

## اثر گاما آمینو بوتیریک اسید بر بهبود تحمل تنش خشکی در زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.)

فرحناز صدیقی مشکنانی<sup>۱</sup>، وحید نیکنام<sup>۱</sup>، گل اندام شریفی<sup>۲\*</sup> و مریم سیفی کلهر<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی (دانشکده زیست‌شناسی کنونی)، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران

<sup>۲</sup> پژوهشکده دانشنامه نگاری، پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳)

### چکیده

تنش‌های محیطی باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها در گیاهان، از تغییر بیان ژن و متابولیسم سلول تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد می‌شوند. خشکی از جمله عوامل نامساعد محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. استفاده از برخی مواد شیمیایی مانند گابا (گاما آمینو بوتیریک اسید) یکی از روش‌های پیشنهادی برای به حداقل رساندن اثرات مضر ناشی از تنش خشکی است. در آزمایش حاضر اثر «گابا» روی ویژگی‌های رویشی و شاخص‌های مقاومت در گیاه زعفران زراعی تحت تنش کم‌آبی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک تصادفی بررسی شد. از تیمار «گابا» در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرومولار و در سه سطح خشکی صفر، ۱۰ و ۱۵ درصد پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ به صورت آبیاری روی گیاهان استفاده شد. در پاسخ به تنش خشکی وزن تر و خشک برگ و ریشه زعفران کاهش یافت و افزودن «گابا» به این تیمارها موجب افزایش آنها شد. محتوای مالون دی‌آلدئید، پرولین و پروتئین در شرایط تنش کاهش یافت. تیمار «گابا» در غلظت ۲۵ میکرومولار و تنش (PEG %۱۵) باعث افزایش معنی‌دار پرولین و مالون دی‌آلدئید گردید. تیمار «گابا» در هر دو غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرومولار باعث افزایش پروتئین در شرایط تنش شد. فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز) در شرایط تنش کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز در تنش (PEG %۱۰) کاهش و در (PEG %۱۵) افزایش معنی‌داری یافت. تیمار «گابا» در غلظت ۵۰ میکرومولار و تنش (PEG %۱۵ و PEG %۱۰) باعث افزایش آنزیم‌های پاداکساینده کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گردید. تیمار «گابا» در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرومولار در تنش (PEG %۱۵) باعث افزایش آنزیم پاداکسایشی سوپراکسید دیسموتاز گردیده و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. محتوای فنل با تیمار «گابا» غلظت ۵۰ میکرومولار در تنش (PEG %۱۰)، فلاونوئید با تیمار «گابا» غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش (PEG %۱۵) و محتوای آنتوسیانین با تیمار «گابا» غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش (PEG %۱۰) افزایش معنی‌دار نشان دادند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و اثرگذاری «گابا» در القای مقاومت به خشکی در گیاه زعفران، استفاده از این ماده به‌عنوان یک ماده مؤثر در کاهش اثرات مخرب کم‌آبی در گیاه زعفران توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تنش کم‌آبی، زعفران، «گابا»، تحمل به کم‌آبی، پلی‌اتیلن گلیکول

### مقدمه

زعفران قرار دارد. زعفران کلاله خشک‌شده گل‌های زعفران

(Fernandez, 2004) و یکی از با ارزش‌ترین و گرانبهارترین

زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) در تیره زنبق و سرده

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید که حاصل قرارگرفتن اسیدهای چرب غیراشباع در معرض تنش است، مشخص می‌شود (Elkhoui *et al.*, 2005; Heath and Packer, 1968).

میانگین بارندگی سالانه طولانی‌مدت در ایران ۲۲۴-۲۷۵ میلی‌متر در سال است که ایران را یکی از مناطق خشک در دنیا ساخته است (Semsar-Yazdi *et al.*, 2007).

کمبود رطوبت خاک از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد زعفران است و رشد بنه به‌شدت متأثر از شرایط رطوبتی است (Kafi, 2006). نتایج آزمایش Gholami و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که اثر تنش کم‌آبی بر کاهش وزن تر و خشک کل گیاه و سرعت تعرق، منفی و معنی‌دار بوده است.

اصل زعیم (۱۳۹۲) نشان داد تیمار با سالیسیلیک اسید سبب بهبود آسیب‌های ناشی از تنش کم‌آبی در هر سه جمعیت زعفران زراعی (دیهوک، نطنز و آریان‌شهر) می‌شود که این تأثیر در هر سه جمعیت تقریباً یکسان است. بنابراین می‌توان گفت تیمار سالیسیلیک اسید می‌تواند راهکار مناسبی برای کاهش اثرات ناشی از تنش کم‌آبی در زعفران باشد. ملکی (۱۳۸۹) نیز نشان داد که تنش کم‌آبی باعث کاهش ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه زعفران شده و تیمار با آبسیزیک اسید (ABA) سبب بهبود گیاه زعفران تحت تنش شده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش (صابر تنها و همکاران، ۱۳۹۶)، نانو نقره در گیاه زعفران همانند تنش کم‌آبی باعث ایجاد تنش می‌شود، در نتیجه گیاه برای مقابله با این تنش و حفظ بقای خود تغییراتی را در مکانیسم‌های حیاتی خود ایجاد می‌کند. با توجه به گزارش (مرادی و پوراکبر، ۱۳۹۵) پرتوی ماوراءبنفش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها) و طول اندام هوایی و ریشه‌های زعفران را افزایش داد در صورتی که وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه زعفران تحت تیمار کاهش یافت. مشاهدات Gholami و همکاران (۲۰۰۵) در اثر تنش شوری بر ظرفیت فتوسنتزی سه توده بومی گیاه زعفران نشان داد که با افزایش شوری سطح فتوسنتزکننده کاهش یافت؛ ولی غلظت کلروفیل تحت اثر شوری آب قرار نگرفت.

ادویه‌های دنیا است (Mousavi *et al.*, 2011). ایران از مهم‌ترین تولیدکنندگان زعفران با ۱۱۰۰۰۰ هکتار منطقه کشت و ۴۰۵ تُن تولید سالانه (۳/۷-۴/۲ kg/ha) است (Agronomy Statistics, 2019).

زعفران دارای دوره رویشی حدود ۲۲۰ روز در سال می‌باشد. نیاز آبی زعفران کم است و معمولاً به دو روش آبیاری و دیم کشت می‌شود (Fernandez, 2004). زعفران زراعی مصرف‌گسترده‌ای در صنایع مختلف از جمله تغذیه، پزشکی، نساجی و غیره دارد. هم‌چنین به‌دلیل نیاز آبی کم و سهولت کاشت از اهمیت اقتصادی زیادی برخوردار است (Kafi *et al.*, 2006a).

تنش کم‌آبی (دهیدراسیون) به شرایطی اطلاق می‌شود که آب در دسترس گیاه کمتر از نیاز گیاه برای بیشینه رشد باشد (Hubick and Gibson, 1993). با توجه به تعریف Kramer، تنش کم‌آبی به شرایطی گفته می‌شود که پتانسیل آبی گیاه و تورژانس به حدی کاهش یابد که عملکرد طبیعی گیاه را مختل کند و این شرایط به گونه گیاهی، مراحل نمو، شرایط محیطی و فرآیندهای مورد مطالعه بستگی دارد (Kramer, 1980). تنش کم‌آبی از طریق کاهش آب گیاه باعث تولید انواع اکسیژن‌های فعال مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، بنیان هیدروکسیل و اکسیژن یکتایی می‌شود (Kalefetoglu and Ekmekci, 2005; Massacci *et al.*, 2008). افزایش بیش از حد ROS و برهم‌خوردن تعادل بین واکنش‌های اکسیداسیون-احیا می‌تواند منجر به تنش اکسایشی در یاخته‌های گیاهی شود (Reddy *et al.*, 2004). به‌منظور کم‌کردن آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسایشی، گیاهان مجهز به سازگان دفاعی پاداکسایشی (antioxidative defense system) هستند که ترکیب‌های غیرآنزیمی آسکوربات و گلوکاتیون و هم‌چنین ترکیب‌های آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز و پلی‌فنل اکسیداز را شامل می‌شوند. عموماً با القای تنش‌های اکسایشی، فعالیت سازگان‌های پاداکسایشی گیاه نیز افزایش می‌یابد (Borsani *et al.*, 1999). حساسیت گیاه و آسیب واردشده به غشا با

بنه‌هایی با وزن تقریبی ۳۰-۲۰ گرم جداسازی و به‌طور کاملاً تصادفی در ۲۷ گلدان به قطر ۷ سانتی‌متر کاشته شد. در هر گلدان سه بنه قرار داده شد و گلدان‌ها با پرلیت پر شدند. آبیاری گلدان‌ها به‌طور منظم به‌مدت یک‌ماه و در هر هفته سه روز صورت گرفت. نور با شدت ۳۰۰۰ لوکس، دوره نوری ۱۶:۸ روشنایی/ تاریکی، دمای روز/ شب ۲۰/۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۴۰ درصد شرایط کشت گلدان‌ها بوده است.

یک هفته پس از کشت بنه‌ها اولین جوانه‌ها و ۲۰ روز پس از کشت بنه‌ها اولین گل‌های زعفران ظاهر شد. از اواسط آذرماه به‌مدت یک‌ماه تیمار با پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) ۶۰۰۰ (6000) با غلظت‌های (صفر، ۱۰ و ۱۵ درصد) و «گابا» با غلظت‌های (صفر، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار) انجام شد. برای اعمال تیمارها، گابا به‌همراه آب‌مقطر و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) به‌همراه هوگلند (Gericke William, 1937) ۱/۲ (جدداگانه) در هفته دوبار به گیاهان داده و سپس گیاهان ۷۵ روزه، پس از برداشت گل‌ها و در مرحله رشدی به‌منظور سنجش و مشاهده اثرات فیزیولوژیکی برداشت شد.

#### سنجش پارامترهای رشد، اندازه‌گیری وزن تر و خشک

**گیاه:** سنجش تولید ماده تر و خشک گیاه بلافاصله پس از نمونه‌برداری صورت گرفت. بدین صورت که اندام‌های هوایی هر گیاه از هر تیمار و هر تکرار به‌صورت مجزا از قسمت بنه جدا و پس از اندازه‌گیری وزن تر، بر روی فویل آلومینیمی مجزا گذاشته و سپس در آن ۴۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از این مدت وزن خشک بخش هوایی و ریشه توزین شد. بقیه نمونه‌ها برای سنجش‌های فیزیولوژیکی تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

#### اندازه‌گیری طول برگ: سه برگ به‌صورت تصادفی از هر

تکرار انتخاب و توسط خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری و سپس میانگین در هر تکرار محاسبه گردید.

#### اندازه‌گیری SLA: با استفاده از فرمول: سطح برگ/ وزن

خشک، میزان SLA اندازه‌گیری شد.

«گابا» یک آمینواسید غیرپروتئینی چهار کربنه است که بخش قابل توجهی از آمینواسیدهای آزاد در سلول‌های گیاهی را تشکیل می‌دهد (Bouche's and Fromm, 2004). «گابا» در پاسخ به تنش در گیاهان تجمع می‌یابد (Shelp *et al.*, 2012) تنش‌های مختلف از قبیل کمبود اکسیژن، دی‌اکسید کربن بالا، تغییرات دما و برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد مثل 2,4-D در بافت‌های گیاهی باعث تجمع گابا می‌شوند (Zushi and Matsuzoe, 2007). تنش گرمایی، شوری، خشکی، صدمات مکانیکی و اسیدی‌شدن از دیگر تنش‌های مطرح‌شده هستند (Kinnersley and Lin, 2000). کاربرد «گابا» خارجی می‌تواند رشد گیاه، تحمل به تنش از طریق فعالیت آنزیم در مسیرهای متابولیسم نیتروژن، تجمع آلانین محافظ در برابر تنش و جلوگیری از تجمع ROS و مرگ سلول و حذف ROS را بهبود دهد (Barbosa *et al.*, 2010). مطالعه‌ای که بر روی چمن در شرایط تنش کم‌آبی انجام گرفت، نشان داد محلول‌پاشی «گابا» باعث حفظ ثبات غشای سلولی در شرایط تنش کم‌آبی گردیده است (Krishna and Laskowski, 2013). کاربرد «گابا» در افزایش جوانه‌زنی آراییدوپسیس تالیانا، سویا، تنباکو و گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری و سرما گزارش شده است (Renault *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2011; Yin *et al.*, 2008; Akihiro *et al.*, 2014). با توجه به این نکات، هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات فیزیولوژیکی تنش کم‌آبی بر روی زعفران زراعی و هم‌چنین بررسی مقایسه‌ای «گابا» در کاهش اثرات مخرب تنش کم‌آبی و افزایش رشد در گیاه زعفران است.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی مقاومت زعفران زراعی به تنش خشکی و تیمار با «گابا» جهت بهبود تنش، در اواخر مهرماه سال ۱۳۹۷ در شرایط گلخانه‌ای آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تهران آغاز و کشت بنه‌های زعفران زراعی خریداری شده از شهرستان قائن به روش هیدروپونیک انجام شد.

**کشت بنه‌ها، اعمال تنش و نمونه‌برداری:** در این آزمایش

میزان محتوای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) با طول موج ۵۶۰ نانومتر و با استفاده از روش (Giannopolitis and Ries, 1977) اندازه گیری شد.

**سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD):** میزان محتوای آنزیم پراکسیداز به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) با طول موج ۵۳۰ نانومتر و با روش (Abeles and Biles, 1991) اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر حسب تغییرات جذب در دقیقه ( $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ ) محاسبه شد.

**سنجش صفات بیوشیمیایی، سنجش فنل کل براساس روش رنگ سنجی فولین سیوکالتیو:** میزان محتوای فنل کل به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) با طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از روش (Slinkard and Singleton, 1977) اندازه گیری شد. میزان محتوای فنل کل بر حسب میلی گرم بر هر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد.

**سنجش فلاونوئید به روش رنگ سنجی آلومینیم کلراید:** میزان محتوای فلاونوئید به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) Quantitative mode و با طول موج ۴۱۵ نانومتر و با استفاده از روش (Chang *et al.*, 2002) اندازه گیری شد. میزان محتوای فلاونوئید بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد.

**سنجش آنتوسیانین:** میزان محتوای آنتوسیانین به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) Photometric mode با طول موج ۵۵۰ نانومتر و با روش (Wagner, 1979) اندازه گیری شد. محتوای آنتوسیانین بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد.

**بررسی های آماری:** کلیه آزمایش ها فاکتوریل در قالب طرح بلوک تصادفی با سه بار تکرار انجام شده است. برای تعیین میانگین و انحراف معیار و رسم نمودارها، از نرم افزار GraphPad Prism 7.01 استفاده شد. مقایسه کل میانگین ها در سطح احتمال ۵٪ و به روش آزمون توکی (Tukey) صورت گرفته است. برای محاسبه اثرات متقابل دو عامل، ستون پنجمی به عنوان اثر متقابل و تیمار برای یک طرح بلوکی دیگر تجزیه

**سطح برگ:** سطح برگ توسط نرم افزار ImageJ (version 1.51) اندازه گیری شد.

**سنجش های فیزیولوژیکی، سنجش پروتئین محلول:** میزان محتوای پروتئین به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) Quantitative mode، طول موج ۵۹۵ نانومتر با روش (Bradford, 1976) اندازه گیری شد. محتوای پروتئین بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد.

**سنجش میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید:** میزان محتوای کلروفیل و کاروتنوئید به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) در طول موج های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با روش (Arnon, 1967) اندازه گیری شد. سپس محتوای کلروفیل a, b و کاروتنوئید بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه طبق فرمول های زیر محاسبه شد:

$$\text{Chla (mg.ml}^{-1}\text{)} = 12.25(\text{A}_{663.2}) - 2.79(\text{A}_{646.8})$$

$$\text{Chlb (mg.ml}^{-1}\text{)} = 21.51(\text{A}_{646.8}) - 5.10(\text{A}_{663.2})$$

$$\text{ChlT (mg.ml}^{-1}\text{)} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{C}_{x+c} \text{ (mg.ml}^{-1}\text{)} = [(1000\text{A}_{470}) - 1.8 \text{ Chla} - 58.02 \text{ Chlb}] / 198$$

$$x+c = \text{مجموع کاروتن ها و گرانوفیل ها.}$$

**اندازه گیری محتوای مالون دی آلدئید (MDA):** میزان محتوای مالون دی آلدئید به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) Photometric mode (Simoni *et al.*, 2003) در طول موج ۵۳۲ نانومتر و جذب غیراختصاصی ۶۰۰ نانومتر با استفاده از روش (Heath and Packer, 1969) اندازه گیری شد. محتوای مالون دی آلدئید بر حسب میلی مول بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد.

**سنجش اسیدآمینه پرولین:** میزان محتوای اسیدآمینه پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با استفاده از روش (Bates, *et al.*, 1973) اندازه گیری شد. محتوای پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد.

**سنجش فعالیت آنزیم های پاداکسایشی، سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):** میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160 Shimadzu) در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از روش (Aebi, 1974) اندازه گیری شد.

**سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):**

واریانس و مقایسه میانگین تعریف شد.

## نتایج و بحث

**سنجش‌های مورفولوژیکی، طول برگ:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد طول برگ در تنش و اثر متقابل PEG و گابا اختلاف معنی‌داری نداشته است. طول برگ با غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرومولار گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نشان داد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح مختلف گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر طول برگ داشته است (جدول ۲). با افزایش شدت تنش (غلظت ۱۵٪)، طول برگ روند کاهشی یافت و بیش‌ترین طول برگ در گیاهان شاهد مشاهده شد. کم‌ترین طول برگ در شدت تنش ۱۵٪ بود. کاربرد گابا در هر دو غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرومولار باعث افزایش طول برگ در شدت تنش ۱۵٪ گردید ولی در مقایسه با شدت تنش صفر اختلاف معناداری مشاهده نشد. (شکل ۱a). یکی از نشانه‌های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه رشد و توسعه سلول به‌ویژه در ساقه و برگ‌هاست. با کاهش رشد سلول، اندازه اندام محدود شده و به همین دلیل اولین اثر محسوس کم‌آبی بر گیاهان، اندازه کوچک‌تر برگ‌ها یا طول گیاه است (Abbaszadeh et al., 2007). کاهش رشد طولی گیاه با کاهش بزرگ‌شدن سلول‌ها و پیری برگ‌ها مرتبط است (Shao et al., 2008). کاهش طول در اثر تنش کم‌آبی به‌علت بسته‌شدن روزنه‌ها در اثر کاهش پتانسیل آب خاک اتفاق می‌افتد (Shao et al., 2008). نتایج مطالعه (Avarseji et al., 2013) نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری وزن خشک و طول برگ زعفران به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. بر طبق گزارشات Rezvani و همکاران (۲۰۱۲) طول برگ‌های زعفران در تیمار با نانوقره کاهش یافت. گزارش شده است گابا رشد گندمک (*Stellaria longipes*) و عدسک آبی (*Lemna*) تحت تنش را به حالت عادی می‌رساند (Kathiresan et al., 1998; Kinnersley and Lin, 2000). نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش آنالیز واریانس (جدول ۱)، میانگین مربعات (جدول

۲) و شکل ۲a نشان می‌دهند اساساً کاربرد برون‌زای گابا اثرات مخرب کم‌آبی در پارامترهای رشد زعفران را کاهش داده است.

## وزن تر و وزن خشک برگ: تجزیه واریانس (جدول ۱)

نشان می‌دهد وزن تر برگ در تنش در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود. گابا در هر دو غلظت اختلاف معنی‌داری نداشت. هم‌چنین وزن خشک برگ در تیمار گابا و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار و در تنش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح مختلف گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر وزن تر و خشک برگ گردید (جدول ۲). در تنش (غلظت ۱۰٪)، وزن تر برگ کاهش معنی‌داری یافت و بیش‌ترین وزن تر برگ در تنش صفر مشاهده شد. وزن تر برگ با کاربرد گابا، غلظت ۲۵ میکرومولار، در تنش صفر بیش‌ترین میزان را داشت. کاربرد گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ باعث افزایش وزن تر برگ گردید (شکل ۱a). وزن خشک برگ نیز در تنش ۱۰٪ کاهش معنی‌داری داشت و بیش‌ترین وزن خشک برگ در تنش صفر مشاهده شد. وزن خشک برگ با کاربرد گابا، غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش صفر بیش‌ترین میزان را نشان داد. کاربرد گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۵٪ باعث افزایش وزن خشک برگ گردید ولی در مقایسه با گیاه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱b). چهار بدیل و همکاران (۱۳۹۴) با بررسی بر نیشکر گزارش کردند که با افزایش تنش شوری وزن خشک کل کاهش یافت. کمالی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند که در گیاه گل تکمه‌ای، شوری باعث کاهش وزن خشک هوایی شد و تیمار اسید سالیسیلیک وزن خشک بخش هوایی و ریشه را افزایش داد.

## وزن تر و وزن خشک ریشه: تجزیه واریانس (جدول ۱)

نشان می‌دهد وزن تر ریشه در تنش و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود و در تیمار گابا در هر دو غلظت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هم‌چنین وزن خشک ریشه در تیمار گابا و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار

جدول ۱- نتایج حاصل از آنالیز واریانس دوطرفه (two-way ANOVA)

متغیر وابسته		متغیر مستقل	
پلی اتیلن گلیکول	گابا	پلی اتیلن گلیکول+گابا	
طول برگ	۲/۱۵ <sup>ns</sup>	۶/۰۳ <sup>**</sup>	۱/۷۲ <sup>ns</sup>
وزن تر برگ	۱۱/۰۷ <sup>*</sup>	۳/۱۷ <sup>ns</sup>	۱۷/۱۳ <sup>**</sup>
وزن تر ریشه	۱۱/۱۱ <sup>**</sup>	۴/۶۱ <sup>ns</sup>	۱۷/۰۴ <sup>**</sup>
وزن خشک ریشه	۰/۶۷ <sup>ns</sup>	۸/۹۷ <sup>*</sup>	۱۰/۳۲ <sup>*</sup>
وزن خشک برگ	۳/۷۵ <sup>ns</sup>	۷/۶۹ <sup>*</sup>	۱۰/۳۴ <sup>*</sup>
تعداد برگ	۰/۴ <sup>ns</sup>	۴۷/۳ <sup>**</sup>	۱/۶۱ <sup>ns</sup>
محتوای پروتئین	۹/۹۴ <sup>*</sup>	۰/۲۶ <sup>ns</sup>	۸/۴۶ <sup>*</sup>
سوپراکسید دیسموتاز	۷/۱۵ <sup>*</sup>	۱۳۲/۴۷ <sup>**</sup>	۲۵/۱۹ <sup>**</sup>
کاتالاز	۴/۷۴ <sup>ns</sup>	۱۸/۶۹ <sup>**</sup>	۹/۳۵ <sup>*</sup>
پروлін	۵/۳۴ <sup>*</sup>	۶۱/۸۰ <sup>**</sup>	۶/۴۸ <sup>*</sup>
کلروفیل a	۴۹/۷۱ <sup>**</sup>	۰/۸۳ <sup>ns</sup>	۹۶/۵۰ <sup>**</sup>
کلروفیل b	۲۱/۱۷ <sup>**</sup>	۴/۵۶ <sup>ns</sup>	۳۳/۷۷ <sup>**</sup>
کاروتنوئید	۲۵/۷۳	۲/۰۷	۳۲/۱۸
محتوای آب ریشه	۰/۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۵۲ <sup>ns</sup>
فنل	۵۷/۲۰	۶/۰۶	۸۱/۷۶
فلاوونوئید	۲۶/۹۳ <sup>**</sup>	۱/۵۶ <sup>ns</sup>	۱۰/۳۱ <sup>**</sup>
آنتوسیانین	۱۱/۹۱ <sup>**</sup>	۶۹/۸۶ <sup>**</sup>	۸۲/۱۴ <sup>**</sup>
سطح برگ	۶/۲۸ <sup>*</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>	۹/۳۵ <sup>*</sup>
نسبت سطح برگ به وزن خشک	۱/۹۲ <sup>ns</sup>	۱۳/۳۶ <sup>*</sup>	۳/۴ <sup>ns</sup>
مالون دی آلدئید	۴۵/۳۲ <sup>**</sup>	۲۵/۲۴ <sup>**</sup>	۴۳/۰۹ <sup>**</sup>

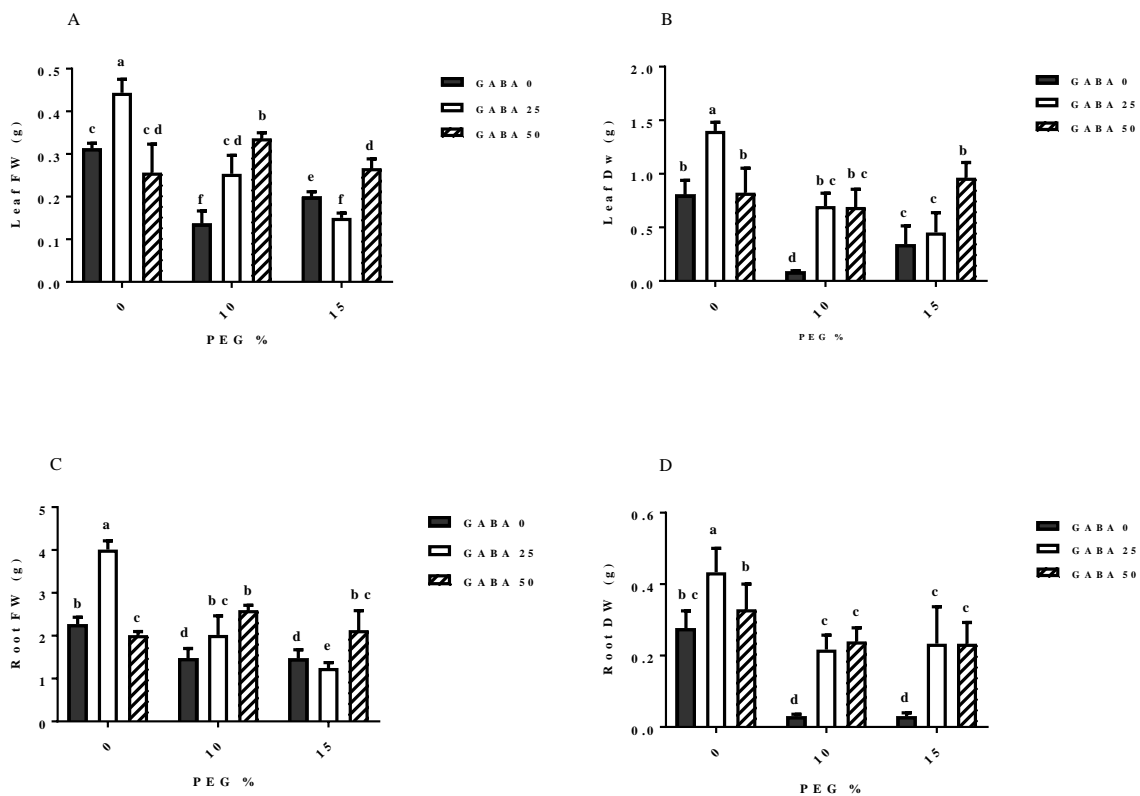
<sup>ns</sup> عدم وجود تفاوت معنی دار، \* معنی داری در سطح (P ≤ ۰/۰۵)، \*\* معنی داری در سطح (P ≤ ۰/۰۱)، \*\*\* معنی داری در سطح (P ≤ ۰/۰۰۱).

و در تنش اختلاف معنی داری مشاهده نشد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح مختلف گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر وزن تر و خشک ریشه گردید (جدول ۲). در تنش‌های با غلظت ۱۰٪ و ۱۵٪، وزن تر ریشه کاهش یافت ولی معنی دار نبود. بیش‌ترین وزن تر ریشه در تنش صفر مشاهده شد. وزن تر ریشه با کاربرد گابا، غلظت ۲۵ میکرومولار، در تنش صفر بیش‌ترین میزان را داشت. کاربرد گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ باعث افزایش وزن تر ریشه گردید (شکل ۱c). وزن خشک ریشه در

تنش‌های ۱۰٪ و ۱۵٪ کاهش معنی داری داشت و بیش‌ترین وزن خشک ریشه در تنش صفر مشاهده شد. وزن خشک ریشه با کاربرد گابا، غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش صفر بیش‌ترین میزان را نشان داد. کاربرد گابا در غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرومولار و در تنش‌های ۱۰٪ و ۱۵٪ باعث افزایش وزن خشک ریشه گردید و اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۱d). به گزارش Thomas Fernandez و همکاران (۱۹۹۷) وزن خشک ریشه گیاه سیب (Imperial Gala) در تنش کم‌آبی کاهش می‌یابد. به گزارش Usha و Singh (۲۰۰۳) کاربرد اسید سالیسیلیک در گندم تحت تنش شوری باعث افزایش وزن

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پلی اتیلن گلیکول و گابا بر صفات مورفولوژیکی (ریخت شناسی)

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول برگ	تعداد برگ	سطح برگ	SLA	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه
پلی اتیلن گلیکول×گابا	۴	۱۹	۹/۶	۴۷۲	۵۰۸۳	۰/۰۲۷	۰/۲۵	۰/۰۶۵
پلی اتیلن گلیکول	۲	۲۴	۳۸	۷۰۳	۸۹۹۱	۰/۰۴۲	۰/۶۸	۰/۱
گابا	۲	۱۰۲	۳۳۳	۳/۳	۵۴۷۱	۰/۰۱۴	۰/۵۵	۰/۰۸۷
تطابق (نمونه)	۶	۱۷	۷/۱	۵۵	۴۰۹	۰/۰۰۴۴	۰/۰۷۱	۰/۰۰۹۷
خطا	۱۲	۱۱	۲۴	۷۵	۲۶۴۷	۰/۰۰۲۴	۰/۰۶۶	۰/۰۰۹۷
کل	۲۶							



شکل ۱- نتایج مورفولوژیکی وزن تر برگ (A)، وزن خشک برگ (B)، وزن تر ریشه (C) و وزن خشک ریشه (D)

خشک ریشه شد. سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح مختلف گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا باعث اثر بهبوددهندگی بر تعداد برگ بوده است (جدول ۲). در تنش با غلظت‌های ۱۰٪ و ۱۵٪ تعداد برگ کاهش معنی‌داری یافت ولی اختلاف معنی‌داری در این کاهش و در این غلظت‌های تنش مشاهده

تعداد برگ‌ها: تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد تعداد برگ در تنش و اثر متقابل PEG و گابا اختلاف معنی‌داری نداشته است. تعداد برگ در تیمار با گابا در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار بود. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر

نشد. بیشترین تعداد برگ در تنش صفر مشاهده شد. کاربرد گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ باعث افزایش تعداد برگ گردید ولی در مقایسه با تنش صفر در همین غلظت گابا، اختلاف معناداری مشاهده نشد. (شکل ۱b). تعداد و طول برگ‌های زعفران به‌عنوان مهم‌ترین اجزای تعیین‌کننده شاخص سطح برگ این گیاه تأثیر زیادی در تعیین ظرفیت فتوسنتزی زعفران دارند. برگ‌ها به‌عنوان اندام تولیدکننده مواد فتوسنتزی، مواد پرورده لازم را برای بنه‌ها و ریشه تهیه و به آنها منتقل می‌کنند. میزان مواد انتقال‌یافته به بنه و ریشه‌ها به سطح فتوسنتزکننده و راندمان فتوسنتز در واحد سطح برگ بستگی دارد (Kafi et al., 2006b). نتایج Naghizadeh و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد با افزایش تنش شوری، تعداد برگ و اندام هوایی گیاه زعفران به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد که نتایج حاضر را تأیید می‌کند. کاهش تعداد برگ‌ها با افزایش کم‌آبی می‌تواند کاهش اندازه سلول، کاهش تولید برگ، تقویت پیری و ریزش برگ باشد (Karamanos, 1980). کاهش تعداد برگ‌ها در گیاه *Conocarpus erectus* (چنار) در تنش کم‌آبی مشاهده شده است (EI-Juhany and Aref, 2005).

**سطح برگ:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد سطح برگ در تنش و اثر متقابل PEG و گابا اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ داشته است. سطح برگ در تیمار با گابا با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح مختلف گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر سطح برگ داشته است (جدول ۲). با افزایش شدت تنش (غلظت ۱۵٪)، سطح برگ کاهش یافت و بیشترین سطح برگ در تنش با غلظت ۱۰٪ مشاهده شد. کاربرد گابا با غلظت ۲۵ میکرومولار باعث افزایش میزان SLA در تنش ۱۰٪ گردید. کم‌ترین میزان SLA با تیمار گابا در تنش صفر مشاهده شد (شکل ۱d). از آنجایی که افزایش SLA به معنای نازک‌تر بودن ضخامت برگ است، تنش کم‌آبی باعث کاهش چشمگیر ضخامت برگ گردید. در این پژوهش کاربرد گابا ۲۵ میکرومولار در تنش ۱۰٪ باعث افزایش ضخامت برگ گردید. هر چه مقدار SLA کمتر باشد، برگ قطورتر و سلول‌های مزوفیلی بیشتری در واحد وزن برگ وجود دارد. بنابراین در صورت کاهش سطح برگ، مقدار آن تا حدودی از طریق افزایش قطر برگ جبران می‌شود. از جمله تغییراتی که در نتیجه تنش خشکی حاصل می‌شود، کاهش سطح برگ و حجم سلولی کوچکتر و افزایش ضخامت برگ است. کاهش تعرق، علت کاهش سطح برگ در شرایط تنش است (Pessarkli, 1993). تنش کم‌آبی باعث کاهش اندازه سلول‌های برگ و در نهایت کاهش SLA در گندم می‌شود (Gibson and

کاهش دهد که به کاهش بیشتر فتوسنتز منجر می‌شود.

**میزان SLA:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد میزان SLA در تنش و اثر متقابل PEG و گابا اختلاف معنی‌داری نداشته است. میزان SLA با تیمار گابا در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بود. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح مختلف گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر میزان SLA داشته است (جدول ۲). با افزایش شدت تنش (غلظت ۱۵٪)، میزان SLA افزایش معنی‌داری یافت و بیشترین میزان SLA در تنش ۱۵٪ مشاهده شد. کاربرد گابا با غلظت ۲۵ میکرومولار باعث افزایش میزان SLA در تنش ۱۰٪ گردید. کم‌ترین میزان SLA با تیمار گابا در تنش صفر مشاهده شد (شکل ۱d). از آنجایی که افزایش SLA به معنای نازک‌تر بودن ضخامت برگ است، تنش کم‌آبی باعث کاهش چشمگیر ضخامت برگ گردید. در این پژوهش کاربرد گابا ۲۵ میکرومولار در تنش ۱۰٪ باعث افزایش ضخامت برگ گردید. هر چه مقدار SLA کمتر باشد، برگ قطورتر و سلول‌های مزوفیلی بیشتری در واحد وزن برگ وجود دارد. بنابراین در صورت کاهش سطح برگ، مقدار آن تا حدودی از طریق افزایش قطر برگ جبران می‌شود. از جمله تغییراتی که در نتیجه تنش خشکی حاصل می‌شود، کاهش سطح برگ و حجم سلولی کوچکتر و افزایش ضخامت برگ است. کاهش تعرق، علت کاهش سطح برگ در شرایط تنش است (Pessarkli, 1993). تنش کم‌آبی باعث کاهش اندازه سلول‌های برگ و در نهایت کاهش SLA در گندم می‌شود (Gibson and

(Paulsen, 1999).

متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر میزان کلروفیل b داشته است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) با افزایش شدت تنش (غلظت ۱۵٪)، در محتوای کلروفیل b کاهش معنی‌داری مشاهده شد و بیش‌ترین میزان کلروفیل b در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای کلروفیل b با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش صفر مشاهده شد. کاربرد گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ باعث افزایش محتوای کلروفیل b در مقایسه با گیاه شاهد در همین غلظت گابا گردید. محتوای کلروفیل برگ در تنش شوری می‌تواند به دلیل کمبود یون‌های منیزیم و پتاسیم (به‌عنوان عناصر اصلی در سنتز کلروفیل) و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و هم‌چنین تخریب ساختمان کلروفیل کاهش یابد (Oraei et al., 2009). در اثر تنش شوری و کم‌آبی میزان کلروفیل کاهش می‌یابد، زیرا گلوتامات که ماده پیش‌ساخته کلروفیل و اسیدآمین پیرولین است، صرف تولید پیرولین می‌شود (Molazem et al., 2010). دلیل دیگر کاهش کلروفیل این است که پیرولین پیش‌ساز گابا است. به این معنی که وقتی گابا در محیط موجود است پیرولین کمتر مصرف شده و مصرف کلروفیل برای تولید پیرولین نیز کاهش می‌یابد. در نتیجه کاربرد برون‌زای گابا به‌طور غیرمستقیم باعث افزایش محتوای کلروفیل (یا کاهش مصرف آن) می‌گردد (Sivritepe et al., 2010). افزایش تنش کم‌آبی باعث کاهش قابل توجه در کلروفیل a و کلروفیل b می‌شود، اما گابا این صفات را بهبود می‌بخشد (Wang et al., 2009). نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نیز نشان می‌دهند که گابا باعث بهبود میزان کلروفیل a و کلروفیل b در غلظت تنش ۱۰٪ گردیده است. گابا مورفولوژی رشد، عملکرد دستگاه فتوسنتزی، ظرفیت تبادل گازها، بیوسنتز کلروفیل، پاسخ‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و پایداری غشا در گوجه‌فرنگی را تقویت می‌کند (Luo et al., 2011). افزایش رشد جوانه و شبکه فتوسنتزی در ذرت توسط گابا گزارش شده است (Li et al., 2016a). کاهش محتوای کلروفیل در نتیجه کمبود آب در آفتابگردان گزارش شده است (Ebrahimian and Bybordi, 2012).

سنجش‌های فیزیولوژیکی، سنجش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b و کاروتنوئید): تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد میزان کلروفیل a در تنش و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌داری داشته است. محتوای کلروفیل a با تیمار گابا در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی بر میزان کلروفیل a داشته است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) با افزایش شدت تنش (غلظت ۱۵٪)، در محتوای کلروفیل a کاهش معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین میزان کلروفیل a در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای کلروفیل a با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش صفر مشاهده شد. کاربرد گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ باعث افزایش محتوای کلروفیل a در مقایسه با گیاه شاهد در همین غلظت گابا گردید. انتقال مواد فتوسنتزی تحت تأثیر تنش کم‌آبی کاهش یافته و موجب تجمع و اشباع برگ‌ها از این مواد می‌گردد که فتوسنتز را محدود می‌نماید. محدود شدن فتوسنتز، رشد گیاه و عملکرد آن را کاهش می‌دهد (Pirzad, 2007). رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش کم‌آبی نقش به‌سزایی در تخریب و کاهش مقدار کلروفیل در برگ دارند (Siddique et al., 1999). رنگیزه‌های فتوسنتزی و غشای تیلاکوئید در کم‌آبی آسیب می‌بینند (Anjum et al., 2011). محتوای کلروفیل تحت شرایط خشکی کاهش می‌یابد (Din et al., 2011). افزایش ROS ناشی از کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در اثر تنش کم‌آبی است (Kiani et al., 2008). تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد میزان کلروفیل b در تنش و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌داری داشته است. محتوای کلروفیل b با تیمار گابا در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح گابا باعث افزایش و اثر

جدول ۳- میانگین واریانس اثر گابا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، مالون دی‌آلدئید، پروتئین، آنزیم‌های پاداکساید

پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پروتئین	مالون دی‌آلدئید	پرولین	کاروتنوئید	Chl b	Chl a	تیمار
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۵ <sup>e</sup>	۵/۵ <sup>b</sup>	۲۴۰/۵ <sup>a</sup>	۰/۱ <sup>d</sup>	۶/۸ <sup>d</sup>	۷/۳ <sup>a</sup>	۹/۲ <sup>a</sup>	۱۸/۴ <sup>a</sup>	پلی اتیلن گلیکول ٪۰
۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۴ <sup>f</sup>	۴/۵ <sup>e</sup>	۲۳۴/۴ <sup>d</sup>	۰ <sup>e</sup>	۰	۷/۲ <sup>d</sup>	۲/۲ <sup>d</sup>	۶/۸ <sup>c</sup>	پلی اتیلن گلیکول ٪۱۰
۴/۲ <sup>a</sup>	۰/۰۰۱۲ <sup>g</sup>	۲/۴ <sup>cd</sup>	۲۷۱/۴ <sup>c</sup>	۰ <sup>e</sup>	۰	۵/۷ <sup>f</sup>	۰	۰ <sup>g</sup>	پلی اتیلن گلیکول ٪۱۵
۲/۷	۰/۰۰۲۱ <sup>a</sup>	۵/۱ <sup>b</sup>	۱۶۲/۲ <sup>d</sup>	۰/۱ <sup>c</sup>	۲۵/۲ <sup>b</sup>	۶/۷ <sup>b</sup>	۴/۶ <sup>b</sup>	۱۲/۹ <sup>a</sup>	پلی اتیلن گلیکول +۲۵ گابا
۰/۹ <sup>c</sup>	۰/۰۰۱۷ <sup>c</sup>	۳/۱ <sup>c</sup>	۲۱۳/۳ <sup>c</sup>	۰ <sup>e</sup>	۲۰/۳ <sup>c</sup>	۵ <sup>f</sup>	۰/۷ <sup>g</sup>	۳/۱ <sup>f</sup>	پلی اتیلن گلیکول +۱۰ گابا ۲۵
۴/۵ <sup>a</sup>	۰/۰۰۱۶ <sup>d</sup>	۲/۷ <sup>cd</sup>	۲۱۵/۴ <sup>b</sup>	۰/۴ <sup>b</sup>	۲۶/۴ <sup>a</sup>	۶/۴ <sup>e</sup>	۱/۴ <sup>e</sup>	۴/۴ <sup>e</sup>	پلی اتیلن گلیکول +۱۵ گابا ۲۵
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۹ <sup>b</sup>	۵/۷ <sup>b</sup>	۱۸۳/۳ <sup>cd</sup>	۰/۳ <sup>a</sup>	۶/۶ <sup>d</sup>	۴/۷ <sup>e</sup>	۱/۱ <sup>f</sup>	۵/۲ <sup>d</sup>	پلی اتیلن گلیکول +۵۰ گابا ۵۰
۳/۴ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>a</sup>	۲/۱ <sup>d</sup>	۱۶۳/۸ <sup>d</sup>	۰ <sup>e</sup>	۴/۲ <sup>d</sup>	۵/۸ <sup>c</sup>	۲/۵ <sup>c</sup>	۹/۲ <sup>b</sup>	پلی اتیلن گلیکول +۱۰ گابا ۵۰
۴/۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۱۶ <sup>d</sup>	۶/۳ <sup>a</sup>	۲۲۴ <sup>b</sup>	۰ <sup>e</sup>	۵/۵ <sup>d</sup>	۵/۲ <sup>c</sup>	۲/۱ <sup>cd</sup>	۷/۴ <sup>bc</sup>	پلی اتیلن گلیکول +۱۵ گابا ۵۰

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح ( $P \leq 0.05$ ) آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. اختلاف اعداد دارای حروف غیرمشترک معنی‌دار است ( $P \leq 0.01$ ).

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پلی‌اتیلن گلیکول و گابا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنزیم‌های پاداکسایشی، فعالیت‌های بیوشیمیایی، پرولین، پروتئین و مالون دی‌آلدئید

میانگین مربعات						درجه آزادی	منبع تغییرات
پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	کاروتنوئید	Chl b	Chl a		
۱/۷	۹/۵e-۰۰۸	۱۳	۲۱۰	۲۴	۱۰۶	۴	پلی اتیلن گلیکول×گابا
۱۰۷	۳/۴e-۰۰۷	۱۵	۲۶۲	۳۸	۲۰۶	۲	پلی اتیلن گلیکول
۲	۷/۴e-۰۰۷	۲۶	۴۱	۸/۷	۳/۹	۲	گابا
۵/۹	۵/۶e-۰۰۹	۰/۷۸	۲۰	۱/۹	۴/۷	۶	تطابق (نمونه)
۲/۸	۱/۳e-۰۰۸	۲/۸	۸/۱	۱/۱	۲/۱	۱۲	خطا
						۲۶	کل

کاهش معنی‌داری مشاهده شد و بیش‌ترین محتوای کاروتنوئید در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای کاروتنوئید با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش صفر مشاهده شد. در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای کاروتنوئید با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش صفر مشاهده شد. کاربرد گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ باعث افزایش محتوای کاروتنوئید در مقایسه با گیاه شاهد در همین غلظت گابا گردید. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده مکانیسم‌های دفاعی مختلفی شامل آنزیمی و غیرآنزیمی را

**محتوای کاروتنوئید:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای کاروتنوئید در تنش و اثر متقابل PEG و گابا اختلاف معنی‌داری نداشته است. محتوای کاروتنوئید با تیمار گابا در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری داشت. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی محتوای کاروتنوئید در مقایسه با گیاه کنترل داشته است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) با افزایش شدت تنش (غلظت ۱۵٪)، در محتوای کاروتنوئید

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		فل	فلاونوئید	آنتوسیانین	پرولین	پروتئین
پلی اتیلن گلیکول×گابا	۴	۳۵۸۱۴۴	۹۳۶۱۳	۳۵۲۳	۵۵	۳۲۵۲
پلی اتیلن گلیکول	۲	۵۱۱۸۸۱	۳۵۸۴۰	۲۴۳۰۹	۶۷	۴۱۲۶
گابا	۲	۲۹۰۷۱۹	۱۲۶۲۴	۱۳۱۸۴	۱۵۲۷	۷۷۳
تطابق (نمونه)	۶	۴۷۹۴۱	۸۱۰۲	۱۸۹	۲۵	۳۰۱۶
خطا	۱۲	۶۲۶۱	۳۴۷۶	۲۹۶	۱۰	۱۶۷۴
کل	۲۶					

به کار می برند (Ozkur et al., 2009). سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیب‌های متفرقه (از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنل‌ها) است. یکی از صدمات مهم اکسیداتیو که در این شرایط ایجاد می‌شود تخریب مولکول کلروفیل است. به دنبال این تخریب، گیاه رنگی به نظر می‌رسد که دلیل آن افزایش و قابل رؤیت شدن رنگیزه‌های محافظ کاروتنوئیدها (مانند گزانتوفیل، کاروتن، لیکوپن) و آنتوسیانین است (Chalker-Scott, 2002). کاروتنوئیدها در این شرایط قادرند انرژی زیاد طول‌موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه‌تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده نقش پاداکسایشی خود را ایفا کنند (Inze and Montagu, 2000). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، در گیاه توت‌فرنگی وحشی (*Arbutus*) (Munne-Bosch and Penuelas, 2004) نیز تحت تنش شدید، کلروفیل ۶۳٪ و کاروتن ۷۵٪ کاهش یافت که به عقیده آن‌ها تخریب کاروتن در تنش شدید را می‌توان به اکسیژن یکتایی تولیدشده در تیلاکوئید ربط داد.

**محتوای پرولین:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای پرولین در تنش و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار داشته است. محتوای پرولین با تیمار گابا در سطح ۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌داری نشان داد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی محتوای پرولین در مقایسه با گیاه کنترل شده

است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) در تنش با غلظت‌های ۱۰٪ و ۱۵٪، در محتوای پرولین کاهش معنی‌داری مشاهده شد و بیش‌ترین محتوای پرولین در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای پرولین با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش ۱۵٪ مشاهده شد. سطوح گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار در تنش‌های با غلظت صفر، ۱۰ و ۱۵ درصد اختلاف معنی‌داری در محتوای پرولین نشان نداد. در پژوهش حاضر محتوای پرولین گیاه تحت تنش کاهش یافت و تیمار گابا باعث افزایش پرولین در تنش زیاد گردیده و باعث تحمل گیاه زعفران در برابر تنش شده است. مطابق مطالعاتی که توسط (Cheruth and Azooz, 2009) بر گیاه زعفران انجام شد، حضور کلسیم در شرایط تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز و کاهش محتوای پرولین در گیاه می‌شود که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت. در تیمار نانونقره همراه با شوری در گیاه زعفران، پرولین نسبت به شاهد افزایش یافت. تصور می‌شود تجمع پرولین ناشی از فعال‌سازی بیوسنتز و غیرفعال‌کردن مسیرهای تخریب آن در طول تنش باشد که در پی پاسخ گیاه به تنش، اسمولیت‌ها تولید می‌شود (Abraham et al., 2003). سطوح بالای پرولین، گیاه را قادر می‌سازد تا پتانسیل آبی خود را پایین نگه دارد (Valliyodan and Nguyen, 2006). متابولیت‌هایی مانند گابا و سایر قندها یا قندهای الکلی مانند سوربیتول و مانیتول، اسیدهای آمینه و آمین‌ها، تحت تنش در گونه‌های گیاهی مختلف تجمع می‌یابند. این متابولیت‌ها می‌توانند به‌عنوان اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها

بیولوژیکی افزایش می‌یابد. MDA یکی از تولیدات نهایی اکسیداتیو لیپیدها است و پاسخی برای آسیب غشای سلول شامل تغییرات خواص درونی غشا از قبیل سیالیت، انتقال یون، کاهش فعالیت آنزیم و پروتئین است. این تغییرات به مرگ سلول می‌انجامد (Sharma et al., 2012). افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی به کاهش میزان MDA و خسارت تنش در سلول‌ها، به گیاهان کمک می‌کند (Murugu et al., 2003). با افزایش غلظت NaCl در گیاه زعفران میزان MDA افزایش می‌یابد (Yasar et al., 2008a). گزارش شده است تنش کم‌آبی باعث کاهش محتوای MDA در گیاهان چچم چندساله گردیده و کاربرد خارجی گابا باعث کاهش میزان MDA از طریق حفظ پایداری غشا گردیده است (Krishna and Laskowski, 2013). گابا نقش محافظتی در سرتاسر غشا با کنترل پراکسیداسیون لیپید در جوانه‌های جو دارد (Song et al., 2010). بنابراین کاهش پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه حفظ پایداری غشای سلول در اثر کاربرد گابا را می‌توان به نقش گابا در جلوگیری از تجمع ROS و افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی نسبت داد.

**محتوای پروتئین:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای پروتئین در تنش و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار داشته است. در محتوای پروتئین با تیمار گابا اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، سطوح گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی محتوای پروتئین در مقایسه با گیاه کنترل گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) در تنش با غلظت ۱۰٪، محتوای پروتئین کاهش یافت و بیشترین محتوای پروتئین در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای پروتئین با تیمار گابا در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار در تنش ۱۵٪ بدون اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند تنش‌های غیرزیستی از ساخت بعضی پروتئین‌ها ممانعت کرده و ساخت بعضی دیگر را افزایش می‌دهند. به‌طور کلی تنش‌های غیرزیستی باعث کاهش محتوای

به گیاهان تحت تنش کمک کنند (Krishna and Laskowski, 2013). گابا با افزایش فعالیت پرولین - ۵ کربوکسیلات و سرکوب کردن فعالیت پیرووات دهیدروژناز، منجر به تجمع پرولین در گیاه می‌شود. این نشان می‌دهد که در پژوهش حاضر گابا با غلظت ۲۵ میکرومولار باعث افزایش پرولین در تنش شدید گردیده است. افزایش محتوای پرولین در اثر کاربرد گابا در ذرت توسط (Li et al., 2016a) و فلفل سیاه توسط (Vijayakumari and Puthur, 2015) گزارش شده است. کاربرد خارجی گابا در میوه‌های هلو انبارشده باعث افزایش تجمع گابای درونی و تجمع بیشتر پرولین شده و منجر به کاهش خسارت ناشی از صدمات سرما در انبارداری طولانی مدت هلو می‌شود (Shang et al., 2011).

**مالون دی‌آلدئید (MDA):** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای MDA در تنش و اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌دار داشته است. محتوای MDA با تیمار گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نشان داد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف PEG باعث کاهش، گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا باعث افزایش محتوای MDA در مقایسه با گیاه کنترل شده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) در تنش با غلظت‌های ۱۰٪ و ۱۵٪، در محتوای MDA کاهش معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین محتوای MDA در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای MDA با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش ۱۵٪ مشاهده شد. سطوح گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار بیشترین میزان MDA را در تنش صفر نشان داد و در تنش‌های ۱۰٪ و ۱۵٪ با همین غلظت گابا، کاهش معنی‌داری در محتوای MDA مشاهده شد. MDA فرآورده پراکسایش لیپید است که به آنزیم‌ها و غشاهای گیاهی آسیب می‌رساند، نشت الکترولیت‌ها را افزایش می‌دهد و به‌عنوان نشانه آسیب‌شناسی القاشده با تنش در نظر گرفته می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها در غشاهای بیولوژیکی یکی از مهم‌ترین نشانه‌های تنش اکسیداتیو در گیاهان هستند. ظرفیت سطوح ROS برای مهار پراکسیداسیون لیپید (LP) در غشاهای

در این شرایط آنزیم‌های پاداکسایشی گیاهان از قبیل CAT و پراکسیداز فعال می‌شوند و ROS را تجزیه می‌کنند. در نتیجه ظرفیت پاداکسایشی گیاهان افزایش می‌یابد که با تحمل تنش در گیاهان رابطه مستقیم دارند (Hayat and Ahmad, 2007; Mittler, 2002). آنزیم‌های CAT و پراکسیداز به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های مهارکننده  $H_2O_2$  شناخته شده‌اند که میزان خسارت ناشی از ROS با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه می‌تواند تقلیل یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸). تیمار گابا فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی مانند CAT و سوپراکسید دیسموتاز را تحت تأثیر قرار می‌دهد که ثبات غشای سلولی را در برابر اثرات مضر ROS مثل رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل حفظ می‌کند (Mittler, 2002). در زعفران‌های منطقه دیهوک در گیاه *Cassia angustifolia* تحت تنش شوری افزایش فعالیت کاتالاز گزارش شده است (Ashraf and Harris, 2004).

**آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD):** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای SOD در تنش در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری داشت. محتوای SOD در اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نشان داد. محتوای SOD با تیمار گابا در سطح ۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر PEG باعث کاهش، گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا باعث افزایش محتوای SOD گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) در تنش با غلظت ۱۵٪، محتوای SOD کمترین میزان و بیشترین محتوای SOD در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای SOD با تیمار گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ در مقایسه با گیاه در تنش صفر با همین غلظت کاربرد گابا مشاهده شد. بیشترین میزان SOD در تیمار گابا با غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش صفر مشاهده شد. SOD آنزیم کلیدی است که  $O_2^-$  را به  $H_2O_2$  تبدیل می‌کند.  $H_2O_2$  به‌نوبه خود توسط آنزیم CAT حذف می‌شود. در طی تنش کم‌آبی، یکی از بیشترین آسیب‌هایی که به بافت

پروتئین محلول در گیاه می‌شوند (Tester and Davenport, 2003). در راستای تأیید یافته‌های به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، افزایش محتوای پروتئین محلول بر اثر کاربرد گابا در گیاه ذرت گزارش شده است (Li et al., 2016a). تأثیر افزایش در مقدار پروتئین برگ‌های گیاه فلفل در تیمار با سالیسیلیک اسید گزارش شده است (مهدویان و همکاران، ۱۳۸۷). افزایش سطوح پروتئین محلول تحت تنش دمای کم در رابطه با غلظت گابا در برگ‌های شاه‌توت توسط (Li et al., 2018) گزارش شده است.

### سنجش کمی آنزیم‌های پاداکساینده، آنزیم کاتالاز

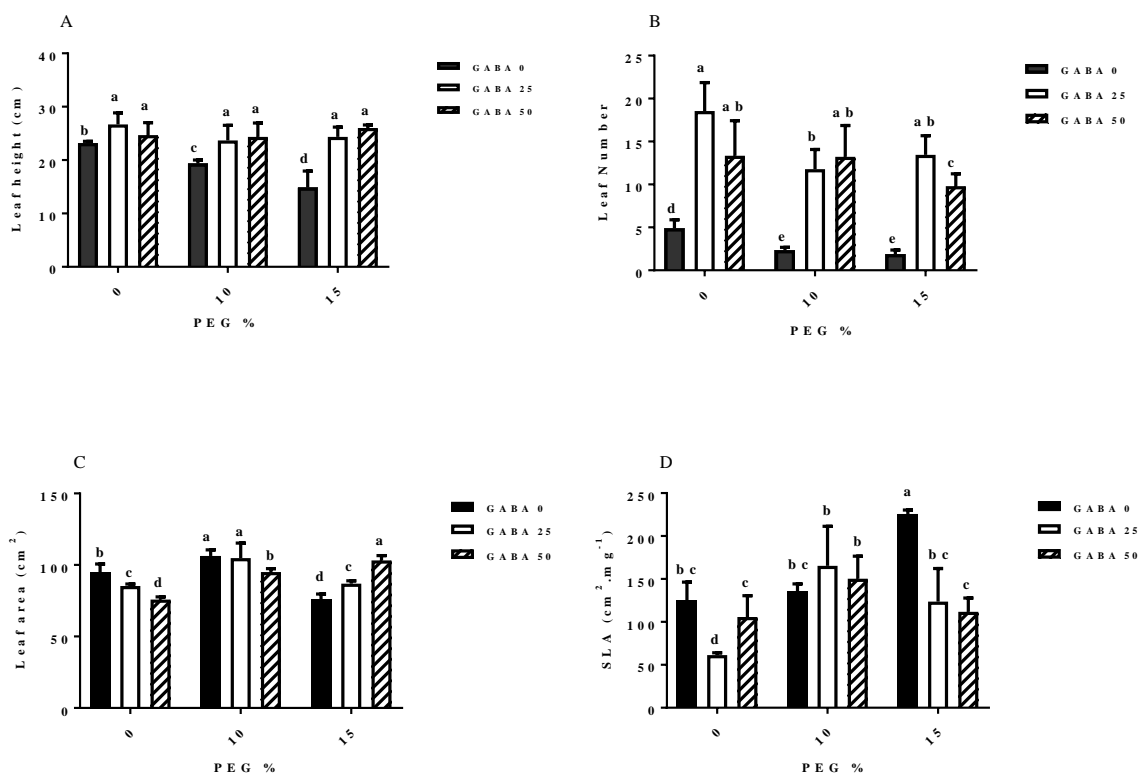
**(CAT):** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای CAT در تنش اختلاف معنی‌داری نداشت. محتوای CAT در اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار نشان داد. محتوای CAT با تیمار گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر PEG باعث کاهش، گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا باعث افزایش محتوای CAT در مقایسه با گیاه کنترل گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) در تنش با غلظت ۱۰٪، محتوای CAT کمترین میزان و بیش‌ترین محتوای CAT در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای CAT با تیمار گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۵٪ در مقایسه با گیاه در تنش صفر مشاهده شد. CAT نسبت به آنزیم پراکسیداز (POD) در جاروب‌کردن  $H_2O_2$  از کارایی کمتری برخوردار است (Kanazawa et al., 2000). کاتالاز گیاهی نقش مهمی را در دفاع پاداکسایشی در پاسخ به تنش‌های محیطی و به همان اندازه در تنش‌های فیزیولوژیکی بازی می‌کنند (Scandalios, 1994). محققان معتقدند که فعالیت CAT در تنش‌های شدید افزایش می‌یابد و در تنش‌های کم، پاکسازی  $H_2O_2$  برعهده چرخه گلوکاتایون - آسکوربات است (Bailly, 2004). افزایش مشاهده‌شده در فعالیت آنزیم‌های CAT، پراکسیداز و فعالیت پاداکسایشی برگ با افزایش شدت تنش کم‌آبی حاکی از آن است که تنش کم‌آبی با القای تنش اکسیداتیو در گیاهان موجب افزایش ترکیبات ROS می‌گردد که

POD در مقاومت زعفران نسبت به تنش کم‌آبی اثرگذارتر بوده است. گابا احتمالاً از طریق افزایش آنزیم‌های پاداکسایشی مانند POD، پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده و در نتیجه سبب پایداری غشای سلولی می‌گردد (Krishna and Laskowski, 2013). با توجه به اینکه POD در حذف ROS حاصل از تنش و در سنتز فنل‌ها و لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش دارد، چنین استنباط می‌شود که فعالیت POD می‌تواند از این روش به افزایش مقاومت گیاه به تنش منجر شود.

**نتایج حاصل از سنجش‌های بیوشیمیایی، فنل کل: تجزیه** واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای فنل در تنش و در اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌داری داشت. محتوای فنل با تیمار گابا در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر PEG باعث افزایش، گابا کاهش و اثر متقابل PEG و گابا باعث افزایش محتوای فنل گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (شکل ۲a) در تنش با غلظت‌های ۱۰٪ و ۱۵٪، محتوای فنل در مقایسه با گیاه در تنش صفر افزایش یافت و کمترین میزان فنل در تنش صفر مشاهده شد. طبق گزارشات به‌دست‌آمده به‌دلیل اینکه ترکیبات فنلی از اسمولیت‌های سازگار هستند، در شرایط تنش با تجمع در بافت‌های گیاهی باعث مقاومت گیاه می‌شوند. بیشترین محتوای فنل با تیمار گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار و در تنش صفر مشاهده شد. کمترین میزان فنل در تیمار گابا با غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ مشاهده شد. ترکیبات فنلی بسیاری از ترکیبات حلقوی مثل فنل، فلاوون‌ها، فلاوونوئیدها، تانن‌ها و لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مثل تریپتوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. این ترکیبات دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و پاداکسایشی هستند (Andre et al., 2009). یکی از عملکردهای مهم فنل‌ها، شرکت آن‌ها در مکانیسم‌های دفاعی است (Solar et al., 2006). ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی که انتشار وسیعی در گیاهان دارند از پاداکساینده‌های طبیعی هستند. بررسی‌ها نشان می‌دهد بین فعالیت پاداکسایشی و ترکیبات فنلی کل ارتباط مثبتی

گیاه وارد می‌شود تولید بالای ROS است. ROS باعث انواع اثرات زیان‌آور از قبیل پراکسیداسیون لیپید، آسیب به اسیدهای نوکلئیک، کاهش پروتئین و مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول می‌شود (Sharma et al., 2012). در مشاهدات Maria و همکاران (۲۰۰۲) تنش کم‌آبی موجب کاهش فعالیت SOD در برگ و ساقه لاین‌های یونجه‌های خالص چندساله و تراریخته شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. هم‌چنین مشاهدات Dolatabadian و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ذرت دانه‌ای نشان می‌دهد در شرایط تنش کم‌آبی، فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی افزایش می‌یابد. گزارش شده است فعالیت SOD در گیاه گندم در تنش کم‌آبی با غلظت پایین سالیسیلیک اسید کاهش می‌یابد، ولی در غلظت‌های بالا اثر افزایشی دارد (Singh and Usha, 2003). گابا به‌طور قابل توجهی فعالیت POD و SOD را افزایش داده که به کاهش آسیب اکسیداتیو در علف خرنده تحت تنش گرما کمک می‌کند (Luo et al., 2011).

**آنزیم پراکسیداز (POD):** میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر PEG باعث کاهش، گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی در محتوای POD گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (جدول ۳) در تنش با غلظت ۱۵٪، محتوای POD به بیشترین میزان خود رسید و کاهش معنی‌دار در محتوای POD در تنش صفر و ۱۰٪ مشاهده شد. بیشترین محتوای POD با تیمار گابا در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار و در تنش ۱۵٪ در مقایسه با گیاه در تنش صفر با همین غلظت‌های گابا بدون اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، افزایش می‌یابد (Malekzadeh et al., 2012). این آنزیم‌ها گیاهان را از اثرات مخرب ROS محافظت نموده و از این طریق موجب مقاومت گیاه در برابر تنش می‌شوند (Shabala et al., 2000). بنابراین هر چه میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی در گیاه بیشتر باشد، مقاومت گیاه در برابر تنش بیشتر خواهد بود (Aghaleh, et al., 2011). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که در بین آنزیم‌های پاداکسایشی،



شکل ۲- نتایج مورفولوژیکی طول برگ (A)، تعداد برگ (B)، سطح برگ (C) و SLA (D)

دارد. آن‌ها این افزایش را این‌گونه توجیه کردند که گابا موجب تحریک فعالیت آنزیم فیل‌آلانین آمونیلایز (PAL) و راه‌اندازی مسیر فنیل پروپانویید می‌شود که در نتیجه آن سنتز ترکیبات فنلی افزایش و به تبع آن فعالیت پاداکسایشی نیز افزایش می‌یابد.

**فلاونوئید:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای فلاونوئید در تنش و در اثر متقابل PEG و گابا در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌داری داشت. محتوای فلاونوئید با تیمار گابا اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر PEG باعث کاهش، گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی در محتوای فلاونوئید گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (شکل ۲b) کمترین میزان فلاونوئید در تنش غلظت ۱۰٪ و بیشترین محتوای فلاونوئید گیاه در تنش صفر مشاهده شد. بیشترین محتوای فلاونوئید با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش ۱۵٪ مشاهده شد. فلاونوئیدها از متابولیت‌های ثانویه

وجود دارد (Wang and Lin, 2000). مشاهده شده است ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های نوع POD و سم‌زدایی H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> تولیدشده می‌توانند در سلول به‌عنوان پاداکسایش عمل کنند (Sakihama *et al.*, 2002). ترکیبات فنلی در شرایط طبیعی در سلول سنتز می‌گردند، اما تنش‌های محیطی یا زیستی مقدار آن‌ها را در سلول تغییر می‌دهند (Wu and Ng, 2008). افزایش در مقدار ترکیبات فنلی احتمالاً ناشی از فعالیت مسیر هگزوز مونوفسفات و مسیر استات و آزاد شدن فنل‌ها توسط آنزیم‌های هیدرولیزکننده است (Shehab *et al.*, 2010). شرایط خشکی و وجود UV از شرایط مساعد برای افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها است (Karampor *et al.*, 2015). محلول‌پاشی گابا تحت تنش کم‌آبی سبب افزایش مقدار فنل کل، فلاونوئید و همچنین فعالیت پاداکسایشی زعفران شد و با نتایج تحقیق (Soleimani Aghdam *et al.*, 2015) که اظهار داشتند کاربرد گابا سبب افزایش قابل‌توجه مقدار فنل کل و فلاونوئیدها در میوه هلو می‌شود، مطابقت

فعالیت پاداکسایشی، از بین برنده UV، دفاع گیاه در برابر بیماری‌زها، سیگنال نوری و کنترل انتقال اکسین را دارند. آنتوسیانین‌ها دارای خاصیت پاداکسایشی هستند و پاداکساینده‌های فلاونوئیدی اثر محافظتی در تنش کم‌آبی دارند (Watkinson et al., 2006; Hoekstra et al., 2001). آنتوسیانین‌ها مانند فلاونوئیدها رنگیزه محافظ بوده که گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند (Chalker-Scott, 2002). تولید آنتوسیانین در گیاهان تحت تأثیر متقابل عوامل داخلی و خارجی مانند نور، دما، کربوهیدرات، هورمون‌های گیاهی و تنش آبی است. (Kim et al., 2006).

### نتیجه‌گیری

تنش کم‌آبی سبب کاهش میزان عملکرد می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش کم‌آبی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه زعفران مزروعی مؤثر است. با توجه به این‌که گابا می‌تواند باعث افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله تنش کم‌آبی گردد، کاربرد گابا باعث افزایش صفات مورفولوژیکی، میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها، پرولین، CAT، POD، SOD، فنل کل، آنتوسیانین، فلاونوئید و کاهش MDA گردیده است. به‌طور کلی گابا بهبوددهنده گیاه زعفران در برابر تنش کم‌آبی بوده است. بنابراین در شرایط تنش کم‌آبی استفاده از این ماده به‌عنوان یک اسمولیت سازگار از طریق بهبود خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توصیه می‌شود.

مهم در گیاهان هستند و نقش مهمی در فعالیت‌های پاداکسایشی دارند. فلاونوئیدها به‌عنوان ترکیبات فعال فیزیولوژیکی، عوامل محافظت‌کننده در برابر تنش و به‌عنوان جذب‌کننده‌ها نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند (Tattini et al., 2004). فلاونوئیدها با پاکسازی ROS می‌توانند از تنش‌های پاداکسایشی جلوگیری کنند. مشاهدات ثابت می‌کند که تیمار گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) با جاسمونیک اسید افزایش قابل توجه میزان فلاونوئیدها را به‌همراه دارد (Yu et al., 2002). نقش اصلی فلاونوئیدهای برگ‌ی حفاظت از سلول‌های فتوسنتزی در برخورد با پرتوهای مخرب فرابنفش است (Liacoura et al., 2001). با توجه به مشاهدات Watkinson و همکاران (۲۰۰۶) در سیب‌زمینی و گیاه آیسون با افزایش تنش کم‌آبی، میزان تولید فلاونوئیدها افزایش می‌یابد.

**آنتوسیانین:** تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد محتوای آنتوسیانین در تنش در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار داشت. محتوای آنتوسیانین در اثر متقابل PEG و گابا و تیمار با گابا در سطح ۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که اثر PEG باعث افزایش، گابا باعث افزایش و اثر متقابل PEG و گابا اثر بهبوددهندگی در محتوای آنتوسیانین گردیده است (جدول ۴). در میانگین واریانس (شکل ۲c) کمترین میزان آنتوسیانین در تنش غلظت ۱۵٪ و بیشترین محتوای آنتوسیانین گیاه در تنش ۱۰٪ مشاهده شد. بیشترین محتوای آنتوسیانین با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش ۱۰٪ مشاهده شد. آنتوسیانین‌ها کلاس اصلی فلاونوئیدها هستند که عملکردهای مختلفی از جمله

### منابع

- اصل زعیم، ف. (۱۳۹۲) بررسی مقایسه‌ای اثر تنش خشکی بر روی جمعیت‌های مختلف زعفران مزروعی (*Crocus sativus* L.) و اثر بهبوددهندگی سالیسیلیک‌اسید بر روی آن. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- چهاربیدیل، ف.، براری، م.، شمیلی، م. و طهماسبی، ز. (۱۳۹۴) بررسی سطوح مختلف سالیسیلیک‌اسید بر بهبود رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) تحت تنش شوری. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۸: ۳۱۷-۳۰۷.

زند، ب. ع.، سروش‌زاده، ف.، قناتی، ف. و مرادی، ف. (۱۳۸۸) اثر محلول‌پاشی روی (Zn) و اکسین بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ذرت دانه‌الی. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران شماره ۱: ۳۵-۴۸.

صابر تنها، ب.، فاخری، ب.، مهدی‌نژاد، ن. و علیزاده، ز. (۱۳۹۷) اثر نانو ذرات نقره بر صفات فیزیولوژیک برخی اکوتیپ‌های زعفران خراسان جنوبی تحت تنش کم‌آبی ملایم. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۱: ۶۲۷-۶۴۳.

کمالی، م.، خرازی، م.، سلاح‌ورزی، ی. و تهرانی‌فر، ع. (۱۳۹۱) اثر سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی صفات مورفولوژیک گل تکمه‌ای (*Gomphrena globosa* L.) در شرایط تنش شوری. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۶: ۱۱۲-۱۰۴.

مرادی، م. و پوراکبر، ل. (۱۳۹۵) تأثیر تنش UV-B بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه زعفران تحت کشت هیدروپونیک. نوزدهمین کنگره ملی و هفتمین کنگره بین‌المللی زیست‌شناسی ایران، تبریز.

ملکی، م. (۱۳۸۹) بررسی فیزیولوژیکی - مولکولی اثر تنش خشکی بر زعفران مزروعی. پایان‌نامه دکتری، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

مهدویان، ک.، قربانلی، م.، منوچهری کلانتری، خ. و احمدی موسوی، ع. (۱۳۸۷) اثر سالیسیلیک اسید در تخفیف اثرات باندهای مختلف پرتو فرابنفش بر جوانه‌زنی و سایر پارامترهای رشد گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.). مجله زیست‌شناسی ایران ۲۱: ۸۲۸-۸۱۹.

- Abbaszadeh, Z. B., Sharifi-Aashoorabadi, A. and Farajolahi, M. (2007) Effects of drought stress on physiological traits of lemon balm. In: Proceeding of 2<sup>nd</sup> National Conference on Ecological Agriculture of Iran, Gorgan, Iran.
- Abeles, F. B. and Biles, C. L. (1991) Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. *Plant Physiology* 95: 269-273.
- Abraham, E., Rigo, G., Szekeley, G., Nagy, R., Koncz, C. and Szabados, L. (2003) Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis plant. *Plant Molecular Biology* 51: 363-372.
- Aebi, H. (1974) Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis* (ed. Bergmeyer, H. U.) Verlag Chemie/Academic Press Inc., Weinheim, New York.
- Aghaleh, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H. and Razavi, K. (2011) Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of salicornia (*S. persica* and *S. europaea*). *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 1261-1270.
- Agronomy Statistics. (2019) Jihad Keshavarzi Organization of the South Khorasan Province. Birjand, Iran.
- Akihiro, T., Koike, S., Tani, R., Tominaga, T., Watanabe, S., Iijima, Y., Aoki, K., Shibata, D., Ashihara, H., Matsukura, C., Akama, K., Fujimura, T. and Ezura, H. (2008) Biochemical mechanism on GABA accumulation during fruit development in tomato. *Plant Cell Physiol* 49: 1378-1389.
- Andre, C., Schafleitner, M., Legay, R. and September, S. (2009) Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry* 70: 1107-16.
- Anjum, Sh., Xie, A. X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C. and Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* 6: 2026-2032.
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Ashraf, M. and Harris, P. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 3-16.
- Avarseji, Z., Kafi, M., Sabet Teimouri, M. and Orooji, K. (2013) Investigation of salinity stress and potassium levels on morphophysiological characteristics of saffron. *Journal of Plant Nutrition* 299-310.
- Bailly, C. (2004) Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research* 14: 93-107.
- Barbosa, J. M., Singh, N. K., Cherry, J. H., Locy, R. D. (2010) Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous g-aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol Biochem* 48: 443-450.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Borsani, O., Valpuesta's, V. and Botella's, M. A. (1999) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by nacl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiology* 126: 1024-1030.
- Bouche's, N. and Fromm, H. (2004) GABA in plants: Just a metabolite? *Trends in Plant Science* 9: 110-5.
- Bradford, M. M. (1976) Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chalker-Scott, L. (2002) Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research* 37: 104-129.

- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary calorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-18.
- Cheruth, A. J. and Azooz, M. M. (2009) Exogenous calcium alters pigment composition,  $\gamma$ -glutamyl kinase and proline oxidase activities in salt-stressed *Withania somnifera*. *Plant Omics Journal* 85-90.
- Din, J., Khan, S. U., Ali, I. and Gurmani, A. R. (2011) Physiological and agronomic response of canola varieties to drought stress. *Journal of Animal and Pant Science* 21: 78-82.
- Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S. A. M. and Sharifi, M. (2009) Effect of water deficit stress and foliar application of ascorbic acid on antioxidants enzymes activity and some biochemical's changes in leaves of grain corn (*Zea mize* L.). *Iranian Journal of Biology* 22: 407-422.
- Ebrahimian, E. and Bybordi, A. (2012) Effect of salinity, salicylic acid, silicium and ascorbic acid on lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity and fatty acid content of sunflower. *African Journal of Agricultural Research* 7: 3685-3694.
- Ei-Juhany, I. and Aref, M. I. (2005) Growth and dry matter partitioning of *Lenceana leucocephala* trees as affected by water stress. *Alexandria Journal of Agricultural Research* 44: 237-259.
- Elkahoui, S., Hernandez, J. E. A., Abdelly, C., Ghrir, R. and Limam, F. (2005) Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharanthus roseus* suspension cells. *Plant Science* 168: 607-613.
- Fernandez, J. A. (2004) Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Research Developments in Plant Science* 2: 127-159.
- Gholami Touranposhti, M., Maghsoudi Moud, A. A. and Manouchehri Kalantari, Kh. (2005) Salt stress effect on the photosynthetic capacity of three Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) clones. In: Proceeding of the 4<sup>th</sup> National Biotechnology Congress. Kerman, Iran.
- Gholami Turanposhti, M., Maghsoudi moud, A. A. and Farahbakhsh, H. (2006) Effect of two levels of irrigation on water relations of three Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) clones. In: Proceeding of the 3<sup>th</sup> Conference of Irrigation Management of Water and Soil. Kerman, Iran.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Gibson, L. R. and Paulsen, G. M. (1999) "Yield components wheat grown under high temperature stress during reproductive growth". *Crop Science* 39: 1841-1846.
- Gericke William, F. (1937) "Hydroponics - crop production in liquid culture media". *Science* 177-178.
- Hanafi-Ahmed, A. H., Darwish, E., Hamoda, S. A. F. and Alobaidy, M. G. (2013) Effect of putrescine and humic acid on growth, yield and chemical composition of cotton plants grown under saline soil conditions. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science* 13: 479-497.
- Hayat, S. and Ahmad, A. (2007) Salicylic Acid: A plant hormone. Springer 97-99.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hoekstra, F. A., Golovina, E. A. and Buitink, J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 431-438.
- Hubick, K. T. and Gibson, A. (1993) Diversity in the relationship between carbon isotope discrimination and transpiration efficiency when water is limited. In: *Stable Isotopes and Plant Carbon/Water Relations*. (eds. Ehleringer, J. R., Hall, A. E. and Farquhar, G. D.) Academic Press, Inc., New York.
- Inze, D. and Montagu, M. V. (2000) *Oxidative Stress in Plants*. TJ International Ltd: Padstow, Cornwall, Great Britain .
- Kafi, M., Koocheki, A., Rashed Mohassel, M. H. and Nassiri, M. (2006a) *Saffron, Production and Processing*. Science Publishers, New Hampshire, USA.
- Kafi, M. (2006) *Saffron (Crocus sativus) Production and Processing*. Enfield, NH: Science Publishers, India.
- Kafi, M., Rashed-Mohassel, M. H., Koocheki, A. and Mollafilabi, A. (2006b) *Saffron, Production and Processing*. Iran Press, Ferdowsi University of Mashhad.
- Kalefetoglu, T. and Ekmekci, Y. (2005) The effects of drought on plants and tolerance- mechanisms. Gazi University, Institute of Science and Technology Eti Mahallesi 18: 723-740.
- Kanazawa, S., Sano, S., Koshiba, T. and Ushimaro, T. (2000) Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence: Comparison with those during dark-induced senescence. *Physiolia Plantarum* 109: 211-216.
- Karamanos, A. S. (1980) Water stress and leaf growth of field beans (*Vicia faba*) in the field: Leaf number and total area. *Annals of Botany* 42: 1393-1402.
- Karampor, M., Usefi, H. and Kohpaye, N. (2015) Investigating the relationship between climatic elements and vegetation of rangelands in Hormozgan province (a case study gymnocarpus decander). *Natural Ecosystems of Iran* 6: 41-48.

- Kathiresan, A., Miranda, J., Chinnappa, C. C. and Reid, D. M. (1998) G-aminobutyric acid promotes stem longation in *Stellaria longipes*: The role of ethylene. *Plant Growth Regulation* 26: 131-137.
- Kiani, S. P., Maury, P., Sarrafi, A. and Grieu, P. (2008) QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and waterstressed conditions. *Plant Science* 175: 565-573.
- Kim, J. S., Lee, B. H., Kim, S. H., Ok, K. H. and Cho, K. Y. (2006) Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in nonchlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. *Journal of Plant Biology* 49: 16-25.
- Kinnersley, A. M. and Lin, F. (2000) Receptor modifiers indicate that 4-aminobutyric acid (GABA) is a potential modulator of ion transport in plants. *Plant Growth Regulation* 32: 65-76.
- Kramer, P. J. (1980) Drought, stress, and the origin of adaptations. In: *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. (eds. Turner, N. C. and Kramer, P. J.) John Wiley and Sons, New York.
- Krishna, S. and Laskowski, K. (2013) Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid  $\gamma$ -aminobutyric acid on perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 138: 358-366.
- Li, Z., Yu, J., Peng, Y. and Huang, B. (2016) Metabolic pathways regulated by  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) contributing to heat tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Scientific Reports* 6: 30338.
- Li, E., Luo, X., Liao, S., Shen, W., Li, Q., Liu, F. and Zou, Y. (2018) Accumulation of  $\gamma$  aminobutyric acid during cold storage in mulberry leaves. *International Journal of Food Science and Technology* 53: 2664-2672.
- Liacoura, V., Manetas, Y. and Karabourniotis, G. (2001) Seasonal fluctuations in the concentration of UV-absorbing compounds in the leaves of some Mediterranean plants under field conditions. *Physiologia Plantarum* 111: 491-500.
- Luo, H. Y., Gao, H. B., Xia, Q. P., Gong, B. B. and Xiao-Lei, W. U. (2011) Effects of exogenous GABA on reactive oxygen species metabolism and chlorophyll fluorescence parameters in tomato under NaCl stress. *Scientia Agricultura Sinica* 34: 37-544.
- Malekzadeh, P., Khara, J. and Heidari, R. (2012) Effect of exogenous Gamma-aminobutyric acid on physiological tolerance of wheat seedlings exposed to chilling stress. *Iranian Journal of Plant Physiology* 3: 611-617.
- Maria, C., Esther, R., Gonzalez, M., Minchin, F. R., Judith, K., Arrese-Igor, W. C., Ramos, J. and Becana, M. (2002) Effects of water stress on antioxidant enzymes of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutases. *Physiologia Plantarum* 115: 531-540.
- Massacci, A., Nabiev, S. M., Pietrosanti, L., Nematov, S. K., Chernikova, T. N., Thor, K. and Leipner, J. (2008) Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry* 46: 189-195.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405-410.
- Molazem, D., Qurbanov, E. M. and Dunyamaliyev, S. A. (2010) Role of proline, Na and chlorophyll content in salt tolerance of corn (*Zea mays* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science* 9: 319-324.
- Mousavi, S. Z. and Bathaie, S. Z. (2011) Historical uses of saffron: Identifying potential new avenues for modern research. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 57-66.
- Munne-Bosch, S. and Penuelas, J. (2004) Drought induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* 166: 1105-1110.
- Murugu, F. S., Nyamugafata, P., Chiduzza, C., Clark, L. J. and Whalley, W. R. (2003) Effects of seed priming, aggregate size and matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.). *Soil Tillage Research* 74: 161-168.
- Naghizadeh, M., Gholami Shabestari, M. and Shamsaddin Saied, M. (2014) The study of some physiological responses of three Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) landraces to salinity stress. *Saffron Agronomy and Technology* 127-136.
- Oraei, M., Tabatabaei, S. J., Fallahi, S. J. and Imani, A. (2009) The effects of salinity stress and rootstock on the growth, photosynthetic rate, nutrient and sodium concentrations of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Journal of Horticultural Science* 131-140.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I. (2009) Physicochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf to drought. *Environmental and Experimental Botany* 66: 487-492.
- Pessarkli, M. (1993) *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Pirzad, A. (2007) Effects of irrigation and plant density on some physiological traits and essence of *Matricaria chamomilla* L. Ph. D. Thesis, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
- Reddy, A. R., Chaitanyaa, K. V. and Vivekanandanb, M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Renault, H., Roussel, V., El Amrani, A., Arzel, M., Renault, D., Bouchereau, A. and Deleu, C. (2010) The Arabidopsis pop2-1 mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance. *BMC Plant Biology* 10: 20.
- Rezvani, N., Sorooshzadeh, A. and Farhadi, N. (2012) Effect of nano-silver on growth of saffron in flooding stress. *World Academy of Science Engineering and Technology* 11-16.

- Rucker, K. S., Kevin, C. K., Holbrook, C. C. and Hook, J. F. (1995) Identification of peanut genotypes with improved drought avoidance traits. *Peanut Science* 22: 14-18.
- Saied, A. S. (2004) Differences in NaCl stress tolerance of Strawberry (*Fragaria × Ananasa* Duch.) Cultivars “Elsanta” and “Korona”. Cuvillier Verlag, Germany.
- Sakihama, Y., Coheno, M., Grace, S. and Yamasaki, H. (2002) Plan phenolic antioxidant and prooxidant activities phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Journal Plant Toxicology* 177: 67-80.
- Scandalios, J. G. (1994) Regulation and properties of plant catalases. CRC, Press, Boca, Raton, Florida.
- Semsar Yazdi, A. A. and Labbaf Khaneiki, M. (2007) The drought of 2001 and the measures taken by Yazd regional water authority. In: *Groundwater for Emergency Situations* (eds. Vrba, J. and Salamat, A. R.) Unesco, Paris.
- Shabala, A. J. and Al-Azawi, S. K. (2000) Occurrence of phosphate -solubilizing bacteria in some Iraqi soils. *Plant and Soil* 117: 135-141.
- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. and Zheng, Y. (2011) Effect of exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 1264-1268.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A. and Zhao, C. X. (2008) Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies* 331: 215-225.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. and Pessaralki, M. (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 2012: 1-26.
- Shehab, G. G., Ahmad, O. K. and EL-Beltagi, H. S. (2010) Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants. *Notulea Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 38: 130-148.
- Shelp, B. J., Bozzo, G. G., Trobacher, C. P., Chiu, G. and Bajwa, V. S. (2012) Strategies and tools for studying the metabolism and function of  $\gamma$ -aminobutyrate in plants. I. Pathway structure. *Botany* 90: 651-668.
- Siddique, M. R. B., Hamid, A. and Islam, M. S. (1999) Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat. *Botanical Academy of Singapore* 40: 141-145.
- Simoni, Robert D., Hill, Robert L., Vaughan, M. and Tabor, H. (2003) "A classic instrument: The beckman DU spectrophotometer and its inventor, Arnold O. Beckman". *The Journal of Biological Chemistry* 278.
- Singh, B. and Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation* 137-141.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H. O., Celik, H. and Katkat, A.V. (2010) Salinity responses of grafted grapevines: Effects of scion and rootstock genotypes. *Notulae Botanicae Horticulture Agrobotanici Cluj-Napoca* 38: 193-201.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977) Total phenol Analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
- Solar, A., Colaric, M., Usenik, V. and Stampar, F. (2006) Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinines in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science* 170: 453-461.
- Soleimani Aghdam, M., Sevillano, L., Flores, F. and Bodbodak, S. (2015) The contribution of biotechnology to improving post-harvest chilling tolerance in fruits and vegetables using heat-shock proteins. *The Journal of Agricultural Science* 153: 7-24.
- Song, H., Xu, X., Wang, H., Wang, H. and Tao, Y. (2010) Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid alleviates oxidative damage caused by aluminium and proton stresses on barley seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 1410-1416.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. (2004) Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist* 163: 547-561.
- Tester, M. and Davenport, R. (2003)  $\text{Na}^+$  tolerance and  $\text{Na}^+$  transport in higher plants. *Annals of Botany* 91: 503-527.
- Thomas Fernandez, R., Perry, R. L. and Flore, J. A. (1997) “Drought response of young apple trees on three rootstocks: Growth and development,” *Journal of the American Society for Horticultural Science* 14-19.
- Valliyodan, B. and Nguyen, H. T. (2006) Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 9: 1-7.
- Vijayakumari, K. and Puthur, J. T. (2015)  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. Plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Science* 78: 57-67.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Wang, S. Y. and Lin, H. S. (2000) Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 140-146.
- Wang, X. D., Xie, B. T., Tan, W. M., Li, J. M., Zhai, Z. X., Duan, L. S. (2009) Effects of exogenous GABA on yield, quality, and high temperature tolerance during anthesis stage of winter wheat. *Journal of Triticeae Crops* 4: 623-626.

- Watkinson, J. I., Hendricks, L., Sioson, A. A., Vasquez-Robinet, C., Verlyn, S., Heath, L. S., Schuler, M., Bohnert, H. J., Bonierbale, M. and Grene, R. (2006) Accessions of *Solanum toberosum* spp. andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *Plant Science* 171: 745-758.
- Wu, S. J. and Ng, L. T. (2008) Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.). in Taiwan. *Journal of Food Science and Technology* 41: 323-330.
- Yasar, F., Ellialtıoglu, S. and Yildiz, K. (2008a) Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. *Russian Journal of Plant Physiology* 55: 782-786.
- Yin, Y., Yang, R. and Gu's, Z. (2014) Calcium regulating growth and GABA metabolism pathways in germinating soybean (*Glycine max* L.) under NaCl stress. *European Food Research and Technology* 239: 149-156.
- Yu, K., Gao, W., Hahn, W., E. J. and Paek, K. Y. (2002) Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biochemical Engineering Journal* 11: 211-215.
- Zhang, J., Zhang, Y., Du, Y., Chen, S. and Tang, H. (2011) Dynamic metabonomic responses of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. *Journal of Proteome Research* 10: 1904-1914.
- Zushi, K. and Matsuzoe, N. (2007) Salt stress-enhanced  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in tomato fruit. *International Society for Horticultural Science* 761: 431-435.

## An investigation of GABA effect on drought stress tolerance improvement in cultivated saffron (*Crocus sativus* L.)

Farahnaz Sedighi Moshkenani<sup>1</sup>, Vahid Niknam<sup>1</sup>, Golandam Sharifi<sup>2\*</sup>, Maryam seifi Kalhor<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology (current School of Biology), University College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Basic Sciences, Institute for Humanities and Cultural Studies, Tehran, Iran  
(Received: 07/01/2020, Accepted: 23/06/2020)

### Abstract

Environmental stress triggers a wide range of reactions in plants, ranging from changes in gene expression and cell metabolism to alterations in growth rate and plant function. Drought, as a major environmental stress, is associated with various defects in plant growth and development. It has been suggested that the implementation of certain chemicals, such as gamma amino butyric acid (GABA), can minimize the detrimental effects of drought stress. Using a factorial pattern based on the completely randomized block design, the current study sought to investigate the effect of GABA on the vegetative characteristics and resistance indices of saffron (*Crocus sativus* L.) plants under water deficit conditions. GABA treatments (with the two concentrations of 25 and 50  $\mu\text{M}$ ) were applied to the plants through irrigation and under three levels (0%, 10% and 15%) of polyethylene glycol (PEG 6000) as drought stress inducers. Results indicated that GABA treatment could compensate for saffron shoot and root weight loss due to water deficit conditions. Results also showed that proline, malondialdehyde, and protein contents decreased under drought stress conditions, but GABA treatment 25  $\mu\text{M}$  (PEG 15%) increased proline and malondialdehyde contents significantly. GABA treatment at both 25 and 50  $\mu\text{M}$ s increased plant protein content under drought stress conditions. Antioxidant enzyme activity (e.g., catalase and superoxide dismutase) decreased significantly under drought stress conditions, whereas peroxidase activity decreased at 10% PEG and increased at 15% PEG. GABA treatment at 50  $\mu\text{M}$  (10% and 15% PEG) increased antioxidant enzymes including catalase and superoxide dismutase. GABA treatment at both 25 and 50  $\mu\text{M}$ s in 15% PEG stress condition increased superoxide dismutase, but the observed difference was not significant. GABA treatment at 50  $\mu\text{M}$  (10% PEG) significantly increased phenol content, GABA treatment at 25  $\mu\text{M}$  (15% PEG) increased flavonoid content to considerable extent, and GABA treatment 25  $\mu\text{M}$  (10% PEG) significantly increased anthocyanin content, respectively. Based on these findings and due to the positive effects of GABA treatment on the induction of drought resistance in saffron, it is recommended that GABA be used as an effective substance to fight the detrimental effects of drought stress on saffron plants.

**Key Words:** Dehydration, Saffron, GABA, Tolerance to dehydration, PEG

Corresponding author, Email: g.sharifi@ihcs.ac.ir