شرایط رشد گیاه را با حفظ تورژسانس ممکن می‌سازد (۶۰). در رابطه با اثر تیمارهای هورمونی دیگر بر روی برگ فستوکای بلند، مشخص شده که محلول‌پاشی برگ ۲۵ میکرومولار اسید جیبرلیک میزان پنجه‌زنی را با کاهش میزان سایتوکینین درونی کاسته و منجر به افزایش بیان ژن‌های

منابع

1. Adamipour, N., Salehi, H. and Khosh-Khui, M. 2017. Investigation of Morphological and Physiological Indices in Bermudagrass (*Cynodon dactylon* [L.] Pers.), Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and Their Seed Mixtures under Drought Stress. Iranian J. Hort. Sci. Tech. 18: 1. 15-32.
2. Beard, J.B. 1973. Cool season turfgrasses. Turfgrass: Science and Culture. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, Pp: 54-131.
3. Bernfeld, P. 1955. Methods in enzymology, 1: 149.
4. Bledsoe, S.W., Henry, C., Griffiths, C.A., Paul, M.J., Feil, R., Lunn, J.E. and Lagrimini, L.M. 2017. The role of Tre6P and SnRK1 in maize early kernel development and events leading to stress-induced kernel abortion. BMC Plant Biol. 17: 1. 74.
5. Blum, A. 2011. Plant breeding for water-limited environments. Plant Breed. Water Limited Environ. Pp: 1-255.
6. Carrow, R.N. 1996. Drought avoidance characteristics of diverse tall fescue cultivars. Crop Sci. J. 36: 2. 371-377.
7. Chaves, M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. J. Exp. Bot. 42: 1. 1-16.
8. Chen, Z., Wang, Z., Yang Y., Li, M. and Xu, B. 2018. Abscisic acid and brassinolide combined application synergistically enhances drought tolerance and photosynthesis of tall fescue under water stress. Sci. Hort. 228: 2018. 1-9.
9. Cougnon, M., Baert, J., Van Waes, C. and Reheul, D. 2014. Performance and quality of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and mixtures of both species grown with or without white clover (*Trifolium repens* L.) under cutting management. Grass and For. Sci. J. 69: 4. 666-677.
10. Cross, J.W., Bonos, S.A., Huang, B. and Meyer, W.A. 2013. Evaluation of heat and drought as components of summer stress on tall fescue genotypes. Hort. Sci. 48: 1562-1567.
11. Cuellar-Ortiz, S.M., Arrieta-Montiel, M.D., Acosta-Gallegos, J. and Covarrubias, A.A. 2008. Relationship between carbohydrate partitioning and drought resistance in common bean. Plant Cell Environ. 31: 10. 1399-1409.
12. DaCosta, M. and Huang, B. 2006. Osmotic adjustment associated with variation in bentgrass tolerance to drought stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131: 3. 338-344.
13. Dong, S. and Beckles, D.M. 2019. Dynamic changes in the starch-sugar interconversion within plant source and sink tissues promote a better abiotic stress response. J. Plant Phys. 234: 80-93.
14. Du, H., Wang, Z., Yu, W. and Huang, B. 2012. Metabolic responses of hybrid bermudagrass to short-term and long-term drought stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 137: 6. 411-420.
15. Fry, J. and Huang, B. 2004. Advanced Turfgrass Science and Physiology. John Wileys and Sons, New Jersey.
16. Fu, J. and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ. J. Exp. Bot. 45: 105-114.
17. Fu, J., Huang, B. and Fry, J.D. 2010. Osmotic potential, sucrose level, and activity of sucrose metabolic enzymes in tall fescue in response to deficit irrigation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 135: 506-510.
18. Fulton, D.C., Stettler, M., Mettler, T., Vaughan, C.K., Li, J., Francisco, P., Gil, M., Reinhold, H., Eicke, S., Messerli, G., Dorken, G., Halliday, K., Smith, A.M. and Zeeman, S.C. 2008. Beta-AMYLASE4, a noncatalytic protein required for starch breakdown, acts upstream of three active  $\beta$ -amylases in Arabidopsis chloroplasts. Plant Cell. 20: 1040-1058.
19. Ghanem, M.E., Albacete, A., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Romero-Aranda, R., Dodd, I.C. and Pérez-Alfocea, F. 2008. Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). J. Exp. Bot. 59: 11. 3039-3050.

20. González, J.A., Gallardo, M., Hilal, M., Rosa, M. and Prado, F.E. 2009. Physiological responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to drought and waterlogging stresses: dry matter partitioning. *Bot. Stud.* 50: 35-42.
21. Griffiths, C.A. and Paul, M.J. 2017. Targeting carbon for crop yield and drought resilience. *J. Sci. Food Agric.* 97: 14. 4663-4671.
22. Handel, E.V. 1968. Direct micro determination of sucrose. *Anal. Biochem.* 22: 280-283.
23. Hannaway, D., Fransen, S., Cropper, J., Teel, M., Chaney, M., Griggs, T., Halse, R., Hart, J., Cheeke, P., Hansen, D., Klinger, R. and Lane, W. 1999. Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). PNW. 504. Org. State Univ. Ext.
24. Hiscox, J.D. and Israelstam, G.F. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* 57: 1332-1334.
25. Huang, B. and Gao, H. 1999. Physiological responses of diverse tall fescue cultivars to drought stress. *Hort. Sci. J.* 34: 897-901.
26. Huang, B., DaCosta, M. and Jiang, Y. 2014. Research advances in mechanisms of turfgrass tolerance to abiotic stresses: from physiology to molecular biology. *Crit. Rev. Plant Sci.* 33: 2-3. 141-189.
27. Huber, S.C. and Huber, J.L. 1996. Role and regulation of sucrose-phosphate synthase in higher plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 47: 431-444.
28. Jiang, Y. and Huang, B. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning-enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Crop Sci.* 41: 1168-1173.
29. Koźmińska, A., Al Hassan, M., Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E., Boscaiu, M. and Vicente, O. 2019. Responses of succulents to drought: comparative analysis of four *Sedum* (Crassulaceae) species. *Sci. Hort.* 243: 235-242.
30. Lewandowski, I., Scurlock, J.M.O., Lindvall, E. and Christou, M. 2003. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biom. Bioen.* 25: 335-361.
31. Liu, F., Jensen, C.R. and Andersen, M.N. 2004. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. *Field Crop. Res.* 86: 1. 1-13.
32. Luquet, D., Clement-Vidal, A., Fabre, D., This, D., Sonderegger, N. and Dingkuhn, M. 2008. Orchestration of transpiration, growth and carbohydrate dynamics in rice during a dry-down cycle. *Func. Plant Biol.* 35: 8. 689-704.
33. McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* 22: 1156-1158.
34. Merewitz, E., Gianfagna, T. and Huang, B. 2011. Photosynthesis, water use and root viability under water stress as affected by expression of SAG12-ipt controlling cytokinin synthesis in *Agrostis stolonifera*. *J. Exp. Bot.* 62: 383-395.
35. Merewitz, E.B., Du, H., Yu, W., Liu, Y., Gianfagna, T. and Huang, B. 2011. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. *J. Exp. Bot.* 63: 3. 1315-1328.
36. Merewitz, E.B., Du, H., Yu, W., Liu, Y., Gianfagna, T. and Huang, B. 2011. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. *J. Exp. Bot.* 63: 1315-1328.
37. Merewitz, E., Gianfagna, T. and Huang, B. 2010. Effects of SAG12-ipt and HSP18.2-ipt. expression on cytokinin production, root growth and leaf senescence in creeping bentgrass exposed to drought stress. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 135: 230-239.
38. Miller, C.O., Skoog, F., Von Saltza, M.H. and Strong, F.M. 1955. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 77: 5. 1392-1392.
39. Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.* 31: 426-428.

40. Movahedi, N.S.A.R. and Rezaei, M. 2008. Soil physics. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Press, 474p. (In Persian)
41. Ojeda, J.J., Caviglia, O.P., Agnusdei, M.G. and Eriksen, G.E. 2015. Comparative analysis of water productivity between "Tall fescue" (*Festuca arundinacea* Schreb.) and "Oats" (*Avena sativa* L.). In 38<sup>th</sup> Congreso Argentino de Prod. Anim. J. 15: 158-158.
42. Omokolo, N.D., Tsala, N.G. and Djocgoue, P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. Grif. Ann. Bot. 77: 153-158.
43. Paul, M.J., Oszvald, M., Jesus, C., Rajulu, C. and Griffiths, C.A. 2017. Increasing crop yield and resilience with trehalose 6-phosphate: targeting a feast-famine mechanism in cereals for better source-sink optimization. J. Exp. Bot. 68: 16. 4455-4462.
44. Per, T.S., Khan, N.A., Reddy, P.S., Masood, A., Hasanuzzaman, M., Khan, M.I.R. and Anjum, N.A. 2017. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. Plant Physiol. Biochem. 115: 126-140.
45. Prash, C.M., Ott, K.V., Bauer, H., Ache, P., Hedrich, R. and Sonnewald, U. 2015. Beta-amylase1 mutant Arabidopsis plants show improved drought tolerance due to reduced starch breakdown in guard cells. J. Exp. Bot. 66: 19. 6059-6067.
46. Qian, Y.L., Fry, J.D. and Upham, W.S. 1997. Rooting and drought avoidance of warm-season turfgrasses and tall fescue in Kansas. Crop Sci. 37: 905-910.
47. Rabbani, G. and Choi, I. 2018. Roles of osmolytes in protein folding and aggregation in cells and their biotechnological applications. Int. J. Biol. Macromol. 109: 483-491.
48. Sadasivam, S. and Manickam, A. 1992. Biochemical methods for agricultural sciences. Wiley eastern Ltd, New Delhi, Pp: 184-185.
49. Sarmast, M.K., Salehi, H. and Niazi, A. 2015. Biochemical differences underlie varying drought tolerance in four *Festuca arundinacea* Schreb. genotypes subjected to short water scarcity. Acta Physiol. Plant. 37: 192.
50. Sheikh-Mohamadi, M.H., Etemadi, N., Arab, M.M., Aalifar, M. and Arab, M. 2018. Physiological and Ascorbate-Glutathione pathway-related genes responses under drought and heat stress in crested wheatgrass. Sci. Hort. 242: 195-206.
51. Sheikh-Mohamadi, M.H., Etemadi, N., Nikbakht, A., Arab, M., Majidi, M.M., and Pessarakli, M. 2017. Antioxidant defence system and physiological responses of Iranian crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.) to drought and salinity stress. Acta Physiol. Plant. 39: 245.
52. Silva, J.M. and Arrabaca, M. 2004. Contributions of soluble carbohydrates to the osmotic adjustment in the C4 grass *Setaria sphacelata*: A comparison between rapidly and slowly imposed water stress. J. Plant Phys. 161: 551-555.
53. Spollen, W.G. and Nelson, C.J. 1994. Response of fructan to water deficit in growing leaves of tall fescue. Plant Phys. 106: 329-336.
54. Szabados, L. and Savoure, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. Tren. Plant Sci. 15: 2. 89-97.
55. Talukdar, D. 2013. Comparative morpho-physiological and biochemical responses of lentil and grass pea genotypes under water stress. J. Nat. Sci. Biol. Med. 4: 2. 396.
56. Thalmann, M. and Santelia, D. 2017. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. New Phytol. 214: 3. 943-951.
57. Thalmann, M., Pazmino, D., Seung, D., Horrer, D., Nigro, A., Meier, T., Kolling, K., Pfeifhofer, H.W., Zeeman, S.C. and Santelia, D. 2016. Regulation of Leaf Starch Degradation by Abscisic Acid Is Important for Osmotic Stress Tolerance in Plants. Plant Cell. 28: 8. 1860-1878.



58. Valerio, C., Costa, A., Marri, L., Issakidis-Bourguet, E., Pupillo, P., Trost, P. and Sparla, F. 2011. Thioredoxin-regulated beta-amylase (BAM1) triggers diurnal starch degradation in guard cells, and in mesophyll cells under osmotic stress. *J. Exp. Bot.* 62: 2. 545-555.
59. Werner, T., Nehnevajov, E., Koellmer, I., Novak, O., Strnad, M., Kraemer, U. and Schmuelling, T. 2010. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Cell.* 22: 3905-3920.
60. White, D.A., Turner, N.C. and Galbraith, J.H. 2000. Leaf water relations and stomatal behavior of four allopathic eucalyptus species planted in Mediterranean southwestern Australia. *Tree Physiol.* 20: 1157-1165.
61. Xu, W., Cui, K., Xu, A., Nie, L., Huang, J. and Peng, S. 2015. Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 1-11.
62. Yang, Z., Xu, L., Yu, J., DaCosta, M. and Huang, B. 2013. Changes in carbohydrate metabolism in two Kentucky bluegrass cultivars during drought stress and recovery. *Amer. Soc. Hort. Sci. J.* 138: 24-30.
63. Yu, S.M., Lo, S.F. and Ho, T.H.D. 2015. Source-Sink Communication: Regulated by Hormone, Nutrient and Stress Cross-Signaling. *Tren. Plant Sci.* 20: 12. 844-857.
64. Zanella, M., Borghi, G.L., Pirone, C., Thalmann, M., Pazmino, D., Costa, A., Santelia, D., Trost, P. and Sparla, F. 2016. Beta-amylase 1 (BAM1) degrades transitory starch to sustain proline biosynthesis during drought stress. *J. Exp. Bot.* 67: 6. 1819-1826.
65. Zeeman, S.C., Thorneycroft, D., Schupp, N., Chapple, A., Weck, M., Dunstan, H., Haldimann, P., Bechtold, N., Smith, A.M. and Smith, S.M. 2004. Plastidial alpha-glucan phosphorylase is not required for starch degradation in arabidopsis leaves but has a role in the tolerance of abiotic stress. *Plant phys.* 135: 2. 849-858
66. Zhang, J. and Kirkham, M.B. 1996. Enzymatic responses of the ascorbate-gluthathione cycle to drought in sorghum and sunflower plants. *Plant Sci. J.* 113: 139-147.
67. Zhang, J., Xing, J., Lu, Q., Yu, G., Xu, B. and Huang, B. 2019. Transcriptional regulation of chlorophyll-catabolic genes associated with exogenous chemical effects and genotypic variations in heat-induced leaf senescence for perennial ryegrass. *Environ. Exp. Bot.* 167: 1-10.
68. Zhang, X. and Ervin, E.H. 2004. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *Crop Sci. J.* 44: 5. 1737-1745.
69. Zhang, X. and Schmidt, R.E. 1999. Antioxidant response to hormone-containing product in Kentucky bluegrass subjected to drought. *Crop Sci. J.* 39: 2. 545-551.
70. Zhang, X. and Schmidt, R.E. 2000. Hormone-containing products' impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought. *Crop Sci.* 40: 5. 1344-1349.
71. Zhang, X., Goatley, M., Wu, W., Ervin, E. and Shang, C. 2019. Drought-induced injury is associated with hormonal alteration in Kentucky bluegrass. *Plant Sig. Behav.* 14: 10. e1651607.
72. Zhuang, L., Ge, Y., Wang, J., Yu, J., Yang, Z. and Huang, B. 2019. Gibberellic acid inhibition of tillering in tall fescue involving crosstalks with cytokinins and transcriptional regulation of genes controlling axillary bud outgrowth. *Plant Sci.* 287: 110-168.

