# افزایش تحمل تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در دانهال‌های پسته با کاربرد برگی بتا-آمینوبوتیریک اسید

**سهیل کریمی*، مریم شکری و شیما میرزایی**
گروه علوم باغبانی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران.
*نویسنده مسئول: skarimi@ut.ac.ir

**چکیده**

**پیش تیمار بذر و گیاهان جوان با کاربرد مواد و تکنیک‌های مختلف، می‌تواند سطح تحمل تنش‌های محیطی و غیرمحیطی را در گیاه ارتقاء بخشد. بتا-آمینوبوتیریک اسید (BABA) به‌صورت موفقیت‌آمیزی در ایجاد مقاومت به تنش‌های زنده استفاده شده است. در پژوهش حاضر کارایی غلظت‌های مختلف این ماده (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) در ایجاد تحمل به خشکی در دانهال های پسته اکبری در محیط کشت بدون خاک بررسی شد. تیمارهای BABA در سه مرتبه کاربرد برگی طی یک هفته پیش از شروع تنش خشکی روی دانهال های پسته در مرحله ۱۵ برگی اسپری شد و سپس آبیاری برای ۲۵ روز متوقف گردید. در انتهای آزمایش، اثرات پیش تیمارهای BABA بر رشد، ریزش برگ، محتوای آب نسبی گیاه، شاخص آسیب غشاء سلول، و غلظت کلروفیل، پراکسیدهیدروژن و مالون دی آلدهید در برگ گیاهان تحت تنش خشکی بررسی شد. کاربرد BABA از کاهش وزن تر شاخساره در شرایط تنش خشکی جلوگیری کرد که این امر ناشی از حفظ محتوای آب گیاه و جلوگیری از ریزش برگ بود. افزایش آسیب‌های غشاء و کاهش کلروفیل در راستای تجمع پراکسیدهیدروژن و مالون دی آلدهید در برگ، بروز تنش اکسیداتیو را در گیاهان تحت تنش خشکی تأیید نمود. ولی شدت این آسیب‌ها در گیاهان پیش تیمار شده با BABA به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. در این راستا پیش تیمار ۵ میلی‌مولار BABA کارایی بیشتری در کاهش تنش اکسیداتیو در دانهال های پسته تحت تنش خشکی داشت.**

***کلمات کلیدی:*** **پرایمینگ، پراکسید هیدروژن، محتوای آب نسبی گیاه، مالون دی آلدهید، *Pistaci vera* L.**

## مقدمه

گرم شدن زمین و پدیده تغییر اقلیم به یک تهدید جدی برای تولیدات کشاورزی در هزاره سوم تبدیل شده است. این مهم سبب بروز خشک‌سالی‌های گسترده و تشدید فرآیند شور شدن اراضی در سال‌های اخیر شده است. پیش‌بینی می‌شود که ادامه این روند طی سالیان آینده سبب کاهش شدید دسترسی به آب در کشور خواهد شد. جهت مقابله با بحران کم‌آبی راهکارهای متنوعی همچون بهبود سیستم‌های آبیاری، بهنژادی گیاهان، و استفاده از پایه‌های متحمل برای گیاهان ارائه شده‌اند. هرچند که استفاده از گیاهان متحمل در مناطق کم آب به‌عنوان پایدارترین راهکار برای توسعه کشاورزی شناخته می‌شود (Farooq *et al.*, 2009)، ولی شناسایی منابع تحمل و فرآیند بهنژادی گیاهان، به‌ویژه در خصوص درختان میوه، پرهزینه و زمان‌بر است. از طرفی حد تحمل به خشکی در برخی از گونه‌ها محدود است و امکان ایجاد تغییرات گسترده در تحمل به خشکی در آن‌ها وجود ندارد. از این رو همواره یافتن روش‌های سریع برای ایجاد تحمل به دوره‌های کوتاه‌مدت خشکی در گیاه حائز اهمیت بوده است. در این راستا روش‌های مختلفی همچون کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد، عوامل فیزیکی، بهبود تغذیه، تنش ملایم و ... جهت پیش تیمار بذر و گیاهان جوان توسعه یافته است. چنین تیمارهایی قادرند با ایجاد تغییر فیزیولوژی سلول، سبب بروز پاسخ‌های سریع‌تر و شدیدتری در گیاه شوند (Karimi *et al.*, 2017).

بتا-آمینوبوتیریک اسید (BABA) یک اسیدآمینه غیر پروتئینی است که به‌صورت موفقیت‌آمیزی در ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه برای مقابله با تنش‌های زیستی مورد استفاده قرار گرفته است (Tavallali *et al.*, 2008). این ماده به‌عنوان یک سیگنال مرتبط با تنش عمل می‌کند و سبب افزایش بیان بسیاری از ژن‌های مرتبط با پاسخ گیاه به تنش‌ها می‌شود (Conrath *et al.*, 2002). افزایش رونویسی از ژن‌های مرتبط با بیوسنتز آبسزیک اسید و اتیلن به‌عنوان عامل اصلی در ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه به دنبال کاربرد BABA شناخته می‌شود (Zimmerli *et al.*, 2008). افزایش تجمع آبسزیک اسید به دنبال کاربرد BABA با تسریع در بسته شدن روزنه، کاهش مصرف آب، و افزایش آنتی اکسیدان‌های آنزیمی به دنبال کابرد بتا-آمینوبوتیریک اسید گزارش شده است (Du *et al.*, 2012). با فرض اینکه القاء چنین پاسخ‌هایی در گیاه می‌تواند آن را نسبت به تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی متحمل نماید، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی کارایی پیش تیمار BABA در ایجاد تحمل به خشکی در شرایط کشت بدون خاک مورد ارزیابی قرار گرفت. از دانهال های *Pistacia vera* رقم اکبری به‌عنوان گیاه مدل استفاده شد. این گیاه در مناطق گرم و خشک مرکزی کشور کشت و کار می‌شود و از این نظر همواره از نظر خشکی و کم‌آبی تهدید می‌شود. در مراحل اولیه کشت که این گیاه سیستم ریشه‌ای گسترده‌ای ندارد، خشکی می‌تواند اثرات مخرب‌تری روی آن داشته باشد و سبب توقف رشد و آسیب‌های شدید به گیاه شود. از این رو، شناسایی و معرفی روش‌های کارآمد جهت ایجاد القاء تحمل به خشکی در دانهال های جوان پسته حائز اهمیت است.

## مواد و روش‌ها

آزمایش‌های مربوط به این پژوهش در محیط گلخانه با دمای روز و شب ۲۶ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۰ درصد انجام شد. بذر پسته اکبری پس از تندش در پارچه ململ، به گلدان‌های حاوی آمیخته پرلیت و کوکوپیت (نسبت ۲ به ۱) منتقل شد. هر گلدان حاوی مقدار مشابهی محیط کشت بود (۱۴۰۰ گرم محیط کشت مرطوب). گیاهان تا مرحله ۲ برگ حقیقی با آب و سپس با محلول هوگلند آبیاری و تغذیه شدند. ۱۲۰ روز پس از کشت، دانهال‌ها در مرحله ۱۵ برگی برای آزمایش استفاده شدند. در این مرحله چهار نوع تیمار روی گیاهان اعمال شد: ۱) تیمار شاهد (آبیاری)، ۲) پیش تیمار ۵ میلی‌مولار BABA + تنش خشکی، ۳) پیش تیمار ۱۰ میلی مولار BABA + تنش خشکی، و ۴) تیمار تنش خشکی. در تیمار شاهد، گیاهان در فواصل زمانی دو روزه آبیاری شدند. در هر نوبت آبیاری، وزن گلدان به حد ظرفیت مزرعه رسانده می‌شد. در تیمارهای ۲ و ۳، محلول‌های BABA در سه نوبت و با فاصله دو روزه طی یک هفته پیش از آغاز تنش خشکی روی گیاهان محلول‌پاشی شد. سپس گیاهان تحت تنش خشکی قرار داده شدند. تنش خشکی با توقف آبیاری گیاهان برای یک دوره ۲۵ روزه اعمال شد. در تیمار ۴، گیاهان بدون پیش تیمار BABA تحت تیمار تنش خشکی قرار داده شدند. در انتهای دوره آزمایش بیومس شاخساره، سطح برگ، محتوای آب گیاه (Karimi *et al.*, 2017)، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ (Lichtenthaler, 1987)، و شاخص‌های آسیب گیاه شامل ریزش برگ، شاخص آسیب غشاء (Arora *et al.*, 1998)، غلظت مالون دی آلدهید در برگ (Heath and Parker, 1968)، و غلظت پراکسید هیدروژن در برگ (Velikova *et al.*, 2000) اندازه‌گیری شد. آزمایش‌های مربوط به این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تکرار انجام شد. تجزیه تحلیل‌های آماری با استفاده از SPSS v. 21 انجام شد. جهت تجزیه میانگین از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

## نتایج و بحث

کاهش رشد، اولین تغییر مشهود در مورفولوژی گیاه در شرایط تنش خشکی است (Farooq *et al.*, 2009). در این پژوهش، تنش خشکی به‌صورت معنی‌داری بیومس شاخساره (بر اساس وزن تر) پسته را کاهش داد (جدول ۱). پیش از این نیز کاهش رشد پسته در شرایط تنش خشکی نشان داده شده بود (Tajabadi Pour, 2004). کاهش بیومس تاج در درجه اول به دلیل کاهش معنی‌دار محتوای آب در بخش تاج گیاه رخ داد (جدول ۱). ولی پیش تیمار BABA با بهبود

سطح آب در گیاه از کاهش وزن تر آن جلوگیری نمود. پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که BABA با اثراتی که بر افزایش سطح آبسزیک اسید در برگ دارد، سبب کنترل بهتر روزنه‌ها و حفظ آب گیاه در دوره خشکی می‌شود (Du *et al.*, 2012). از طرفی، بخشی از کاهش وزن تر گیاه به دلیل ریزش برگ بود که سبب کاهش معنی‌دار سطح برگ گیاه در شرایط تنش خشکی شد (جدول ۱). کاهش سطح برگ یک مکانیسم سازگاری نسبت به خشکی است که به گیاه کمک می‌کند تا تعرق را کاهش داده و بتواند با آب محدودی که در اختیار دارد برای مدت بیشتری زنده بماند (Farooq *et al.*, 2009). عدم کاهش میانگین سطح هر برگ در دوره تنش خشکی (جدول ۱) تأکید می‌کند که تحت تنش خشکی کوتاه‌مدت، سطح تبخیر و تعرق پسته با ریزش برگ محدود می‌گردد. ولی با از دست رفتن برگ‌ها، فتوسنتز گیاه کاهش می‌یابد که این امر متعاقباً سبب تشدید محدودیت رشد گیاه در شرایط کم‌آبی می‌شود (Karimi *et al.*, 2015). به این ترتیب، کاهش سطح برگ گیاه می‌تواند شدت تنش خشکی را روی گیاه نشان دهد. در گیاهانی که با غلظت ۵ میلی مولار BABA پیش تیمار شده بودند ریزش برگ در شرایط تنش خشکی مشاهده نشد ولی در گیاهان تحت تیمار ۱۰ میلی مولار BABA کاهش سطح برگ مشهود بود ولی این اثر از گیاهان پیش تیمار نشده کمتر بود. این مهم، کارایی بیشتر تیمار ۵ میلی مولار BABA را در بهبود تحمل به خشکی دانهال های پسته را نشان می‌دهد.

جدول ۱- اثر پیش تیمار BABA بر رشد دانهال های پسته رقم اکبری در شرایط تنش خشکی.

| تیمار | وزن تر شاخساره (g) | محتوای آب گیاه (% of DM) | سطح برگ گیاه ($cm^2$) | میانگین سطح برگ ($cm^2$) | تغییر تعداد برگ (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد - آبیاری | ۳/۴۳$^{a}$ | ۷۵/۳$^{a}$ | ۸۸/۶$^{a}$ | ۳/۲۳ | +۵/۷$^{a}$ |
| BABA 0 mM | ۲/۵۷$^{b}$ | ۶۹/۴$^{b}$ | ۷۰/۶$^{c}$ | ۳/۰۱ | -۹/۶$^{c}$ |
| BABA 5 mM | ۳/۳۵$^{a}$ | ۷۴/۲$^{a}$ | ۸۸/۱$^{a}$ | ۳/۴۷ | +۲/۴$^{ab}$ |
| BABA 10 mM | ۳/۲۱$^{a}$ | ۷۲/۰$^{ab}$ | ۸۰/۱$^{b}$ | ۳/۳۹ | +۰/۹$^{b}$ |
| ANOVA | * | * | * | ns | * |

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. تفکیک میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵.

تسریع فرآیند پیر شدن برگ و ریزش آن در شرایط تنش خشکی به دلیل بروز آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و رنگیزه‌های فتوسنتزی است (Gechev *et al.*, 2006). در واقع بسته شدن روزنه‌ها اولین پاسخ گیاه به کاهش دسترسی به آب است که سبب محدود شدن هدایت روزنه‌ای و اختلال در عملکرد دستگاه فتوسنتز می‌شود (Walley *et al.*, 2013). در چنین شرایطی سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول افزایش می‌یابد که منجر به بروز آسیب به بخش‌های اصلی سلول می‌گردد (Farooq *et al.*, 2009). در پژوهش حاضر کاهش معنی‌دار کلروفیل و آسیب‌های غشاء در شرایط تنش خشکی (جدول ۲)، بروز تنش اکسیداتیو در برگ دانهال های پسته را تأیید نمود. این آسیب‌ها همزمان با افزایش سطح پراکسید هیدروژن و تجمع مالون دی آلدهید در بافت صورت گرفت (جدول ۲). مالون دی آلدهید فرآورده جانبی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء است و از این رو، به‌عنوان یک نشانگر بیولوژیک در ارزیابی شدت آسیب‌های اکسیداتیو شناخته می‌شود (Karimi *et al.*, 2017).پیش تیمار با BABA شاخص‌های آسیب‌دیدگی بافت را به‌صورت معنی‌داری کاهش داد (جدول ۲) و سبب حفظ کلروفیل در بافت برگ شد (جدول ۲). در چنین گیاهانی سطح پراکسیدهیدروژن در حد تیمار شاهد حفظ گردید و تغییر معنی‌داری در محتوای مالون دی آلدهید مشاهده نشد (جدول ۲). این مشاهدات، نقش BABA ، به‌ویژه در غلظت ۵ میلی مولار را در فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه را نشان می‌دهد. پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که BABA با فعال‌سازی ژن‌های دخیل در سیستم دفاعی سلول سبب بهبود تحمل تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (Zimmerli *et al.*, 2008). در تأیید این نتایج، Du و همکاران (۲۰۱۲) اثرات BABA را در افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ گندم نشان دادند.

جدول ۲- اثر پیش تیمار BABA بر روابط آبی و شاخص پایداری غشاء در برگ دانهال های پسته رقم اکبری در شرایط تنش خشکی.

| تیمار | کلروفیل کل ($mmol\ m^{-2}$) | آسیب غشاء (%) | مالون دی آلدهید ($\mu mol\ g^{-1}$) | پراکسید هیدروژن ($\mu mol\ g^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| شاهد - آبیاری | ۴۰۹/۷$^{a}$ | ۳۱/۲$^{bc}$ | ۶/۴۲$^{ab}$ | ۱/۵۱$^{b}$ |
| BABA 0 mM | ۳۶۰/۷$^{c}$ | ۳۹/۶$^{a}$ | ۸/۵۳$^{a}$ | ۲/۹۳$^{a}$ |
| BABA 5 mM | ۴۰۳/۹$^{a}$ | ۲۹/۶$^{c}$ | ۵/۵۶$^{b}$ | ۱/۲۲$^{b}$ |
| BABA 10 mM | ۳۸۵/۲$^{b}$ | ۳۳/۲$^{b}$ | ۶/۲۰$^{ab}$ | ۱/۷۵$^{ab}$ |
| ANOVA | ** | ** | ** | * |

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. تفکیک میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵.

## منابع

**Arora, R., Pitchay, D.S., and Bearce, B.C., 1998.** Water-stress induced heat tolerance in geranium leaf tissues: A possible linkage through stress proteins? Plant Physiology, 103: 24-34.

**Conrath, U., Pieterse, C.M. and Mauch-Mani, B., 2002.** Priming in plant–pathogen interactions. Trends in Plant Science, 7: 210-216.

**Du, Y.L., Wang, Z.Y., Fan, J.W., Turner, N.C., Wang, T. and Li, F.M., 2012.** β-Aminobutyric acid increases abscisic acid accumulation and desiccation tolerance and decreases water use but fails to improve grain yield in two spring wheat cultivars under soil drying. Journal of Experimental Botany, 63(13): 4849-4860.

**Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A., 2009.** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In Sustainable agriculture. Springer Netherlands. pp. 153-188.

**Gechev, T.S, Van Breusegem, F., Stone, J.M., Denev, I., and Laloi, C., 2006.** Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. Bioessays, 28(11): 1091-1101.

**Heath, R.L, and Packer, L., 1968.** Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stochiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189–198.

**Karimi, S., Eshghi, S., Karimi, S. and Hasan-Nezhadian, S., 2017.** Inducing salt tolerance in sweet corn by magnetic priming. Acta agriculturae Slovenica, 109(1): 89-102.

**Karimi, S., Yadollahi, A., Arzani, K., Imani, A. and Aghaalikhani, M., 2015.** Gas-exchange response of almond genotypes to water stress. Photosynthetica, 53(1): 29-34.

**Lichtenthaler, H.K. 1987.** Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.

**Tajabadi Pour, A. 2004.** Effect of soil potassium application on relative resistance of three pistachio cultivars to water and salinity stress. Diss. PhD Thesis, Soil Science Department, Agricultural College, Shiraz University, Shiraz, Iran (in Persian).

**Tavallali, V., Karimi, S., Mohammadi, S., Hojati, S., 2008.** Effects of-aminobutyric acid on the induction of resistance to Penicillium italicum. World Applied Sciences Journal, 5(3): 345-351.

**Velikova, V., Yordanov, I., and Edreva, A., 2000.** Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151: 59–66.

**Walley, J.W., Kliebenstein, D.J., Bostock, R.M., and Dehesh, K., 2013.** Fatty acids and early detection of pathogens. Current Opinion in Plant Biology, 16(4), 520-526.

**Zimmerli, L., Hou, B.H., Tsai, C.H., Jakab, G., Mauch-Mani, B. and Somerville, S. 2008.** The xenobiotic beta-aminobutyric acid enhances *Arabidopsis thermotolerance*. Plant Journal, 53: 144-156.

# Enhancing Tolerance to Drought-Induced Oxidative Stress in Pistachio Seedlings by Foliar Application of β-Aminobutyric Acid

**Soheil Karimi*, Maryam Shokri, and Shima Mirzaei**
Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran.
** Corresponding author: skarimi@ut.ac.ir.*

## Abstract

**Priming seeds and young plants with different chemicals or techniques may improve plant tolerance against abiotic and biotic stresses. In this regard, β-aminobutyric acid (BABA) has been successfully used for inducing resistance against abiotic stresses. In the current study, effectiveness of different concentrations of BABA (0, 5 and 10 mM) was evaluated for inducing drought tolerance in seedlings of pistachio 'Akbari' grown in a soil less culture. The treatments were applied on the plant at 15-leaved stage by foliar spray, one week prior to withholding irrigation for 25 days. At the end of experimental period, effects of BABA pre-treatments on growth, leaf abscission, plant water content, membrane injury index, and concentrations of chlorophylls, hydrogen peroxide and malondialdehyde in the leaves of drought stressed plants were investigated. Priming with BABA prevented significant loss of shoot weight under drought stress, which was a result of preserving plat water content and prevention of leaf abscission. Significant increase of plasma membrane injuries and loss of leaf chlorophyll concentration in parallel with accumulation of hydrogen peroxide and malondialdehyde in the leaves confirmed the incidence of oxidative stress in the leaves of drought stressed plants. However, intensity of the oxidative damages was significantly reduced by BABA priming. In this regard, the 5 mM BABA treatment showed a higher efficiency in reducing drought induced oxidative stress injuries in pistachio leaves.**

***Keywords*: Priming, Hydrogen peroxide, Plant water content, Malondialdehyde, *Pistacia vera* L.**