Archive of SID

تأثیر بتا آمینوبوتیریک اسید بر محتوای آب نسبی، تنظیم اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش خشکی

ندا محمدی[۱]، امین باقی زاده[۲] و پیمان رجایی[۳]

[۱] کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، باشگاه پژوهشگران و نخبگان

[۲] کرمان، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

[۳] کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، دانشکده علوم

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۱۶

چکیده

طیف وسیعی از اثرات حفاظتی اسید آمینه غیرپروتیئنی بتا آمینوبوتیریک اسید در برابر تنش‌های گیاهی در گزارشهای مختلف ذکر شده است. در این تحقیق تأثیر برهم‌کنش بین بتا آمینوبوتیریک اسید (0,300µM) و تنش خشکی (شاهد، تنش ملایم و شدید) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد وقتی گیاه کلزا تحت تنش خشکی قرارگرفت، ثابت پایداری غشاء (MSI) و محتوای آب نسبی (RWC) و محصولات پراکسیداسیون لیپیدی افزایش یافت. پیش تیمار گیاهان با بتا آمینوبوتیریک اسید باعث افزایش درصد MSI و RWC و کاهش مقدار آلدهیدها در برگ گیاهان تحت تنش گردید. تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار مقدار پراکسید هیدروژن در گیاه کلزا شد. مقدار پراکسید هیدروژن در برگ گیاهان تیمار شده با BABA کاهش معنی‌داری یافت. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش اما فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش نشان داد. در گیاهانی که با بتا آمینو بوتیریک اسید پیش تیمار شده و بعد تحت تنش خشکی قرار گرفته بودند، فعالیت کلیه آنزیم‌های ذکر شده افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: تنظیم اسمزی، بتا آمینوبوتیریک اسید، تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کلزا

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۹۶۵۵۷۵ ، پست الکترونیکی: mohamadineda15@gmail.com

مقدمه

بتا آمینو بوتیریک اسید (BABA) یک آمینو اسید غیر پروتئینی است که در طبیعت نادر است. تنها گزارشی که از وجود ترکیب اخیر در گیاهان به دست آمده مربوط به ریشه گیاهان گوجه فرنگی بوده که در خاک زیاد در آفتاب مانده و تخریب شده بدست آمده است (۱۷). اما بسیار جالب است که بتا آمینو بوتیریک اسید در رقابت با گلیسین عمل می کند و در غلظتهای پایین مانع پاسخ های مربوط به گلیسین و در غلظت‌های بالا باعث تقویت جریان غشایی می شود (۴۵).

در سالهای ۱۹۶۳ و ۱۹۶۴Papavizas و Davy گزارشهایی در مورد نقشBABA در حفاظت گیاهان نخود در برابر پاتوژن *Aphanomyces euteiche* دادند. آنان ثابت کردند از بین ۱۰ ترکیب شیمیایی آزمایش شده تنها DL- بتا آمینو بوتیریک اسید (DL-BABA) و DL- متیل بتا آسپارتیک اسید (DL-MBAA) باعث القا مقاومت ریشه نخود به پوسیدگی شدید ریشه می شود. اینطور بیان می شود که این دو اسید آمینه بطور مستقیم روی پاتوژن اثر نمی کنند بلکه مانع بیان علائم بیماری می شوند. BABA در طیف وسیع باعث مقاومت به ویروس باکتری، قارچ های

www.SID.ir

Archive of SID

اوومیست و نماتود می شود. تاکنون هیچ گونه اثر سمیت مستقیم BABA دیده نشده است (۴۶).

در آزمایش انجام شده توسط Ton و همکاران در سال ۲۰۰۵ گیاهان جهش یافته آرابیدوپسیس (*ibs*) انتخاب شدند. جهش یافته ibs_1 در پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین, *ibs2* در ژن $AtSAC_{1b}$ که کدکننده یک پلی‌فسفو اینوزیتید فسفاتاز است و ibs_3 در تنظیم ژن ABA_1 که کدکننده زاتین اپوکسیداز (آنزیم بیوسنتزی مسیر ABA) است، نقص داشتند. برای تعیین نقش این سه ژن IBS در مقاومت القا شده توسط BABA این جهش یافته ها در برابر تنش شوری و پاتوژن آزمایش شدند (۴۶). ترجمه محصول $AtSAC_{1b}$ پروتئینی است که به‌عنوان یک پلی فسفو اینوزیتید فسفاتاز عمل می کند که فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ فسفات (ptdIns) و فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ فسفات و فسفاتیدیل اینوزیتول ۵,۳ بیس فسفات را به فسفاتیدیل اینوزیتول تبدیل می کند. نقش علامت رسانی فسفاتیدیل اینوزیتول در پاسخ به تنش های گیاهی مثل تنش اسمزی به خوبی شناخته شده است (۵۰). در گیاهان جهش یافته، BABA در مقاومت گیاه به تنش مؤثر واقع نشد.

در آزمایشهایی که توسط Cao و همکارانش (۲۰۰۸) بر تأثیر BABA بر تنش کمبود یون پتاسیم در دانه‌رست‌های آرابیدوپسیس انجام گردید، مشخص شد محتوای K^+ در ریشه و ساقه دانه رست های تحت تیمار با BABA بیش از گیاهان کنترل بود(۱۰). Zimmerli و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز تأثیر BABA را بر مقاومت دمایی در آرابیدوپسیس مورد بررسی قرار دادند (۵۱). تأثیر mM BABA۰/۵ بر گیاهانی که به مدت ۹۰ دقیقه در دمای $^{\circ}c$ ۴۵ قرار گرفته بودند مشخص کرد که گیاهان تحت تیمار مقاومت بیشتری نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. Cao و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در مورد تأثیر BABA در افزایش بردباری به تنش کادمیم را در گیاه آرابیدوپسیس گزارش کردند (۱۱). BABA بردباری به کادمیم را از طریق مکانیزم وابسته به گلوتاتیون افزایش می دهد. GSH از سلول های گیاه در برابر تنش اکسیداتیو حفاظت می کند. این امر در سمیت‌زدایی کادمیم مهم است (۴۸).

مطالعات زیادی در زمینه تنش خشکی در کلزا انجام شده است و شماری از ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک مؤثر در تحمل به تنش خشکی گزارش شده است. کمبود آب می‌تواند اثر سوئی بر عملکرد کلزا بگذارد ولی این اثر به رقم، مرحله نمو و سازش یافتگی گیاه به خشکی بستگی دارد. حساسترین مرحله رشد و نمو کلزا به کم آبی، مرحلهٔ گل‌دهی است. کمبود آب در این مرحله سبب افت شدید تعداد گل، کپسول و دانه شده و وزن هزار دانه و درصد روغن دانه را کاهش می‌دهد (۱). بنا به گزارش پاسبان اسلام و همکاران (۱۳۸۰) تنش کمبود آب در کلزا باعث کاهش عملکرد، تعداد خورجین در بوته و تعداد دانه در خورجین می‌گردد (۲). Qifuma و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند، تنش کمبود آب در مرحله گل دهی و پر شدن دانه تأثیر منفی روی عملکرد دانه دارد (۳۶). در طول دوره تنش خشکی تعداد گل در هر بوته، تعداد و اندازه بذر کاهش می یابد. گزارشهایی که در مورد اثر تنش خشکی بر میزان روغن و پروتئین دانه وجود دارد عمدتاً مؤید اثر منفی تنش خشکی بر محتوای روغن و پروتئین دانه می باشد (۲۹). Downey (۱۹۸۳) گزارش کرد که تنش خشکی و درجه حرارت بالا باعث کاهش اسیدهای چرب اشباع نشده در روغن کلزا شد (۱۷).

از آنجا که BABA در آلودگی های پاتوژنی عملکرد خود را از طریق مکانیزم دفاعی وابسته به SA و متعاقبا فعال شدن پاسخ های مقاومت سرتاسری SAR (systemic acquired resistance) اعمال می کند (۵۲) و در موارد دیگر مثل تنش های غیر زیستی، BABA از طریق مسیر علامت رسانی وابسته به ABA عمل می کند (۴۶). هر دو

www.SID.ir

Archive of SID

مسیر در تحمل به تنش آبی مؤثرند، در تحقیق حاضر سعی شده است که بردباری به تنش کم آبی و سنجش برخی آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی بعد از تیمار BABA در گیاه کلزا مورد سنجش قرار گیرد.

مواد و روشها

در این تحقیق از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Madonna استفاده شد. بذرهای این گیاه از مرکز تحقیقات کشاورزی کرج تهیه گردید. پس از جدا کردن بذرهای یکسان از نظر اندازه این بذرها با هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد ضدعفونی گردید و پس از شستشو با آب مقطر به گلدان های (۱۵×۱۵ Cm) حاوی پرلیت منتقل شد. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته و در هر گلدان ۴ بذر کاشته شد. گلدان ها پس از کشت در اتاق رشد در شرایط دوره متناوب نوری ۱۶/۸ ساعت (تاریکی/ نور) با شدت نور ۱۴ کیلو لوکس، رطوبت ۷۵٪ و دمای ۲± ۱۶/ ۲± ۲۳ درجه سانتی گراد (تاریکی/ نور) نگهداری شد. قبل از شروع تیمار کم آبی همه گیاهان به طور منظم در حد ظرفیت مزرعه آبیاری شدند. ۲۶ روز بعد از جوانه زنی تنش کم آبی اعمال شد.

تیمارهای مورد استفاده عبارت بودند از:

۱) شاهد: آبیاری یک روز در میان انجام شد.

۲) D1: گیاهان ۳ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفتند.

۳) D2: گیاهان ۵ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفتند.

بتا آمینوبوتیریک اسید (Sigma) در غلظت ۰ و ۳۰۰ میکرومولار به شکل محلول در آب یک روز قبل از اعمال تیمار کم آبی به گیاهان داده شد. گیاهان شاهد یک روز قبل از اعمال تیمار کم آبی با آب آبیاری شدند. برای نمونه گیری به منظور سنجش صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در پایان هر تیمار از بافت تازه گیاه اقدام به نمونه گیری شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد گردید و به فریزر ۸۰- منتقل شد.

اندازه گیری مقدار آب نسبی برگ: تعداد ۳ برگ از بالاترین برگ ها جدا گردید و با ترازوی دقیق اندازه گیری شد. سپس نمونه ها در آب مقطر قرار گرفتند تا به طور کامل آماس کنند، سپس برگ ها به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۸۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا وزن خشک نمونه ها به دست آید. در نهایت با فرمول زیر محتوای آب نسبی برگ و کمبود اشباع آب اندازه گیری شد.

$$100 \times (FW - DW)/ (TW - DW)$$

FW وزن تازه برگ، DW وزن خشک، TW وزن آماس می باشد.

اندازه‌گیری شاخص پایداری غشاء (MSI: Membrane stability index): شاخص پایداری غشاء بر اساس روش Sairamو همکاران (۱۹۷۷) محاسبه شد. بر اساس این روش دو گروه نمونه آماده شد. در هر گروه ۰/۱ گرم از نواحی مشابه برگ در ظروف شیشه ای درپوش‌دار حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. لوله های گروه اول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای^{o}C ۴۰ حمام آب گرم قرار داده شد و بعد هدایت الکتریکی (EC) آن توسط دستگاه EC متر مدل Metrohm ۷۱۲ خوانده شد (C1). لوله های گروه دوم به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش^{o}C ۱۰۰ قرار داده شدند و هدایت الکتریکی آنها نیز اندازه‌گیری گردید (C2). شاخص پایداری غشاء بر اساس رابطه زیر اندازه گیری شد:

$$MSI = [1- (C1/C2)] \times 100$$

اندازه‌گیری مقدار پرولین: برای اندازه گیری پرولین محتوای برگ گیاه از روش Bates et al (۱۹۷۳) استفاده شد(۶). برای اندازه گیری پرولین ابتدا مقدار ۰/۲ گرم گیاهچه توزین شد و در هاون چینی در ۳ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ به خوبی سائیده شد و مخلوط حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی لیتر از عصاره صاف شده را به لوله های دردار منتقل کرده و به تمام لوله ها ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک

www.SID.ir

Archive of SID

گلاسیل اضافه شد. پس از بستن لوله ها به مدت ۱ ساعت در آب ۱۰۰ درجه قرار داده شد. پس از سرد کردن لوله ها به هر کدام ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه گردید و با استفاده از دستگاه ورتکس به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه لوله ها تکان داده شد. سرانجام فاز رویی که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن است، برداشته و همزمان با نمونه های استاندارد در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار داده شد. اعداد در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء (LPO: Lipid peroxidation): این آزمایش با استفاده از اندازه گیری مالون دی آلدهید (MDA) و بر اساس روش Heath and Packer (۱۹۶۹) به عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء انجام شد (۲۰). نمونه های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۵ میلی لیتر TCA (تری کلرو استیک اسید) ۰/۱٪ عصاره گیری شدند. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفوژ NAPCO مدل ۲۰۲۸ به مدت ۵ دقیقه در ×g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس به یک میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصدی که حاوی ۰/۵٪ TBA (تیو باربیتوریک اسید) بود، به هر کدام از نمونه ها اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از ۳۰ دقیقه لوله ها از حمام خارج شده و پس از سرد شدن دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ×g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. میزان مالون دی آلدهید با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۵۳۲ خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز رنگ MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کم شد. و با استفاده از ضریب خاموشی ($\varepsilon=155\times10^5 \mu M^{-1} Cm^{-1}$) محاسبه شد.

اندازه‌گیری مقدار پراکسید هیدروژن : مقدار پراکسید هیدروژن بر اساس واکنش H_2O_2 با یدید پتاسیم (KI) و با روش Alexiva(۲۰۰۱) انجام شد(۴). در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه در TCA (تری کلرو استیک اسید) ۰/۱٪ سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ×g ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰mM (pH=7) و ۲ میلی لیتر پتاسیم یدید ۱M اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد و بعد جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری شد.

برای محاسبه غلظت پراکسید هیدروژن از منحنی استاندارد استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن تهیه و منحنی جذب بر حسب غلظت رسم و معادله آن به دست آمد.

عصاره گیری برای سنجش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان : ۰/۵ گرم بافت تر در هاون چینی محتوای ۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار با pH=۷/۵ که حاوی پلی وینیل پیرولیدین ۱٪، EDTA ۱میلی مولار و PMSF ۱ میلی مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل در یخ انجام گردید. در مورد عصاره مربوط به فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به عصاره حاصل آسکوربیک اسید ۱۰ میلی مولار افزوده شد. همگن های حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ×g ۲۰۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی به عنوان عصاره خام آنزیمی در ویال های ۰/۵ میلی لیتری تقسیم شد و تا زمان سنجش فعالیت آنزیمها و پروتئین ها در دمای ۸۰ °C- نگهداری شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ۲۴۰ nm و با روش Dhindasa و همکاران (۱۹۸۱) انجام شد (۱۴). مخلوط واکنش شامل ۲/۸۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار با ۷

www.SID.ir

Archive of SID

pH= و ۳۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار می باشد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی را اضافه کرده و واکنش شروع می شود. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از یک دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی (ε=۰/۲۸cm^{-1} $mMol^{-}$) و فرمول A= εbc محاسبه شد که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم است. A معادل جذب خوانده شده، ε ضریب خاموشی، c غلظت H_2O_2 و b طول کوت (۱ سانتیمتر) می باشد. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره (بدست آمده از روش برادفورد) در یک دقیقه محاسبه گردید (۱۴).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) از روش Giannopolitis & Ries (۱۹۷۷) استفاده شد (۱۸). مخلوط واکنش شامل موارد زیر بود: ۲/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار با pH= ۷/۸، ۰/۱ میلی لیتر میتیونین ۱۳ mM، ۰/۱ میلی لیتر Nitro Blue Tetrazolium ۰/۷۵،۱ µM میلی لیتر ریبوفلاوین ۲ µM، ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی. نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار داده شدند و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. در این آزمایش دو نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت که هر دو بدون عصاره آنزیمی بود، نمونه اول بدون دریافت نور (به عنوان شاهد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفوتومتر) و نمونه دوم ۱۵ دقیقه در مقابل منبع نوری قرار گرفت (به عنوان کنترل، زیرا به دلیل عدم وجود آنزیم احیاء NBT در حضور نور به طور ۱۰۰٪ انجام می گیرد). یک واحد فعالیت سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰٪ احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می گردد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): مخلوط واکنش شامل: بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار pH= ۷، آب اکسیژنه ۰/۱۵ میلی مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار،آسکوربات ۰/۵ میلی مولار،۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی. به دنبال اکسید شدن آسکوربات با شروع واکنش آنزیمی کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، دو دقیقه پس از شروع واکنش محاسبه شد. ضریب خاموشی آسکوربات (۲/۸$mM^{-1}cm^{-1}$) و فرمول A= εbc فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازاء هر میلی گرم پروتئین بیان شد (۳۰).

سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR): فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز به وسیله اکسیداسیون NADPH تعیین می‌شود. در این روش ۱ میلی لیتر از مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار۷/۸ =pH، EDTA ۲ میلی مولار، NADPH ۰/۱۵ میلی مولار، GSSG ۰/۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با اضافه کردن NADPH شروع شد. جذب نمونه ها به مدت ۳ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار آنزیمی است که برای اکسیداسیون یک میکرومول NADPH در یک دقیقه لازم است. برای محاسبه مقدار NADPH اکسید شده از ضریب خاموشی معادل۶/۲ $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد (۴۳).

تجزیه و تحلیلهای آماری داده های حاصل به روش تجزیه واریانس بر پایه طرح کامل تصادفی انجام شد. برای ارزیابی اثر تیمارها روی صفات اندازه گیری شده، همه داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزارهای Excell و SPSS تحت آنالیز واریانس یک طرفه قرار گرفت. مقایسه میانگین تیمارها با روش Duncan انجام و $P\leq0.05$ بعنوان سطح معنی دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.

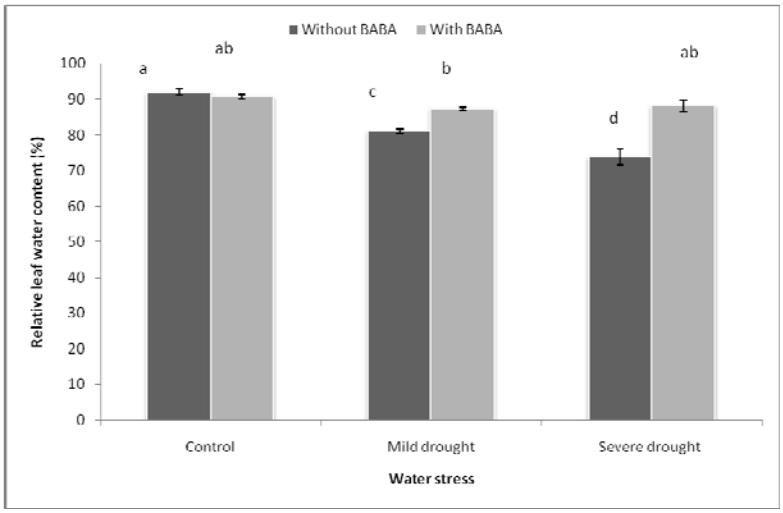
نتایج

اندازه گیری مقدار آب نسبی برگ(RWC): در این مطالعه گیاهان تحت تنش خشکی محتوای آب خود را در مقایسه

www.SID.ir

Archive of SID

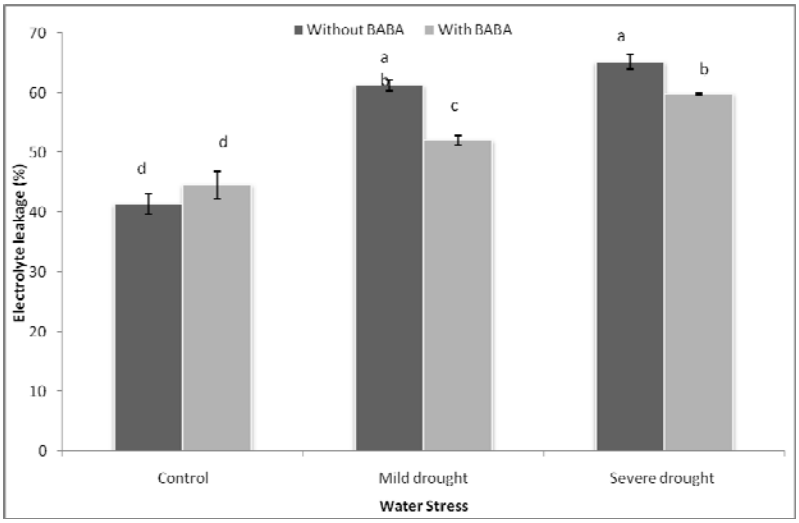
با گیاهان شاهد از دست دادند. محتوای آب برگ از ۹۹٪ در گیاهان شاهد به ۸۱٪ و ۷۳/۴٪ به ترتیب در تنش ملایم و شدید کاهش نشان داد. BABA توانست سازگاری گیاه کلزا را به تنش خشکی به طور معنی‌دار افزایش دهد. محتوای آب برگ در گیاهان پیش تیمار شده با BABA به ۸۸/۲٪ و ۸۲/۲٪ به ترتیب در تنش ملایم و شدید افزایش یافت. شکل ۱ نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار آب نسبی برگ در گیاه کلزا را نشان می‌دهد.



شکل ۱- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر مقدار آب نسبی برگ در گیاه کلزا

میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی‌دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

اندازه گیری شاخص پایداری غشاء (MSI): در این بررسی تنش ملایم و شدید کم آبی به ترتیب موجب کاهش ۲۵٪ و ۳۷٪ شاخص پایداری نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۲). پیش تیمار BABA باعث افزایش معنی دار شاخص پایداری غشاء تحت تیمار کم آبی گردید (شکل ۲).



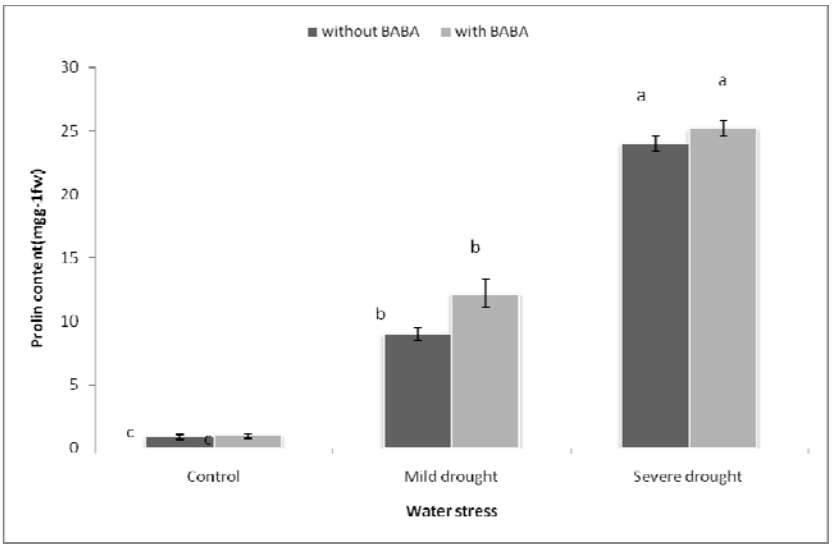
شکل ۲- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر شاخص پایداری غشاء در گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد . حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن وحروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داد ه ها در مجموعه تیمارها درحروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

www.SID.ir

Archive of SID

سنجش مقدار پرولین: همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده، نتایج حاصل از سنجش پرولین نشان داد که تنش کم آبی باعث افزایش معنی دار مقدار پرولین شده است. این افزایش در گیاهان تحت تنش ملایم تا ۹ و در تنش شدید تا ۲۰ برابر نسبت به گیاهان شاهد رسید. البته پیش تیمار BABA افزایش معنی داری در محتوای پرولین در برگ و ریشه گیاه کلزا نداشت.



شکل ۳- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر مقدار پرولین در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد . حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

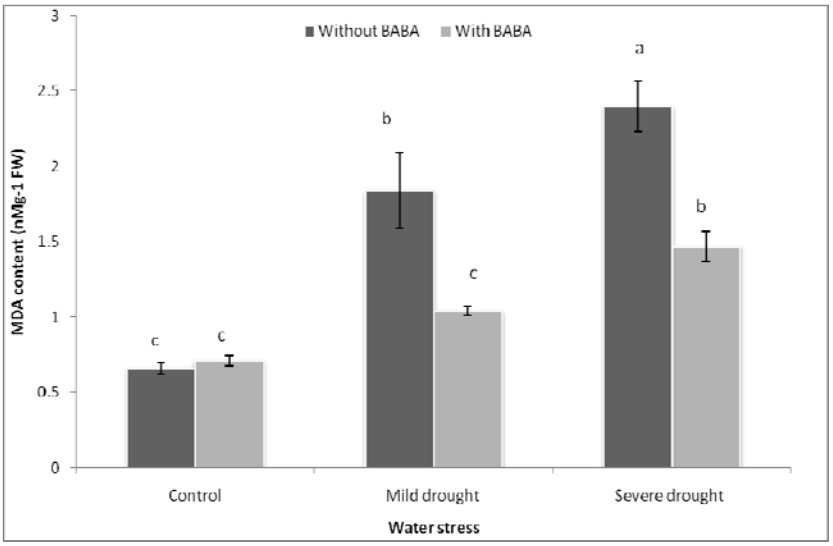
سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: مالون دآلدهید شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شده است. در این آزمایش مقدار مالون دآلدهید تحت تنش ملایم و شدید کم آبی به ترتیب در برگ ۲/۷ و ۳/۶ برابر افزایش نشان داد. در گیاهان پیش تیمار شده با BABA تحت تنش کم آبی، مقدار مالون دآلدهید برگ به طور معنی دار حدود ۵۷/۷٪ در مقایسه با گیاهانی که پیش تیمار نشده بودند، کاهش یافت (شکل ۴).

سنجش مقدار پراکسید هیدروژن: داده های حاصل از تأثیر تیمار خشکی بر مقدار پراکسید هیدروژن در گیاهان مورد آزمایش نشان داد که تیمار ملایم و شدید خشکی به ترتیب موجب افزایش معنی دار ۳ برابر H2O2 در برگ گیاه کلزا شد. مقدار پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با BABA کاهش معنی داری تا حدود ۴۳٪ و ۶۶٪ در شرایط تنش ملایم و شدید نسبت به گیاهان بدون پیش تیمار BABA نشان داد (شکل ۵).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): شکل ۶ نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز را در گیاهان شاهد و تحت تنش نشان می دهد. همانطور که در شکل مشاهده می شود فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در شرایط تنش ملایم و شدید نسبت به شاهد کاهش معنی دار نشان داد. پیش تیمار گیاهان با BABA فعالیت کاتالاز برگ را تا ۱/۸ برابر به طور معنی دار افزایش داد.

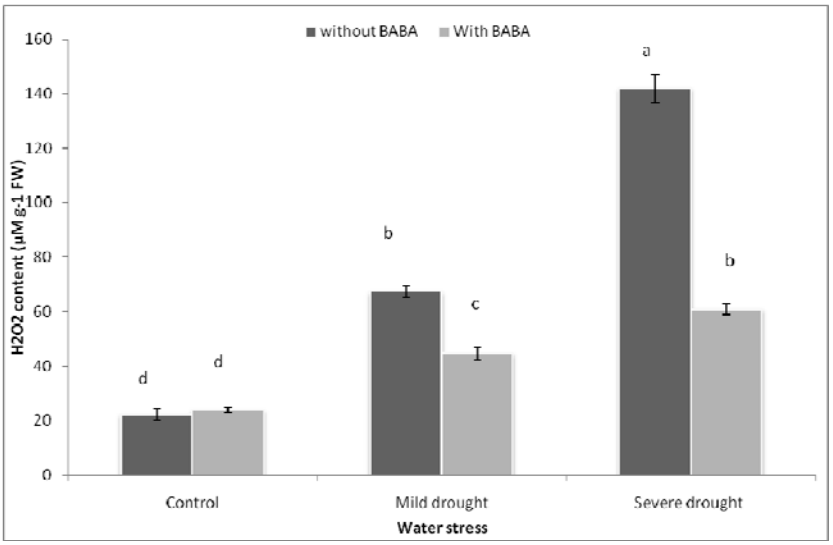
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر مقدار مالون دآلدهید در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد . حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

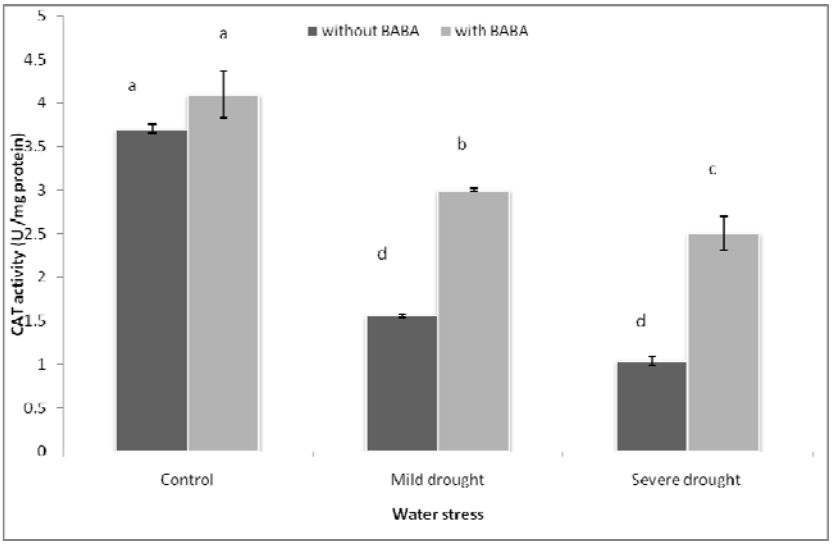


شکل ۵- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر مقدار پراکسید هیدروژن در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارها ست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

www.SID.ir

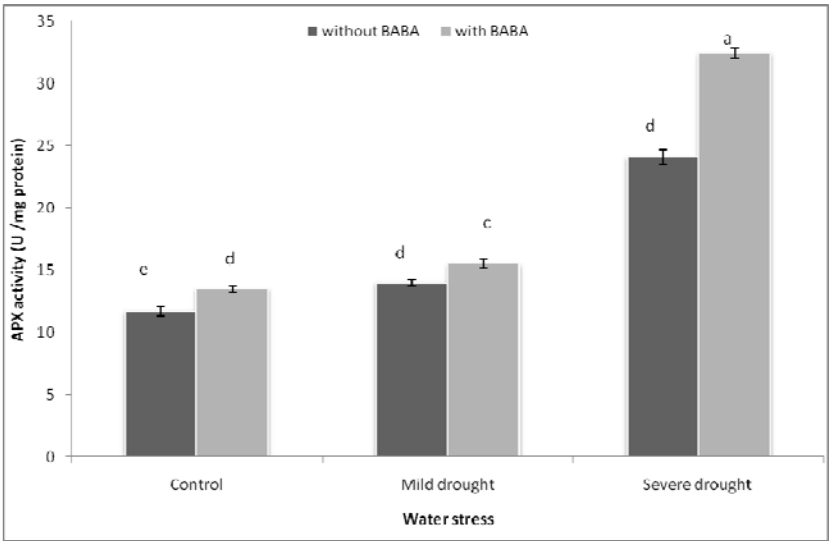
Archive of SID



شکل ۶- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ نشان داد که تنش ملایم و شدید خشکی به ترتیب باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم تا ۱/۲ و ۲ برابر در مقایسه با گیاه شاهد شده است. پیش تیمار گیاهان با BABA سبب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم تا حدود ۱/۷ و ۱/۴ برابر در مقایسه با گیاهان تحت تنش بدون دریافت پیش تیمار BABA شد (شکل ۷).



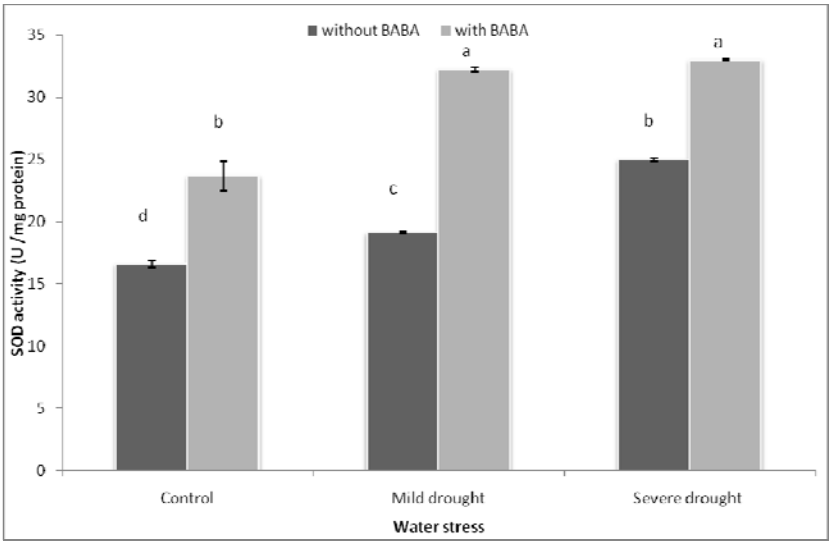
شکل ۷- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: شکل ۸ نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در گیاهان شاهد و تحت تنش نشان می دهد. همانطور که در شکل مشاهده می شود فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برگ حدود ۱/۲ برابر در تنش ملایم و ۱/۵ برابر در تنش شدید نسبت به شاهد افزایش معنی دار نشان داد. پیش تیمار گیاهان با BABA فعالیت این آنزیم در برگ را تا ۲/۴ برابر به طور معنی دار افزایش داد.



شکل ۸- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR): شکل ۹ نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز را در گیاهان شاهد و تحت تنش نشان می دهد. همانطور که در شکل مشاهده می شود فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در برگ حدود ۱/۸ برابر در تنش ملایم افزایش یافت و در تنش شدید نسبت به شاهد کاهش معنی دار نشان نداد. پیش تیمار گیاهان با BABA فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز برگ و ریشه را تا ۱/۵ برابر به طور معنی‌دار افزایش داد.

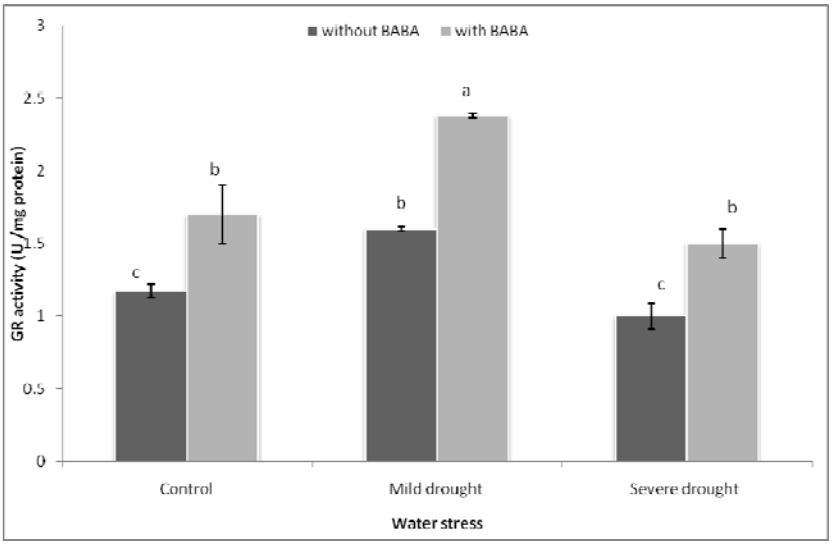
شکل ۱۰ - میزان پژمردگی در گیاه کلزا پیش تیمار شده با BABA را با گیاهان شاهد و تحت تنش شدید خشکی نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

کاهش محتوای آب برگ را می توان یکی از پارامترهای اندازه گیری تنش خشکی در نظر گرفت. در این مطالعه گیاهان تحت تنش محتوای آب خود را در مقایسه با گیاهان شاهد تا حدود ۲۰٪ در تنش ملایم و ۲۷٪ در تنش شدید از دست دادند. پیش تیمار گیاهان با BABA توانست با بستن روزنه ها تحمل گیاه به خشکی را افزایش دهد و پژمردگی را به تأخیر بیندازد. در آزمایشهای انجام شده توسط Bian و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه *Kentucky bluegrass* نشان داده شد که RWC تا حدود ۶۸٪ افت می‌کند (۷).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۹- تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار BABA بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در برگ گیاه کلزا

میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده‌ها در مجموعه تیمارهاست؛ در حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

شکل ۱۰- مقایسه میزان پژمردگی در گیاه کلزا پیش تیمار شده با BABA در گیاهان شاهد و تحت تنش شدید خشکی

این نتایج در گیاه گوجه فرنگی (۳۱) و لوبیا (۴۷) نیز گزارش شد. بنا به گزارش Jacab و همکاران، BABA زمینه را برای سنتز ABA فراهم می کند و این امر منجر به بسته شدن روزنه ها و افزایش محتوای آب برگ می شود. طی آزمایش هایی که Jacab و همکارانش در سال ۲۰۰۵ انجام دادند گیاهان پیش تیمار شده با BABA در برابر تنش شوری و خشکی بردباری بیشتری نشان دادند. محرومیت آبی در آرابیدوپسیس ظرف یک هفته باعث پژمردگی گیاه شد، در حالیکه در گیاهان تیمار شده با BABA در مدت زمان فوق اثرات پژمردگی از خود نشان ندادند. اما در گیاهان تیمار شده میزان آب از دست رفته در مقایسه با گیاهان کنترل کمتر بوده است (۲۵).

یکی از آسیب های جدی تنش خشکی خسارت به غشاء و رها سازی یون ها از سلول به فضای بین سلولی است (۱۹ و ۲۸). اندازه گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید یکی از معمولترین روش های اندازه گیری صدمات اکسیداتیو به غشاء است و به میزان وسیع در گیاهان استفاده می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال های اکسیژن با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع ، آلدهیدهایی مانند مالون دآلدهید تولید می کنند و این محصول آلدهیدی به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو اندازه گیری می شود (۷). نتایج این تحقیق نشان می دهد که BABA منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپید و نشت یونی و در نتیجه افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی می شود.

حفظ پایداری غشاء سلولی تحت تنش بخشی از مکانیزم تحمل به تنش محسوب می شود. در این آزمایش در شرایط تنش افزایش نشت یونی با افزایش MDA همره است که نشان دهنده آن است که پراکسیداسیون لیپید منجر به سیالیت غشاء شده و نفوذپذیری غشاء را افزایش داده است. این نتیجه توسط سایر محققان ازجمله Reddy و همکاران (۲۰۰۴)، Lima و همکاران (۲۰۰۲)، Daneshmand و همکاران (۲۰۱۰) و Sharma ana Dubay (۲۰۰۵) نیز گزارش شده است (۱۳، ۲۷، ۳۸ و ۴۷).

افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در برگ می تواند نتیجه بسته شدن روزنه ها و نتیجه کاهش غلظت دی اکسید کربن باشد که به نوبه خود غلظت $NADP^+$ در دسترس برای پذیرش الکترون از فتوسیستم I و II را کاهش می‌دهد، بنابراین منجر به احیاء اکسیژن مولکولی و تولید AOS می شود (۲۲). کاهش MDA توسط پیش تیمار BABA نشان دهنده حفاظت بهتر غشاء از آسیب های اکسیداتیو است که احتمالا نتیجه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت می باشد. همبستگی بین افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و کاهش مالون دآلدهید در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری نیز گزارش شده است (۸).

نتایج حاصل از سنجش پرولین در گیاه کلزا نشان داد که میزان این ترکیبات در گیاهان تحت تنش افزایش معنی داری داشته است. پرولین در شرایط تنش تا ۲۰ برابر نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داده است. پیش تیمار گیاهان با BABA افزایش معنی داری در سطح پرولین و اسیدهای آمینه آزاد گیاه نداشت. گزارش‌های مشابهی در مورد تنش کم آبی بر گیاهان ذرت، گندم و برنج وجود دارد (۲۳). تجمع این اسمولیت در سیتوپلاسم در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌ها در محیطی که تعادل یونی به هم خورده است عمل می کند (۳۲). در گزارش Diaz و همکاران (۲۰۰۵) در گیاه کاهو تحت تنش خشکی، کاهش مقدار RWC عامل افزایش تجمع پرولین ذکر شده است. بنا به این گزارش تجمع پرولین در این گیاه از طریق سنتز از نو (Denevo) و نه از طریق هیدرولیز پروتئین ها صورت می گیرد (۱۵). پرولین در گیاهان تحت تنش به حفظ تعادل گیاه کمک می‌کند (۴۲). علاوه بر نقش اسمزی حفاظت از یکپارچگی غشاء، نیروی احیا کنندگی رادیکال های OH و تنظیم نسبت NAD/NADH از آن جمله است (۱۵). تجمع پرولین در سلول ها با ممانعت از دناتوره شدن پروتئین ها همراه است. حفظ ساختار و فعالیت آنزیم ها (۴۱) و حفظ غشاء از آسیب های ROS در شرایط کم آبی و نیز کاتابولیسم پرولین توسط آنزیم دهیدروژناز در این شرایط متوقف می شود (۱۲). بنا به گزارش Jacob و همکاران (۲۰۰۵) BABA زمینه را برای سنتز ABA فراهم می کند (۲۴) و این امر باعث بسته شدن روزنه ها می‌شود. این آزمایش ها نشان داد که ظرف مدت ۲۴ ساعت پس از تیمار با BABA تجمع بالایی از ABA در پاسخ به تنش شوری در گیاه دیده شد اما میزان پرولین افزایش نیافت. نتایج بررسی حاضر نیز در راستای این تحقیق می باشد. ظاهرا BABA تجمع و آماده سازی این اسمولیت ها را القاء نمی کند.

تنش خشکی همانند سایر تنش های محیطی مانند شوری، فلزات سنگین و تنش دمایی می تواند باعث تنش اکسیداتیو شود که بسیار آسیب‌زننده است. در این شرایط همانطور که در بالا مورد بحث قرار گرفت، آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی و آنتی اکسیدان های آنزیمی در گیاه فعال می شوند. SOD تبدیل آنیون سوپراکسید به آب اکسیژنه را به عهده دارد. در مطالعات پیشین نشان داده شده است که

www.SID.ir

Archive of SID

تغییر در فعالیت SOD با توجه به شدت خشکی، طول مدت تنش و گونه گیاهی متفاوت است. کاهش در فعالیت SOD در دانه‌رست‌های آفتابگردان (۳۷)، *Aegilops squarrosa* (۵) و افزایش آن در گندم (۵) دیده شده است. در تحقیق حاضر فعالیت SOD تحت تنش خشکی افزایش یافت. Jagtap و Bhargava, (۱۹۹۵) نیز القاء سطوح فعالیت SOD را در تحمل رقم زراعی ذرت به تنش خشکی نشان دادند (۲۳). پیش تیمار BABA فعالیت این آنزیم را در مقایسه با گیاهان تیمار نشده تحت تنش و گیاهان شاهد بالا برده است. احتمالا تولید بیشتر اکسیژن مولکولی در کلروپلاست ها در نتیجه تنش ناشی از BABA منجر به افزایش فعالیت SOD در نتیجه افزایش سوبسترای این آنزیم شده است.

افزایش معنی دار APX در گیاهان تحت تنش دیده شده است. Sairam و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند که کاهش پراکسیداسیون لیپید با افزایش و القاء فعالیت APX در ژنوتیپ های مقاوم به خشکی در گندم با هم مرتبط است. بنابراین به نظر می رسد در این مطالعه در شرایط تنش خشکی محصول فعالیت SOD، که آب اکسیژن است توسط القاء فعالیت APX حذف شود. GR نیز با تبدیل گلوتاتیون اکسید (GSSG) به گلوتاتیون احیاء (GSH) در تنش اکسیداتیو نقش کلیدی دارد (۳۹). افزایش فعالیت این آنزیم در برگهای گیاه ذرت تحت تنش خشکی گزارش شده است که در بالا بردن ظرفیت تحمل گیاه به تنش تأثیرگذار است (۳۵). افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تیمار با BABA در گیاه کلزا در این آزمایش مشخص شد. نشان داده شده است که رادیکال های سوپراکسید و آب اکسیژنه احتمالا مسئول القاء GR هستند (۳۵). افزایش در فعالیت GR می تواند نسبت NADP+/NADPH را افزایش دهد و در نتیجه +NADP در دسترس برای پذیرش الکترون های تولید شده از زنجیره انتقال الکترون را افزایش دهد و باز تولید آسکوربات را تسهیل نماید. از طرفی می تواند منجر به ذخیره گلوتاتیون احیاء بیشتری شود (۴۷).

کاتالاز در حذف آب اکسیژنه نقش دارد. در این آزمایش فعالیت کاتالاز در هر دو سطح تنش کاهش نشان داد. نتایج Zhang و Kirkham (۱۹۹۴) در کاهش فعالیت کاتالاز تحت رژیم کم آبی در راستای این تحقیق است. کاهش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش در گیاه گندم (۲۱) و آرابیدوپسیس (۲۶) نیز گزارش شده است. کاهش در فعالیت کاتالاز احتمالا در نتیجه توقف سنتز آنزیم، تغییر در جمع شدن زیرواحدهای آنزیمی تحت شرایط تنش و یا تخریب زیستی آنزیم به وسیله پروتئازهای پراکسیزومی و یا غیر فعال شدن نوری (Photo inactivation) آنزیم باشد (۳). در آزمایش حاضر افزایش آب اکسیژنه در شرایط تنش با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه و متعاقبا کاهش آب اکسیژنه در گیاهان پیش تیمار شده با BABA با افزایش فعالیت کاتالاز توجیه می شود.

تیمار BABA باعث القاء فعالیت آنزیم های CAT, APX, GR, SOD شده است. احتمالا BABA از طریق تغییر در بیوسنتز ABA به طور گذرا در مراحل اولیه باعث افزایش رادیکال های اکسیژن می شود که این ترکیبات محرک فعالیت آنزیم های فوق است. در گزارش های قبلی نشان داده شد که آبیاری خاک با ماده شیمیایی BABA مکانیزم های دفاعی را تحریک می کند و یک حفاظت بلند مدت را در برابر تنش های زیستی مانند باکتری های بیوتروف (۵۲) و قارچهای نکروتروف (۵۱) باعث می شود. Zhang نشان داد که BABA مقاومت به تنش های محیطی را نیز افزایش می دهد و مکانیزم این مقاومت وابسته به مسیر علامت‌رسانی ABA است (۹ و ۴۹). تولید زودتر و سریعتر ABA باعث بسته شدن روزنه و بیان ژن های تنظیمی ABA شده که در نهایت منجر به افزایش کارایی استفاده از آب گیاه می شود (۲۴). در این تحقیق نشان داده شد که BABA نه تنها باعث افزایش فعالیت آنزیم های

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی اکسیدان می شود بلکه فعالیت آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی را نیز بالا می برد و به این ترتیب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش بردباری به تنش خشکی را در گیاه کلزا القاء می کند.

نتیجه‌گیری کلی: بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، BABA در غلظت پایین (۳۰۰میکرومولار) می‌تواند به عنوان القاء کننده یک تنش خفیف از طریق فعال کردن مسیر علامت رسانی و نیز بیوسنتزی ABA و متعاقبا فعال کردن سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی، آسیب های تنشی مانند رادیکال های اکسیژن را کاهش دهد. البته، این نکته را نیز باید مورد توجه داشت که بنا به گزارش سایر محققان غلظت های بالای این ماده نقش همکاری با ROS داشته و شدت تنش را افزایش می دهند .بنابراین استفاده از BABA را می‌توان به عنوان یک مفهوم جدید برای حفظ گیاه در برابر تنش خشکی بدون دستکاری ژنتیکی که با صرف هزینه های بالا همراه است، معرفی کرد.

منابع

۱. پاسبان اسلام، ب .، م .ر. شکیبا، م .ر. نیشابوری، م . ر. مقدم و م . ر. احمدی. ۱۳۸۰. اثرات تنش کمبود آب بر روی ویژگی های کمی و کیفی کلزا. مجله دانش کشاورزی ۷۸ -۷۵ :(۴) ۱۰.

۲. نصری، م.، حیدر شریف آباد، ح.، شیرانی، ا.، مجیدی هروان، ا.، زمانی، ح.، ۱۳۸۵. بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک ارقام کلزا. مجله علوم کشاورزی سال دوازدهم، شماره ۱: ۱۲۶- ۱۳۴.

3. Abedi T, Pakniyat H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetic Plant Breeding. 46 (1): 27-34.

4. Alexiva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E. 2001. The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. Plant growth Regulator. 35: 81-91.

5. Badiani M, Biasi MG, Colognola M, Artemi F.1990. Catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities in seedlings submitted to increasing water deficit, Agrochimical. 34: 90–102.

6. Bates LS, Waldern RW and Treare LD. 1973. Rapid determinatation of free proline for stress studentes.Plant and Soil. 39: 205-207

7. 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.

8. Bor M, Ozdemir F, Tu¨rkan I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science. 164: 77–84.

9. Bruce T, Matthes MC, Napier, JA, PickettJA. 2007. Stressful ‘‘memories’’ of plants: Evidence and possible mechanisms. Plant Science. 173 : 603–608

10. Cao SQ, Jiang L, Yuan H. 2008. *b*-Amino-butyric acid protects Arabidopsis against low potassium stress Acta Physiology Plantarum. 30:309–314.

11. Cao SQ, Ren G. 2009. The Role of Aminobutyric Acid in Enhancing Cadmium Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. Russian in Fiziologiya Rastenii, 56(4): 635–640.

12. Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osorio ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. Annual Botany .89:907–16.

13. Daneshmand F, Arvin MJ, Kalantari MK. 2010. Physiological responses to NaCl stress in three wild species of potato in vitro. Acta Physiol Plant: 32:91–101

14. Dhindsa RS, Motowe W .1981. Drought tolerance in two mosses: correlation with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany 32:79–91

15. Diaz R, Borsani O, Marquez A, Monza J. 2005. Nitrogen metabolism in relation to drought stress responses in cultivated and model *Lutus* spesies. Lotus Newsletter 35(1): 83-92.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Downey, R. K. 1983. Origin and description of the Brassica oilseed In: Kramer, J. K. G., F. D. Sauer and W. J. Pigden,. (eds). High and low erucic acid rapeseed oils production, usage, chemistry and toxicological evaluation. Academic press. Toronto. Canada. pp. 1-20.

17. Gamliel A and Katan J.1992. Influence of seed and root exudates on fluorescent Pseudomonas and fungi in solarized soil. Phytopathology 82: 320–327

18. Giannopolitis CN and Ries SK. 1977. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology., 59: 309-314.

19. Halliwell B. 1982. Oxygen-derived species and herbicide action, Physiology Plantarum. 21–24

20. Heath RL, Paeker L. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast and stiochiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophysics. 125:189-198.

21. Herbinger K, Tausz M, Wonisch A, Soja G, Sorger A, Grill D. 2002. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. Plant Physiology and Biochemistry. 40:691-696.

22. Hernandez JA, Jimenez A, Mullineaux PM, Sevilla F. 2000. Tolerance of pea (Pisum sativum L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences, Plant Cell and Environment. 23: 853–862.

23. Jagtap V, Bhargava S. 1995. Variation in the antioxidant metabolism of drought tolerant and drought susceptible varieties of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Exposed to high light, low water and high temperature stress, Journal of Plant Physiology. 145: 195–197.

24. Jacob G, Cottier V, Toquin V., Rigoli G, Zimmerli L, Me´ traux JP, and Mauch-Mani B. 2001. β-Aminobutyric acid-induced resistance in plants. European Journal of Plant Pathology. 107, 29–37.

25. Jacob G, Ton J, Flors V. 2005. Enhancing Arabidopsis Salt and Drought Stress Tolerance by Chemical Priming for Its Abscisic Acid Responses. Plant Physiology. 139: 267–274.

26. Jung S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of Arabidopsis thaliana subjected to drought. Plant Science. 166: 459-466.

27. Lima, A.L.S., DaMatta, F.M., Pinheiro, H.A., Totola, M.R., Loureiro, M.E., 2002. Photo responses and oxidative stress in two clones of Coffea canephora under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany. 47, 239–247.

28. Liu C, Liu Y, Guo K, Fan D, Li G, Zheng Y, Yu L, Yang R. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitatats of southwestern china. Environmental and Experimental Botany. 71: 174-183.

29. Mendham, N.J., and P.A. Salisbury. 1995. Physiology, crop development, growth and yield of Brassica oilseeds. CAB International. pp.11-64.

30. Nakano Y, Asado K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged byascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22(5):867–880

31. Nasibi F, Kalantari M. K. 2009. Influence of nitric oxide in protection of tomato seedling against oxidative stress induced by osmotic stress. Acta Physiologiae Plantarum. 7:127-131.

32. Nayyar H. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water stressed wheat and maize as affected by calcium and its antagonists. Environmental and Experimental Botany. 50:253-264.

33. Pandey R, Agarwal RM, Jeevaratnam K, Sharma GL. 2004. Osmotic stress- induced alternations in rice and recovery on stress release. Plant Growth Regulation. 42: 79-84.

34. Papavizas GC and Davey CB.1963.Effect of amino compounds and related substances lacking sulfur on *Aphanomyces* rootrot of peas. Phytopathology 53: 116–122.

35. Pastori G, Mullineaux P, Foyer CH. 2000. Post transcriptional regulation prevents accumulation of glutathione reductase protein and activity in the bundle sheath cells of maize. Implication on the sensitivity of maize to low temperatures. Plant Physiology. 122:667–75.

36. Qifuma, Sh., R. Niknam and D.W. Turner. 2006. Responses of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B. juncea* to soil water deficit at different growth stages. Aust. J. Agric. Res. 57: 221-226.

37. Quartacci MF, Sgherri CLM, Pinzin C, Navari-Izzo F. 1994. Superoxide radical production in wheat plants differently sensitive to drought. Royal Society of Edinburgh. 102B: 287–290.

www.SID.ir

Archive of SID

38. Reddy P, Sairanganayakulu G, Thippeswamy M, 2008. Identification of stress-induced genes from the drought tolerant semi-arid legume crop horsegram (Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc.) through analysis of subtracted expressed sequence tags. Plant Science 175: 372–384

39. Sairam RK, Shukla SD, Saxena DC.1998. Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes, Biologia Plantarum. 40 (3): 357–364.

40. Sairam RK, Shukla SD, Saxena DC.1998. Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes, Biologia Plantarum. 40 (3): 357–364.

41. Samuel D, Kumat TK, Ganesh G, Jayaraman G, Yang PW, Chang MM. 2000. Prolin inhibit aggregation during protein refolding. Protein science 9: 334-352.

42. Sarhadi PP, Arora S, Prasad KV. 1995. Prolin accumulation in plants exposed to UV radiation and protectthem against induced peroxidation. Biochemical and biophysical research communications. 290: 1-5.

43. Schaedle M and Bassham JA. 1977. Chloroplast gluthathion reductase. Plant Physiology. 59: 1011-1012.

44. Sharma P, Duby RS. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology.17 (1): 35-52.

45. Shelp BJ, Bown AW and McLean MD .1999. Metabolism and function of gamma-aminobutyric acid. Trends Plant Science 4: 446–452.

46. Ton J, Jakab G, Toquin V, Flors V, Iavicoli A, Maeder N, Me´ traux J. and Mauch-Man B. 2005. Dissecting the b-Aminobutyric Acid–Induced Priming Phenomenon in Arabidopsis. The Plant Cell. 17: 987–999.

47. Tu¨rkan I, Bor M, O¨ zdemir 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.

48. Xiang C, Werner BL, Christensen EM, and Oliver DJ. 2001. The Biological Functions of Glutathione Revisited in Arabidopsis Transgenic Plants with Altered Glutathione Levels, Plant Physiology. 126: 564–574.

49. Zhang J, Kirkham MB. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings, New Phytiology. 132: 361–373

50. Zhu JK. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant Biology. 53, 247–273.

51. Zimmerli L, Hou1, B.H., Tsai C.H, Jakab G. 2008. The xenobiotic b-aminobutyric acid enhances Arabidopsis Thermo tolerance. The Plant Journal 53, 144–156

52. Zimmerli L, Jakab G, Metraux JP, Mauch-Mani B .2000. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in Arabidopsis by b-aminobutyric acid. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 97: 12920–12925

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of β-amino buthyric acid (BABA) on relative leaf water content, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in Rapeseed (*Brassica napus* L.) plants under drought stress

Mohammadi N.[1] Baghizadeh A.[2] and Rajaee P.[3]

[1] Young Researcher Club, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R. of Iran

[2] International Center for Science, High Technology and Environmental Sciences, Kerman, I.R. of Iran

[3] Faculty of Science, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

The broad spectrum protective effects of the non-protein amino acid *β*-aminobutyric acid (BABA) against numerous plant stresses has been well-documented in the literature. In this study the interaction between BABA (0,300 μM) and drought (control, mild and severe stress) were studied. Results showed that rapeseed plants which were under drought stress had lower percentage of membrane stability index (MSI) and relative water content (RWC), higher lipid peroxidation products when compared with control plants. Pretreatment of plants with BABA increased the MSI and RWC and decreased the amount of aldehydes in water stress plants. H_2O_2 content was increased under drought stress, pretreatment of plants with BABA decreased the amount of hydrogen peroxide. In drought stress condition, activity of SOD, APX, GR and POD were elevated over the controls while CAT activity decreased. In plants which pretreated with BABA and then exposed to drought stress the activity of mentioned enzymes increased.

Key words: β-aminobutyric acid, drought stress, antioxidant enzymes, *Brassica napus*

www.SID.ir