اثر پاکلوبوترازول بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاهچه‌های کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط تنش شوری

رویا رضوی‌زاده*[۱]، مریم کاظم‌زاده[۲] و شکوفه انتشاری[۳]

۱ و ۳) استادیاران دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی، تهران، ایران.
۲) دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی، تهران، ایران.

* **نویسنده مسئول:** Razavi.roya@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۷/۰۸ **تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۸**

چکیده

تنش شوری به‌عنوان یک عامل محدودکننده تولیدات گیاهی است. در این پژوهش اثر پاکلوبوترازول به‌عنوان یک تنظیم‌کننده تریازولی بر روی شاخص‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های کلزای تحت تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه بررسی شده است. پس از شستشو و ضدعفونی بذرهای گیاه کلزا تعداد ۱۰ بذر در محیط کشت‌های پایه موراشیگ و اسکوگ حاوی غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم (سطوح مختلف شوری) و غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول کشت داده شد. نتایج به دست آمده پس از ۴ هفته نشان داد که طول ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل کل وکاروتنوئیدهای گیاهچه در تنش شوری کاهش معنی‌داری داشت. درحالی‌که مقدار پراکسیداسیون‌لیپید و قندهای احیاکننده و پرولین در تنش شوری افزایش یافت. پاکلوبوترازول در تمام سطوح میزان پارامترهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌ها را هم در وضعیت تنش و هم در حالت عادی به مقدار زیادی افزایش داد. بنابراین تیمار پاکلوبوترازول در گیاهچه‌های کلزای تحت تنش شوری باعث بهبود علایم تنش و آسیب‌های ناشی از شوری در این گیاهچه‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: پاکلوبوترازول، تنش شوری، کشت درون‌شیشه‌ای، کلزا.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

جنس *Brassica* L. متعلق به تیره Brassicaceae و دارای ۵ گونه در ایران است. *Brassica napus* L. یکی از گونه‌های زراعی و کاشته شده این جنس است (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۸). در بین دانه‌های روغنی، کلزا به‌دلایل متعددی از اولویت خاصی برخوردار بوده و با توجه به نیاز مبرم کشور به تولید دانه‌های روغنی و روغن‌های گیاهی، سطح زیرکشت آن در حال افزایش می‌باشد. دانه کلزا حاوی ۴۵-۳۵ درصد روغن است. مصرف خوراکی آن بیش‌تر از سایر موارد مصرف می‌باشد. البته مصارف صنعتی روغن کلزا زیاد است و احتمالاً اهمیت بیش‌تری نیز پیدا خواهد کرد. بلغور کلزا که در طول استخراج روغن از بذر تهیه می‌شود به‌طور وسیعی به‌عنوان یک منبع غذایی با پروتئین بالا برای غذای دام استفاده می‌شود (سعیدی و صدقی، ۱۳۸۷).

تنش شوری یکی از تنش‌های اصلی و شایع در جهان کنونی است که باعث کاهش تولیدات کشاورزی و عامل محدودکننده رشد گیاهان در نواحی وسیعی از سطح زمین می‌شود. اثر زیان‌آور تنش شوری در تمام مراحل زندگی گیاه مشاهده می‌شود. شوری دامنه وسیعی از اختلالات را در همه سلول‌های گیاه ایجاد می‌کند که به ویژگی‌های فیزیولوژیکی درون سلولی گیاه بستگی دارد (ثابت‌تیموری و همکاران، ۱۳۸۶).

کشور ما از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قرار دارد (ثابت‌تیموری و همکاران، ۱۳۸۶). خاک‌های شور ایران حدود ۱۵ درصد از کل اراضی کشاورزی را تشکیل می‌دهند (فلاحی و همکاران، ۱۳۸۷). شوری سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود. ضمن این که تحمل به شوری در گیاهان ویژگی پایداری نبوده و ممکن است در مراحل مختلف رشد هر گونه متفاوت باشد (ثابت‌تیموری و همکاران، ۱۳۸۶). گیاهان مقاوم به شوری این قابلیت را دارند که اثر ناشی از شوری را به حداقل برسانند (Ramezani *et al*., 2011).

پاکلوبوترازول یک کاهش‌دهنده رشد گیاهی است که به گروه تریازول‌ها تعلق دارد. مولکول پاکلوبوترازول یک ساختار حلقوی محتوی سه نیتروژن است که شامل دو آنانتومر بوده و دارای فعالیت تنظیم‌کنندگی و قارچ‌کشی می‌باشد (Boldt, 2008). اثر فیزیولوژیکی پاکلوبوترازول شامل تغییرات در رشد، مورفولوژی گیاه، افزایش سرعت فتوسنتز، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و تغییرات مقدار و نسبت تنظیم‌کننده‌های آندوژنی است (Steffens and Wang, 1986). پاکلوبوترازول رشد شاخه‌ها را کاهش و رشد ریشه‌ها را افزایش می‌دهد. از این رو موجب افزایش نسبت ریشه به ساقه شده و هم‌چنین باعث تولید برگ‌های سبز تیره‌تر و توسعه سیستم ریش‌های می‌شود (Manivanna *et al.*, 2008). پاکلوبوترازول موجب کاهش تعرق، ارتفاع گیاه، بیوماس و سطح برگ و افزایش مقاومت روزن‌های می‌شود. پاکلوبوترازول باعث کاهش آسیب‌های غشایی، افزایش محتوی نسبی آب، سرعت فتوسنتز، افزایش محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل،کاروتنوئید) تحت شرایط تنش می‌شود. شوری محتوی نسبی آب و پتانسیل آبی را کاهش می‌دهد، اما در گیاهان تیمار شده با پاکلوبوترازول

Archive of SID

www.SID.ir

حفظ تورگر از طریق تعادل اسمزی رخ می‌دهد (Ozmen *et al*., 2003). پاکلوبوترازول از طریق افزایش سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی شامل کارتنوئید، آسکوربات و آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز، کاتالاز و گلوتاتیون موجب افزایش پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان تحت تنش می‌شود (Jaleel *et al*., 2003).

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر کاربرد برون‌زای تنظیم‌کننده پاکلوبوترازول در بهبود فاکتورهای رشد و نموی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهچه کلزا تحت تنش شوری و افزایش تحمل در مقابله با شرایط تنش در شرایط کشت درون شیشه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از گیاهچه کلزا (*B. napus* L.) رقم اکاپی استفاده گردید. ابتدا بذرهای کلزا با آب مقطر شستشو و سپس با اتانل ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه و محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند. تعداد ۱۰ بذر کلزا در هر شیشه حاوی غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم (سطوح مختلف شوری) و غلظت‌های صفر، ۱۰،۵ و ۲۰ پی پی ام پاکلوبوترازول قرار داده شد. به این منظور ابتدا محلول پایه ۱۰۰ پی پی ام پاکلوبوترازول در آب مقطر تهیه شد و با توجه به غلظت تیمار، حجم مناسبی از آن به محیط کشت اضافه گردید. پس از بستن درب محیط‌های کشت به اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵±۲°C و رطوبت ۹۸-۹۵ درصد منتقل شدند. ۴ هفته بعد از رشد، گیاهچه‌های حاصل برای اندازه‌گیری پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده گردیدند. اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه در گیاهچه کلزا با استفاده از خط‌کش میلی‌متری انجام شد و بر اساس واحد سانتی‌متر گزارش شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. وزن خشک نمونه‌ها با ترازوی دیجیتالی مدل *KERN pls* با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید، برگ‌ها در استن ۸۰ درصد ساییده شدند. پس از صاف کردن، جذب آن‌ها در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید (Lichtenthaler, 1987).

برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید[1] بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. به ۱میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴/۵ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل

[1] MDA

www.SID.ir

به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید (Heat and Packer, 1968).

برای سنجش مقدار قندهای احیاکننده، ۰/۰۲ گرم از بافت تازه برگ توزین گردید و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی ساییده شد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید. سپس با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاکننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد (Somogyi-Nelson, 1952).

برای سنجش میزان پرولین ۰/۰۲ گرم از بافت تازه برگ و ریشه توزین گردید و هر نمونه جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد در هاون چینی ساییده شد. پس از سانتریفیوژ و افزودن معرف نین‌هیدرین و اسیداستیک خالص به محلول رویی، نمونه‌ها در بن‌ماری به مدت یک ساعت قرار داده شدند. با افزودن تولوئن به نمونه‌ها و جداسازی محلول رویی، شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش گردید (Bate *et al*., 1973).

تمام آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

طول اندام هوایی و ریشه

غلظت‌های مختلف کلریدسدیم (۵۰ و۱۰۰ میلی‌مولار) باعث کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی نسبت به گروه شاهد بدون شوری شد. غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ پی پی ام پاکلوبوترازول باعث کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی نسبت به گروه شاهد بدون شوری شد. در تیمار توأم شوری و پاکلوبوترازول، پاکلوبوترازول در طول اندام هوایی گیاهچه‌های تحت تنش شوری اثر معنی‌داری نداشت (شکل 1a). غلظت‌های مختلف کلریدسدیم (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه نسبت به گروه شاهد بدون شوری شد. در محیط بدون شوری طول ریشه در گیاهچه‌هایی که با غلظت ۲۰ پی پی ام پاکلوبوترازول تیمار شده بودند، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه گیاهچه‌های تحت تنش شوری در غلظت۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم گردید. تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۱۰ پی پی ام افزایش معنی‌داری در طول ریشه گیاهچه‌های تحت تنش شوری۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم ایجاد کرد (شکل 1b).

Archive of SID

www.SID.ir

در این پژوهش کاهش طول ریشه و ساقه تحت تنش شوری مشاهده گردید. مشخص گردیده است که گونه‌های متحمل به تنش، با تغییر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آناتومی قادر به ایجاد ساختارهای تحمل به تنش می‌باشند. از جمله اینکه ژنوتیپ‌های برتر کلزا سیستم ریشه‌ای خود را به نحو مؤثر گسترش داده و قادر به استفاده حداکثر از رطوبت موجود در خاک می‌باشند (تورچی و همکاران، ۱۳۸۴). در تیمار توام پاکلوبوترازول و شوری، پاکلوبوترازول اثرات سوء ناشی از تنش شوری بر رشد گیاه را تخفیف داد. در مورد نقش پاکلوبوترازول بر پارامترهای رشد گزارش‌های متعددی وجود دارد. از جمله گزارش شده است که پاکلوبوترازول کاهش رشد ناشی از تنش سرمایی و تنش شوری را بهبود می‌بخشد (Hajihashemi *et al*., 2006; Berova *et al*., 2002). با توجه به اینکه رشد و تقسیم سلولی نیازمند حفظ فشار تورژسانس می‌باشد و سلول‌ها باید حجم مناسبی برای تقسیم داشته باشند؛ بنابراین در شرایط تنش اسموتیک، از دست رفتن آب سلول، کاهش فشار تورژسانس و حجم سلول، موجب کاهش رشد و تقسیم سلولی می‌گردد. با افزایش شوری نسبت اندام هوایی به ریشه گیاهان افزایش و حجم ریشه کاهش می‌یابد. کاهش طول ساقه گیاهان در اثر شوری به دلیل کاهش فتوسنتز می‌باشد (Xing and Zhu, 2002). پاکلوبوترازول در شرایط شوری دهیدراتاسیون ناشی از تنش را از طریق تعادل اسمزی بهبود می‌بخشد (Hajihashemi *et al*., 2006). به‌هرحال چنین برداشت می‌شود که پاکلوبوترازول با افزایش رشد ریشه در شرایط تنش شوری، سعی در افزایش سطح تماس و دسترسی بیش‌تر به منابع آب موجود در محیط و افزایش تحمل گیاه به تنش شوری دارد. گزارش مشابهی از افزایش طول ریشه با به کاربردن پاکلوبوترازول تحت تنش گزارش شده است (Shahrokhi *et al*., 2011).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

تنش شوری باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها نسبت به گروه شاهد شد. این کاهش در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم معنی‌دار شد. در محیط بدون شوری دو غلظت ۱۰ و۲۰ پی پی ام پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا نسبت به گروه شاهد گردید. در تیمار توأم شوری و پاکلوبوترازول، غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها در تیمار شوری ۵۰ میلی‌مولار شد و دو غلظت۱۰ و۲۰ پی پی ام پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌هایی که با شوری ۱۰۰ میلی‌مولار تیمار شده بودند، گردید (شکل ۲a). تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه گیاهچه‌ها نسبت به گروه شاهد شد. در محیط بدون شوری پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه گیاهچه‌های کلزا نسبت به گروه شاهد گردید. در تیمار توأم شوری و پاکلوبوترازول، غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول (۵، ۱۰ و ۲۰ پی پی ام) باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه گیاهچه‌های تحت تنش شوری شد (شکل ۲b).

Archive of SID

www.SID.ir

یکی از ویژگی‌های مطلوب جهت ارزیابی تأثیر تنش شوری بر گیاهان، تعیین وزن خشک گیاه می‌باشد. کاهش وزن خشک ریشه و ساقه با افزایش تنش شوری گزارش شده است، که مطابق با نتایج این پژوهش است (Jamil *et al.*, 2005). شوری موجب تغییرات ساختمانی در ساقه، ریشه و برگ گیاهان می‌شود. کاهش وزن گیاه در شرایط تنش شوری ممکن است به دلیل کاهش فتوسنتز باشد چرا که شوری از طریق تأثیر بر فتوسنتز و فرآیندهای جانبی آن موجب کاهش میزان رشد در گیاه می‌گردد (Xing and Zhu, 2002). به کارگیری پاکلوبوترازول در این پژوهش بهبود بخشی وزن خشک اندام هوایی و ریشه را در گیاهچه‌های کلزا تحت تنش شوری به دنبال داشت. در گزارش مشابهی Percival و Noviss (۲۰۰۸) نشان دادند که تیمار برگی گیاهان تحت تنش با پاکلوبوترازول موجب افزایش وزن خشک ریشه و شاخه می‌گردد. در واقع می‌توان اینگونه توجیه کرد که افزایش رشد ریشه و گسترش سیستم ریشه‌ای در گیاهچه‌های تحت تیمار پاکلوبوترازول موجب افزایش توده ریشه و افزایش وزن خشک گردیده است (Percival and Noviss, 2008).

کلروفیلa، b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها

تنش شوری باعث کاهش معنی‌داری میزان کلروفیل *a*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها درگیاهچه‌های کلزا نسبت به گروه شاهد شد (شکل ۳). سه غلظت پاکلوبوترازول در گیاهان بدون تیمار شوری باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل گردید. در محیط بدون شوری میزان کارتنوئیدها درگیاهچه‌های مورد مطالعه با دو غلظت ۵ و۱۰ پی پی ام پاکلوبوترازول افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد یافت. هر سه غلظت پاکلوبوترازول میزان کلروفیل *a* را در گیاهچه‌های تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و میزان کلروفیل b را درگیاهچه‌های تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و میزان کلروفیل کل را درگیاهچه‌های تحت تنش هر دو غلظت شوری به صورت معنی‌داری افزایش داد. درحالی‌که دو غلظت ۱۰ و۲۰ پی پی ام پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل *a* درگیاهچه‌های تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و میزان کلروفیل b درگیاهچه‌های تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و میزان کارتنوئیدها برای هر دو غلظت شوری گردید (شکل ۳).

در این پژوهش تنش شوری موجب کاهش مقدار کلروفیل *a* و کلروفیل کل گردید. در شرایط تنش، اختلال در سیستم‌های آنزیمی جاروب‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال موجب افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها، خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگیزه‌ها می‌گردد. هم‌چنین کاهش کلروفیل به‌وسیله شوری ممکن است نتیجه توقف مسیر بیوسنتز، تحریک مکانیسم‌های تخریبی آن و یا هر دو حالت باشد (Lobon *et al.*, 2002). گزارش مشابهی مبنی بر کاهش کلروفیل کل و کلروفیل *a* در گوجه فرنگی تحت تنش شوری وجود دارد (Parida and Das, 2005). بنابراین در این تحقیق کاهش مقدار کلروفیل احتمالاً می‌تواند به دلیل کاهش سنتز کلروفیل و یا افزایش تجزیه آن باشد. در این پژوهش در تیمار توام پاکلوبوترازول و کلریدسدیم، کاهش میزان کلروفیل در گیاهان تحت تیمار پاکلوبوترازول و تنش شوری به میزان کم‌تری

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده گردید. افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های گیاهان تیمار شده با پاکلوبوترازول ممکن است به افزایش غلظت کلروفیل در هر کلروپلاست، افزایش تعداد کلروپلاست در هر سلول برگ و افزایش تعداد سلول‌ها در واحد سطح برگ مربوط باشد (Kishorekumar *et al*., 2006). نتایج مشابهی از افزایش میزان کلروفیل با به کار بردن پاکلوبوترازول در شرایط تنش گزارش شده است (Sharma *et al*., 2011). هم‌چنین به کار بردن پاکلوبوترازول در گیاه گندم تحت تنش شوری موجب افزایش کلروفیل و کارتنوئید گردید (Hajihashemi *et al*., 2006). کاروتنوئیدها گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرنوئیدی هستند که توسط تمامی اندام‌های فتوسنتزی و بسیاری از اندام‌های غیرفتوسنتزی ساخته می‌شوند (Andrew *et al*., 2008). کاروتنوئیدها به‌عنوان حامی رنگیزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند انرژی اضافی طول موج‌های کوتاه را بگیرند و اکسیژن یکتایی را به اکسیژن سه تایی تبدیل کرده و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی از خود بروز دهند (Inze and Montagu, 2000). کاهش مقدار کارتنوئیدها در گوجه فرنگی و هویج نیز تحت تنش شوری گزارش شده است (Eraslan *et al*., 2008; Parida and Das, 2005). نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نیز نشان داد، که کاهش چشم‌گیری در مقدار کارتنوئیدها در طی تنش شوری وجود دارد. درگزارشی از Hajihashem و همکاران (۲۰۰۶)، در گیاهان تیمار شده با پاکلوبوترازول، افزایش کارتنوئیدها در گیاهان تحت تنش شوری مشاهده شد که این افزایش، کاهش خسارات ناشی از گونه‌های فعال را به همراه داشت. افزایش غلظت کاروتن و گزانتوفیل در گیاهان تیمار شده با ترکیبات تریازولی نقش مهمی را در کاهش خسارت مهار نوری و زدودن رادیکال‌های اکسیژن فعال در شرایط تنش ایفا می‌کند (Jaleel *et al*., 2006). بنابراین بهبود مقاومت به شوری با استفاده از تریازول‌ها از طریق تغییر مقدار رنگیزه‌های آنتی‌اکسیدانی برگ فراهم می‌شود که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابق است.

قندهای احیاکننده

تیمار شوری باعث افزایش قندهای احیاکننده اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا شد. تیمار با پاکلوبوترازول نیز باعث افزایش معنی‌دار میزان قندهای احیاکننده نسبت به گروه شاهد گردید. در تیمار توأم شوری و پاکلوبوترازول سه غلظت پاکلوبوترازول، افزایش معنی‌دار قندها را برای گیاهچه‌هایی که با دو غلظت شوری (۵۰ و۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) تیمار شده بودند، ایجاد کرد (شکل ۴). تحت تنش شوری میزان قندهای احیاکننده افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده به کارافتادن سیستم مقاومتی گیاه و تولید اسمولیت در برابر آسیب‌های ناشی از تنش شوری در گیاه است. علاوه بر نقش قندها در تعدیل اسموتیکی، قندها در حفظ پروتئین‌ها، حفظ سیالیت غشا و زدودن رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش دارند. گزارش شده است که وجود کلریدسدیم باعث افزایش قندهای محلول در جو و گوجه فرنگی می‌شود (Gao *et al*., 2004). در مطالعه حاضر نیز میزان قندها در گیاهچه‌های تحت شوری افزایش یافت. Moradshahi و همکاران (۲۰۰۴)

Archive of SID

www.SID.ir

علت افزایش قندها در شرایط تنش در گیاه *Brassica napus*، تحرک بیش‌تر ذخایر پلی‌ساکاریدی می‌باشد و پاکلوبوترازول میزان قندهای احیاکننده که در کاهش پتانسیل آبی نقش دارد را افزایش می‌دهد و به این طریق سبب افزایش سازگاری گیاه در شرایط تنش می‌شود (Hajihashemi *et al*., 2006). از آنجایی که پاکلوبوترازول باعث تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری می‌شود؛ بنابراین افزایش مقدار قندها در تیمار توأم شوری و پاکلوبوترازول را می‌توان به نقش پاکلوبوترازول در تعدیل کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت داد.

تجمع مالون‌دی‌آلدهید

تیمار شوری باعث افزایش معنی‌دار در میزان MDA گردید. در گیاهچه‌های بدون تیمار شوری تنها غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر پاکلوبوترازول باعث کاهش معنی‌دار میزان MDA نسبت به گروه شاهد شد. درحالی‌که سه غلظت پاکلوبوترازول، کاهش معنی‌داری در میزان MDA درگیاهچه‌هایی که تحت تنش۵۰ و۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم تیمار شده بودند، ایجاد کرد (شکل ۵). رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده در تنش خشکی و شوری باعث پراکسیداسیون‌لیپیدها می‌شوند (Eraslan *et al*., 2008). نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها، ترکیباتی نظیر مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد. در مطالعه حاضر مقدار مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش شوری افزایش یافت. در پژوهش مشابهی افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدهید تحت شرایط تنش شوری در گیاه جو گزارش داده شده است (El- Tayeb, 2005). بر اساس نظر Fletcher و همکاران (۲۰۰۰) یکی از سازوکارهای تریازول‌ها برای افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش‌زا کاهش پراکسیداسیون‌لیپیدها می‌باشد. در این پژوهش استفاده از پاکلوبوترازول در گیاهانی تحت تنش مقدار مالون‌دی‌آلدهید را در مقایسه با حالت قبل به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد که نشان می‌دهد پاکلوبوترازول به‌عنوان عامل افزایش تحمل گیاه در این پژوهش عمل کرده و باعث فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه گردیده است. به‌طور مشابهی پاکلوبوترازول از طریق افزایش سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی موجب افزایش پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان تحت تنش شوری گردیده است (Sharma *et al*., 2011).

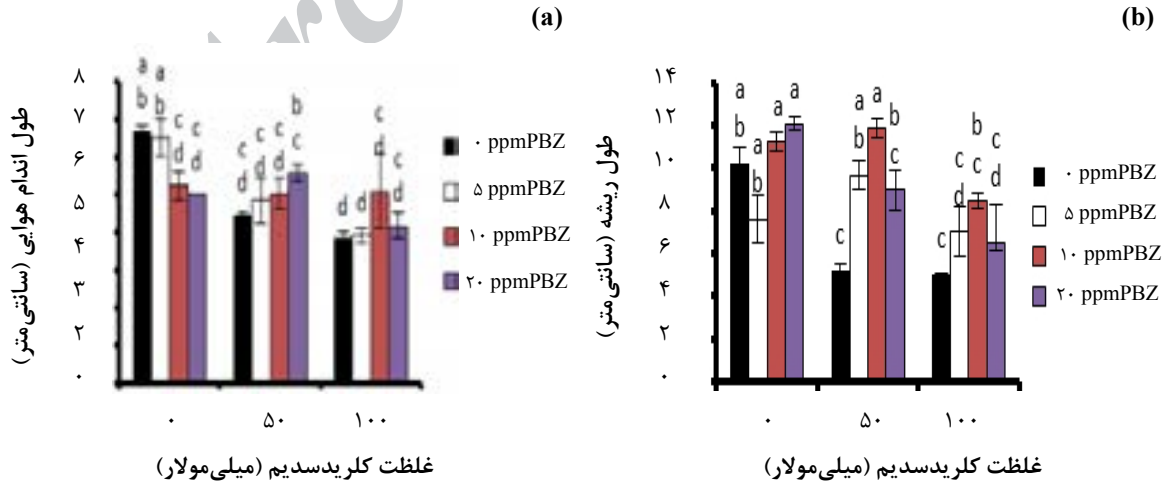
پرولین ریشه و اندام هوایی

مقدار پرولین اندام هوایی در گیاهچه‌های تحت تنش با هر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت. هم‌چنین مقدار پرولین ریشه در گیاهچه‌هایی که با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم تیمارشده بود، در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. تیمار پاکلوبوترازول در محیط بدون تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار میزان پرولین اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌ها نسبت به گیاهان گروه شاهد شد. به کار بردن هرسه غلظت پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین اندام هوایی و ریشه در هر دو سطح شوری گردید

Archive of SID

www.SID.ir

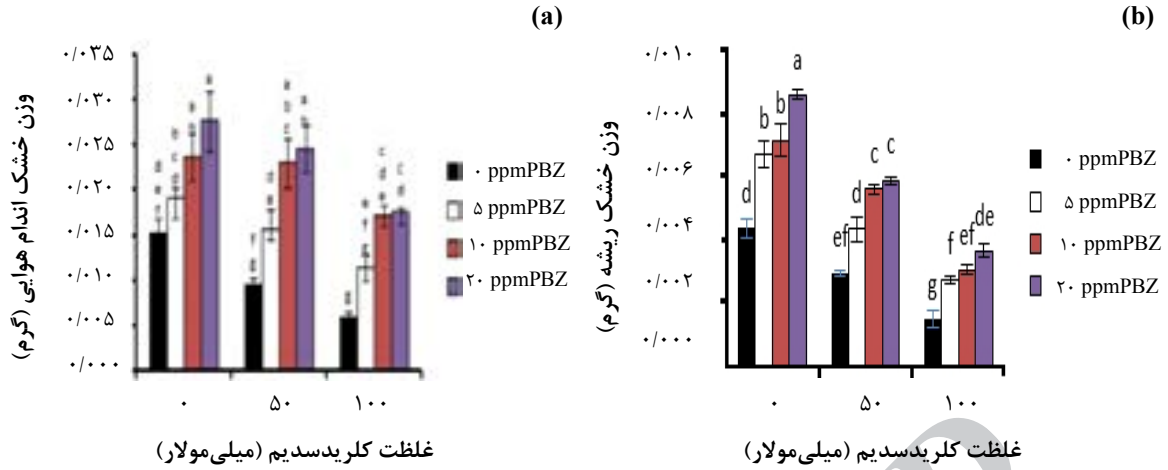
(شکل‌های 6b و a 6). میزان پرولین اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های کلزا تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم افزایش یافت. گزارش‌های متعددی مبنی بر تجمع پرولین در گیاهان در مقاومت به تنش شوری وجود دارد افزایش اسیدآمینه پرولین در تنش شوری اثبات می‌کند که پرولین نقش مهمی در تنظیم اسمزی و ایجاد مقاومت به تنش شوری دارد. پرولین منجر به حفظ هیدراسیون پروتئین‌ها در بافت‌های دهیدراته گردیده و باعث بقاء فعالیت‌های سلولی می‌شود (Lin and Kao 1996). گزارش‌های متعددی حاکی از این است که پاکلوبوترازول بر میزان پرولین اثر می‌گذارد. افزایش مقدار پرولین در *Echinochloa frumentacea* با به کار بردن پاکلوبوترازول گزارش شده است (Sankhla *et al*., 1992). که مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش است. افزایش محتوی آبسیسیک‌اسید می‌تواند دلیلی بر افزایش پرولین و سایر اسیدآمینه‌ها در گیاهان تحت تیمار تریازول‌ها باشد (Gopi *et al*., 2007). در پژوهش حاضر پاکلوبوترازول مقدار پرولین را به‌طور قابل توجهی در اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های کلزای تحت تنش شوری افزایش داده است. افزایش میزان پرولین با به کار بردن پاکلوبوترازول در شرایط تنش شوری در گندم نیز گزارش شده است (Hajihashemi *et al*., 2006). افزایش میزان پرولین از افزایش فعالیت آنزیم دلتا-۱ پرولین۵- کربوکسیلات‌ردوکتاز در مسیر بیوسنتز پرولین و کاهش فعالیت پرولین‌دهیدروژناز و پرولین‌اکسیداز در مسیر کاتابولیسم پرولین ناشی می‌شود (Parida and Das, 2005). بنابراین دلیل تجمع پرولین در گیاهچه‌های کلزای تحت تیمار پاکلوبوترازول ممکن است افزایش بیوسنتز پرولین و یا کاهش تجزیه آن باشد.



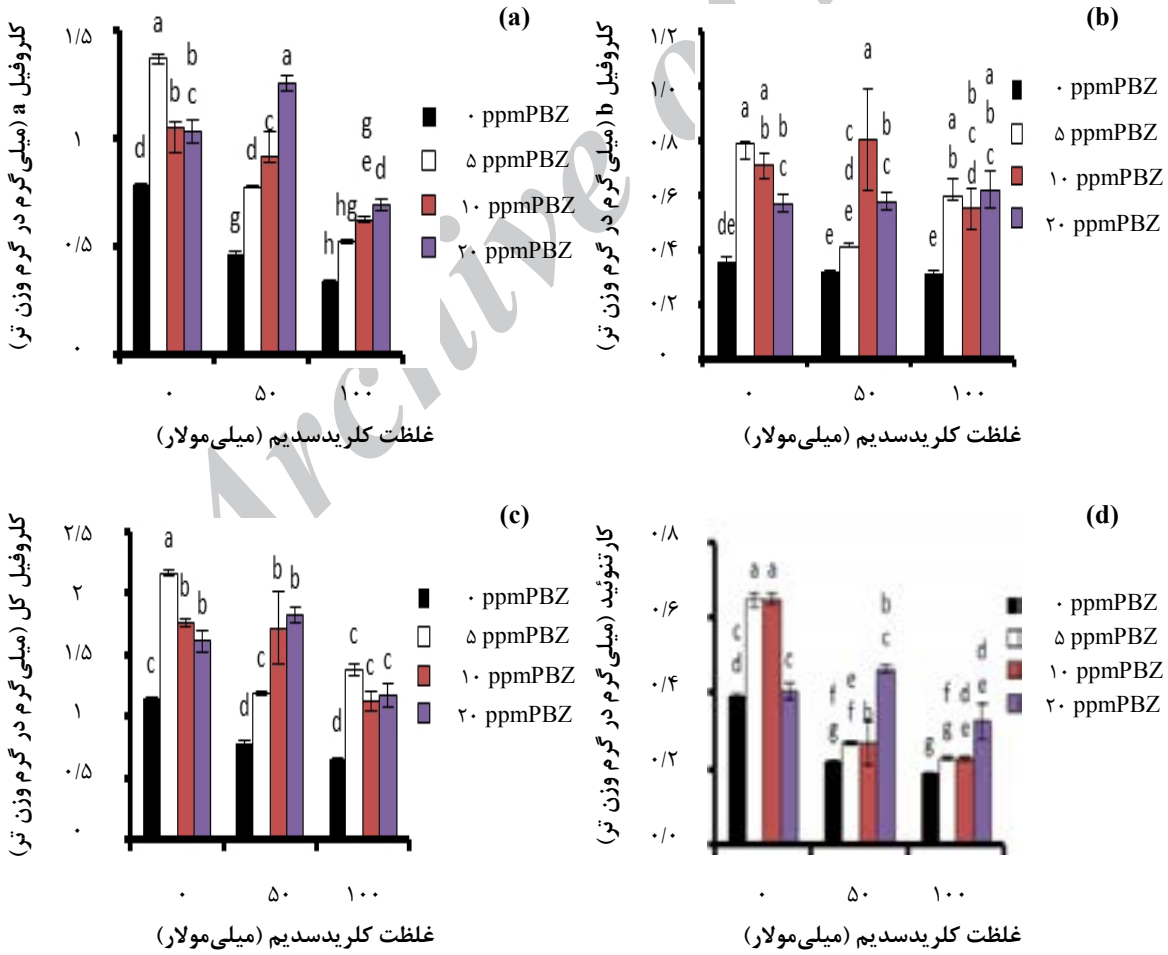
شکل ۱: بررسی بر همکنش شوری (کلریدسدیم) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر طول اندام هوایی (a) و طول ریشه (b) گیاهچه‌های کلزا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد

Archive of SID

www.SID.ir

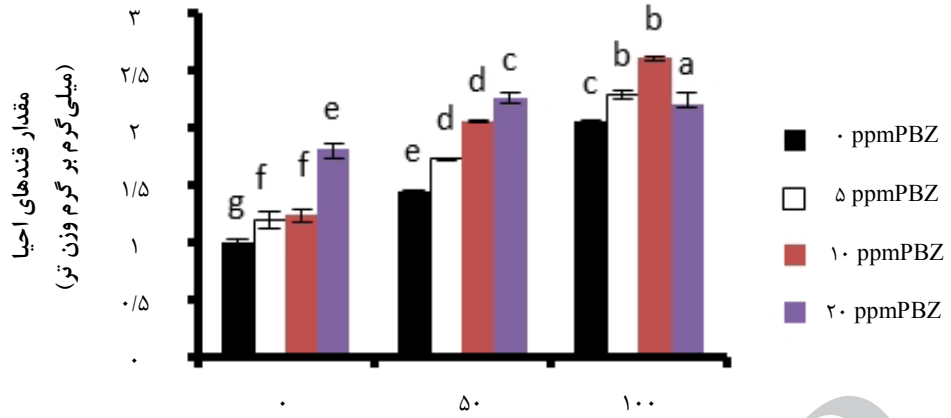


شکل ۲: بررسی برهمکنش شوری (کلریدسدیم) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر وزن خشک اندام هوایی (a) و وزن خشک ریشه b) گیاهچه‌های کلزا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد

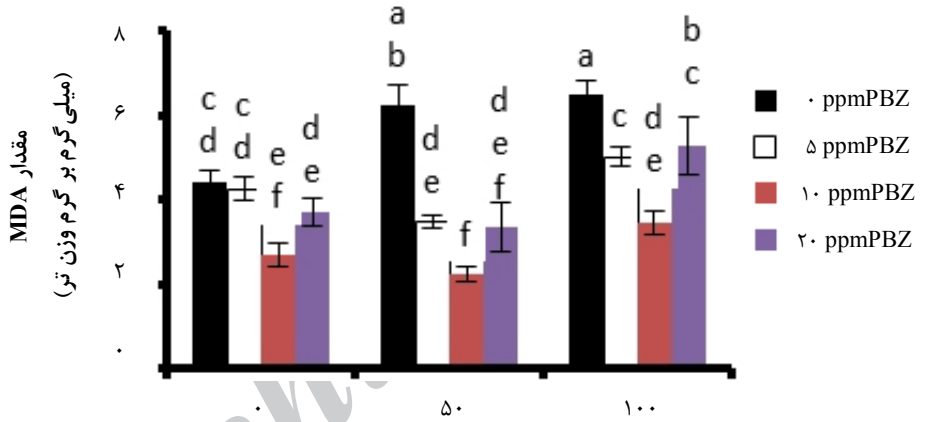


شکل۳: بررسی برهمکنش شوری (کلریدسدیم) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر میزان کلروفیل *a* (a)، کلروفیل *b* (b)، کلروفیل کل (c) و کارتنوئیدهای (d) گیاهچه‌های کلزا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد

Archive of SID
www.SID.ir

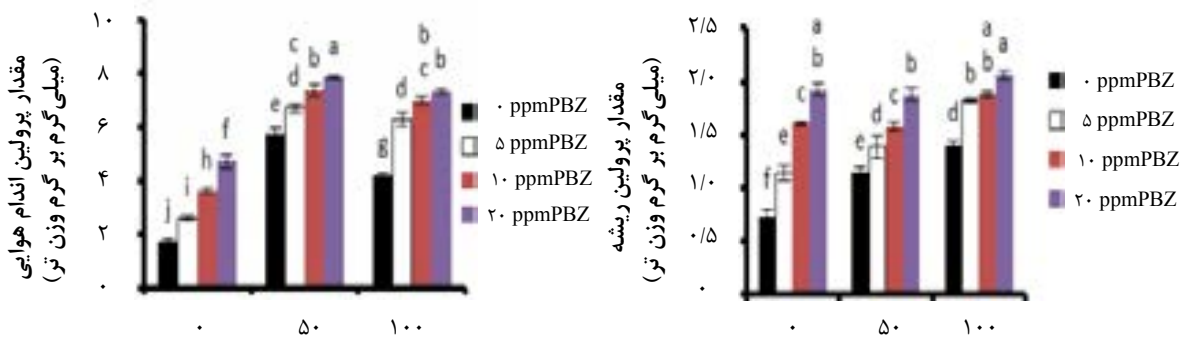


شکل ۴: بررسی برهمکنش شوری (کلریدسدیم) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر مقدار قندهای احیاکننده گیاهچه‌های کلزا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد



شکل ۵: بررسی برهمکنش شوری (کلریدسدیم) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر مقدار تجمع مالون‌دی‌آلدهید گیاهچه‌های کلزا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد.

(a) **(b)**



شکل ۶: بررسی برهمکنش شوری (کلریدسدیم) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر میزان پرولین اندام هوایی(a) و پرولین ریشه (b) گیاهچه‌های کلزا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تیمار پاکلوبوترازول در گیاهچه‌های کلزای تحت تنش شوری تا حدودی باعث القای سازگاری‌های فیزیولوژیکی مناسبی برای ایجاد درجه‌ای از تحمل به تنش شد.

منابع

آلیاری، ه. ف.، شکاری، ف. و شکاری، ف. ۱۳۷۸. دانه‌های روغنی (زراعت و فیزیولوژی). چاپ اول، انتشارات عمیدی، تبریز. ۱۸۲ ص.

تورچی، م.، شیخ، ف.، ولیزاده، م.، شکیبا، م. ر. و پاسبان‌اسلام، ب. ۱۳۸۴. رابطه خصوصیات مورفولوژیکی ریشه با مقاومت به کمبود آب در تعدادی از ژنوتیپ‌های برتر کلزا (*Brassica napus* L.)، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۱۵ (۳): ۲۶-۱۵.

ثابت‌تیموری، م.، خزاعی، ح.، نظامی، ا. و نصیری، م. ۱۳۸۶. تأثیر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کنجد. مجله پژوهش کشاورزی: آب و خاک و گیاه در کشاورزی. ۷ (۴): ۱۱۹-۱۰۹.

سعیدی، ق. و صدقی، آ. ۱۳۸۷. تأثیر بعضی از عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف برعملکرد دانه، میزان روغن و سایر صفات زراعی دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) در اصفهان، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۴۵: ۲۷-۲۰.

صراحی‌نوبر، م.، نیکنام، و. و مرادی، ب. ۱۳۸۹. اثر تنش شوری بر محتوای پروتئین، رنگیزه ها، قندها و ترکیبات فنلی در کشت بافت چند گونه از شنبلیله‌های ایران. مجله علوم دانشگاه تهران. ۲۶ (۲): ۵۹-۵۳.

فلاحی، ج.، عبادی، م. و قربانی، ر. ۱۳۸۷. اثر تنش‌های اسمزی و شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی مریم‌گلی کبیر. (*Salvia sclarea*). مجله تنش‌های محیطی در علوم کشاورزی. ۱ (۱):۶۷-۵۷.

Andrew, J.S.H., Moreau, M., Kuntz, G., Pagny, C., Lin, S., Tanksley, L. and Mccarthy, J. 2008. An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. Plant Physiology 165: 1087-1106.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. 1973. Rapid determination of free prolin for water-stress studies. Plant and soil 39: 205-207.

Berova, Z., Zlatev, Z. and Stoeva, N. 2002. Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. Bulgarin Journal of Plant Physiology 28: 75–84.

Archive of SID

www.SID.ir

Boldt, J.L. 2008. Whole plant response of Chrysanthemum to Paclobutrazol, Chlormequat Chloride, and (s)-absisic acid as a function of exposure time using a split-root system. M.Sc. Thesis, University of Florida Pp: 61

El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barely grains to the interactive effect of Salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 45: 215-225.

Eraslan, F., Inal, A., David, J., Pilbeam, B. and Gunes, A. 2008. Interactive effect of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (Spinacia oleracea L.cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation 55: 207-219.

Fletcher, R.A.A., Gilley, N., Sankhla, N. and Davis, T.D. 2000. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. Horticultural Reviews 24: 55-138.

Gao, X. Zeng, X., Xia, K. Yoshihara, T. and Zhou, X. 2004. Interactive effects of methyl jasmonate and salicylic acid on floret opening on spikelets of sorghum. Plant Growth Regulation 43: 269-273.

Gopi, R., Abduljaleel, C.A., Sairam, R., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. 2007. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on biomass, electrolyte leakage, lipid peroxidation and antioxidant potential of *Daucus carota* L. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 60: 180-186.

Hajihashemi, S., Kiarostami, K., Enteshari, S. and Saboora, A. 2006. The effect of salt stress and paclobutrazol on some physiological parameters of two salt-tolerant and salt- sensitive cultivars of wheat. Pakistan Journal of Biological Sciences 9: 1370-1374.

Heat, R.L. and Packer, L. 1968. Photo per oxidation in isolated chloroplast. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Inze, D. an;

d Montagu, M.V. 2000. Oxidative stress in plants. Cornavall, Great Britain. Pp: 105-135.

Jaleel, C.A., Gopi, R., Alagu Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam, R. 2006. Triadimefon induced changes in the antioxidant metabolism and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* (L.). Plant Sciences 171: 271-276.

Jamil, M.C., Rahman, S.U., Lee, D.B., Ashraf, M. and Rha, E.S. 2005. Salinity tolerance of brassica species at germination and early seedling growth. Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 4: 970-976.

Kishorekumar, A., Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Sridharan, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2006. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on the foliage characteristics of Chinese potato (*Solenostemon rotundifolius*). Acta Biologica Szegediensis 50: 127-129.

Archive of SID

www.SID.ir

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chorophylls and carotenoids: pigments photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

L**in, C.C. and Kao, C.H. 1996.** Proline accumulation is associated with inhibition of rice seedling root growth caused by NaCl. Plant Sciences 114: 121-128.

Lobon, N.C. Gallego, J.C.A., Diaz, T.S. and Garcia, J.C.E. 2002. Allepopathyic potential of *Cistrus landanifer* chemicals in response to variation of light and temperature. Chemoecology 12: 139-143.

Manivanna, P., Abdul Jaleel, C., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2008. Protection of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Plants from salt stress by Paclobutrazol. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 61: 315-318.

Ozmen, A.D., Ozdemir, F. and Turkan, I. 2003. Effects of paclobutrazol on response of two barley cultivars to salt stress. Plant Biology 46: 263-268.

Percival, G.C. and Noviss, K. 2008. Triazole induced drought tolerance in horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*). Tree Physiology 28: 1685-1692.

Ramezani, E., Ghajar Sepanlou, M. and Naghdi Badi, H.A. 2011. The effect of salinity on the growth, morphology and physiology of *Echium amoenum* Fisch. & Mey. African Journal of Biotechnology 10: 8765-8773.

Sankhla, N., Upadhyaya, A., Davis, T.D. and Sankhla, D. 1992. Hydrogen peroxide scavenging enzymes and antioxidants in *Echinochloa frumentacea* as affected by triazole growth regulators. Plant Growth Regulation 11:441-442.

S**hahrokhi, M., Tehranifar, A., Hadizadeh, H. and Selahvarzi, Y. 2011.** Effect of drought stress and paclobutrazol- treated seeds on physiological response of *Festuca arundinacea* L. Master and *Lolium perenne* L. Barrage. Journal of Environmental Biology 5 (14): 77-85.

Sharma, D.K., Dubey, A.K., Srivastav, M., Singh, A.K., Sairam, R.K., Pandey, R.N., Dahuja, A. and Kaur, C. 2011. Effect of Putrescine and Paclobutrazol on Growth, Physiochemical Parameters, and Nutrient Acquisition of Salt-sensitive Citrus Rootstock *Karna khatta* (Citrus karna Raf.) under NaCl Stress. Journal of Plant Growth Regulation 30: 301-311.

Somogyi-Nelson, M. 1952. Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry 195: 19-29.

Steffens, G.L. and Wang, S.Y. 1986. Biochemical and physiological alterations in apple trees caused by a giberellin biosynthesis inhibitor, paclobutrazol. Acta Horticulturae 179: 433-442.

Xing, L. and Zhu, J.H. 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. Plant Cell and Environment 25:131-139.

Archive of SID

www.SID.ir