تاثیر پاکلوبوترازول بر بهبود تحمل به خشکی در گیاهچه‌های کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط کشت درون شیشه (*in vitro*)

رویا رضوی زاده[1*] و مهری عموبیگی[1]

[1]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران- ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۹/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۴)

چکیده:

تنش خشکی به عنوان یک عامل محدود کننده تولیدات گیاهی است. جهت به حداقل رساندن اثرات سوء این تنش ترکیبات متعددی مورد استفاده قرار گرفته است. در این پژوهش اثر پاکلوبوترازول به عنوان یک تنظیم کننده تریازولی بر پارامترهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های کلزا تحت تنش خشکی در شرایط کشت درون شیشه بررسی شده است. بذرهای گیاه کلزا پس از ضدعفونی، در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های صفر، ۴ و ۸ درصد وزنی مانیتول (سطوح مختلف خشکی) و غلظت‌های صفر، ۱۰ و ۲۰ ppm پاکلوبوترازول کشت گردیدند. همچنین جداکشت‌های ساقه گیاهچه‌های کلزای حاصل از کشت بذر در محیط‌های کشت MS حاوی هورمون‌های ریشه‌زایی و کالوس‌زایی به همراه مانیتول (۰، ۴ و ۸٪) و پاکلوبوترازول (۰ و ۱۰ ppm) کشت گردید. نتایج به دست آمده پس از ۴ هفته نشان داد طول اندام هوایی و ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، مقدار کلروفیل a، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، درصد ریشه‌زایی، درصد کالوس‌زایی و وزن‌تر کالوس‌ها در تنش خشکی کاهش معنی‌داری داشته است، در حالی که مقدار پراکسیداسیون لیپید و قندهای احیا کننده و پرولین تحت تنش خشکی افزایش یافت. کاهش میزان پراکسیداسیون لیپید و افزایش طول و وزن ریشه و اندام هوایی، قندهای احیاءکننده، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین در گیاهچه‌هایی که به طور توأم با پاکلوبوترازول و تنش خشکی تیمار شده بودند، نسبت به گیاهچه‌هایی که فقط در معرض تنش خشکی بودند؛ احتمالا نشان دهنده کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی در این گیاهچه‌ها است. بنابراین پاکلوبوترازول به ویژه در غلظت ۱۰ ppm در رفع آسیب‌های حاصل از تنش در گیاهچه کلزا موثرتر بود.

کلمات کلیدی: پاکلوبوترازول، تنش خشکی، کشت درون شیشه‌ای، کلزا

مقدمه:

جنس *Brassica* L. متعلق به تیره Crucifereae و واجد ۵ گونه در ایران است. گونه *Brassica napus* L. یکی از گونه‌های زراعی و کاشته شده این جنس است، که در زبان انگلیسی به Oilseed rape، Rapeseed و Conola معروف است. دانه‌های روغنی به دلیل تولید روغن‌های با کیفیت بالا و درصد زیادی از اسیدهای چرب مرغوب از اهمیت شایانی در تغذیه انسان برخوردار است (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۸). در بین دانه‌های روغنی، کلزا به دلایل متعددی از اولویت خاصی برخوردار بوده و با توجه به نیاز مبرم

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Razavi.roya@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

کشور به تولید دانه‌های روغنی و روغن‌های گیاهی، سطح زیرکشت آن در حال افزایش است. این گیاه جهت تولید روغن گیاهی، غذای حیوانات و نیز سوخت‌های بیولوژیک استفاده می‌شود و پس از سویا و نخل، سومین محصول کشت شده جهت تولید روغن گیاهی در دنیا است. این گیاه از نظر اقتصادی و ارزش غذایی دارای اهمیت است (سعیدی و صدقی، ۱۳۸۷).

تنش محیطی از مهمترین عوامل کاهش دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان است. در این میان، آب جایگاه ویژه‌ای داشته و همواره از آن به عنوان تاثیر گذارترین عامل بر رشد گیاه یاد می‌شود. کمبود آب بیشترین سهم را در کاهش عملکرد گیاهان زراعی دارد (عظیم زاده، ۱۳۷۱). کشور ایران با متوسط نزولات آسمانی ۲۴۰ میلی‌متر حدود یک سوم میزان نزولات سالانه جهانی (۷۰۰ میلی‌متر) را داشته و دارای اقلیم خشک و نیمه خشک است. با توجه به میانگین نرخ رشد جمعیت، تخمین زده می‌شود که نیاز به آب هر ۳۵ سال دو برابر افزایش پیدا می‌کند (وهابزاده و علیزاده، ۱۳۷۸). خشکی می‌تواند در اثر یک یا چند عامل آب و هوایی، که موجب کمبود آب در داخل گیاه می‌شود به وجود آید. کاهش مقدار آب در دسترس گیاه منجر به تنش خشکی و بروز تغییرات نامناسب مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه می‌شود. از جمله می‌توان به کاهش طول ساقه، سطح برگی، وزن‌تر و خشک (Sankar *et al*., 2007)، محتوی کلروفیل و کارتنوئید (Oraki *et al*., 2012)، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و پرولین (Tatar and Gevrek, 2008) اشاره کرد.

پاکلوبوترازول یک کاهش دهنده رشد گیاهی است که به گروه تریازول‌ها تعلق دارد. مولکول پاکلوبوترازول یک ساختار حلقوی محتوی ۳ اتم نیتروژن است و دارای دو انانتومر (2R,3R) که فعالیت قارچ‌کشی دارد و انانتومر (2S,3S) که فعالیت تنظیم‌کنندگی رشد را فراهم می‌کند (Sugavanam, 1984) است. پاکلوبوترازول سبب ایجاد مقاومت به خشکی، شوری، سرما، گرما، آلودگی هوا، شرایط غرقابی، کمبود نیتروژن و اشعه ماوراء بنفش می‌شود (Radmacher, 1995). پاکلوبوترازول همچنین یک تنظیم‌کننده بیوسنتز جیبرلین است و اکسیداسیون کارن به کارنیک‌اسید که توسط کارن‌اکسیداز انجام می‌شود را مهار می‌کند (Hedden and Graebe, 1985). تاثیر پاکلوبوترازول به عنوان یک ماده ضد تعرق بر روابط آبی و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ثابت شده است. پاکلوبوترازول موجب کاهش تعرق، ارتفاع، بیوماس، سطح برگی و افزایش مقاومت روزنه‌ای می‌شود (Nishizawa, 1993). از تغییرات بیوشیمیایی پاکلوبوترازول می‌توان افزایش کلروفیل و پرولین را نام برد (Hajihashemi *et al*., 2006).

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر کاربرد تنظیم‌کننده پاکلوبوترازول برون‌زا در بهبود فاکتورهای رشد و نموی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهچه کلزا و جداکشت‌های حاصل از آن در شرایط کشت درون شیشه‌ای و تحت تنش خشکی و افزایش تحمل در مقابله با شرایط تنش می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

موادگیاهی: در این تحقیق از گیاهچه کلزا (*B. napus* L.) رقم اکاپی استفاده گردید. ابتدا بذرهای تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان با آب مقطر شستشو و سپس با اتانول ۷۰٪ 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، ۴ و ۸ درصد وزنی مانیتول (سطوح مختلف خشکی) و غلظت‌های صفر، ۱۰ و ۲۰ ppm پاکلوبوترازول قرار داده شد. به این منظور ابتدا محلول پایه ۱۰۰ ppm 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٪ منتقل شدند. ۴ هفته بعد از رشد، گیاهچه‌های حاصل برای

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده گردیدند.

برای القای کالوس و بررسی درصد کالوس‌زایی جداکشت‌ها در سطوح مختلف تنش خشکی و غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول، جداکشت‌های ساقه به طول ۱ cm از گیاهچه‌های کلزای ۴ هفته حاصل از کشت بذر در محیط‌های کشت MS تکمیل شده با ۲mg/L 2.4.D (دی‌کلروفنوکسی‌استیک‌اسید)، ۲mg/L NAA (نفتالن‌استیک‌اسید) و ۲mg/L IAA (اندول‌استیک‌اسید) (پاک مهر، ۱۳۸۹) به همراه مانیتول (صفر، ۴ و ۸ درصد وزنی) و پاکلوبوترازول (۰ و ۱۰ ppm) به مدت ۴ هفته کشت گردید. همچنین به منظور بررسی درصد ریشه زایی، جداکشت‌ها در محیط کشت MS تکمیل شده با ۱mg/L NAA (پاک مهر، ۱۳۸۹) و غلظت‌های ذکر شده مانیتول و پاکلوبوترازول کشت گردیدند. این آزمایش با ۳ تکرار و ۱۰ نمونه در هر تکرار انجام گرفت.

اندازه‌گیری طول و وزن خشک ساقه و ریشه: اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه در گیاهچه کلزا با استفاده از خط‌کش میلی‌متری انجام شد و بر اساس واحد سانتی‌متر گزارش شد. برای 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.

سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید: برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. برای استخراج این رنگیزه‌ها، برگ‌ها در استن ۸۰ درصد خوب سائیده شدند. پس از صاف کردن، جذب آنها در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر RAY LEIGH UV 1601 خوانده شد. جهت تنظیم دستگاه از استن ۸۰ درصد استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه و ارائه گردیدند.

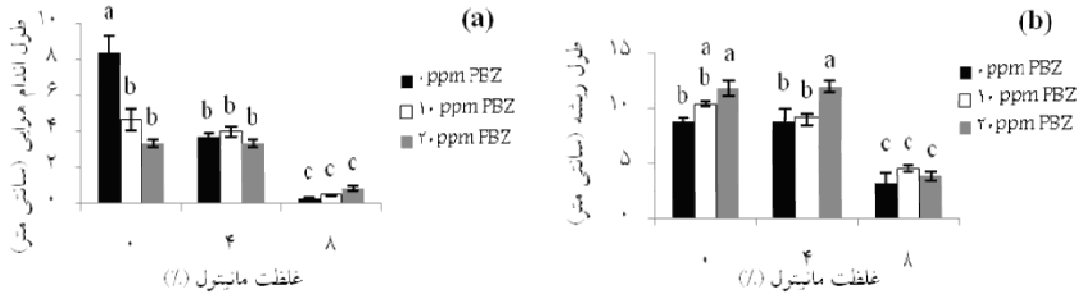
سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA): برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید از روش Heat و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. طبق این روش ۰/۲ گرم بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل، ۴ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) بود؛ اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت 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 غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155\ cm^{-1}mM^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن‌تر ارائه گردیدند.

سنجش مقدار قندهای احیاکننده: ۰/۰۲ گرم از بافت تازه برگ توزین گردید و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی سائیده شد. مقدار قندهای احیاکننده در برگ‌ها به روش Somogyi-Nelson (۱۹۵۲) اندازه‌گیری شد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد، سپس با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیا کننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه و گزارش گردید.

اندازه گیری مقدار پرولین: مقدار پرولین در برگ‌ها و ریشه به روش Bate و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. بر طبق این روش 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 سائیده شد. بعد از

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- بررسی اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر طول اندام هوایی(a) و عمق ریشه (b) گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد ($p\leq0.05$).

سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها و اضافه کردن معرف نین هیدرین و اسید استیک خالص به محلول رویی، قرار دادن در بن ماری به مدت یک ساعت، افزودن تولوئن و جداسازی محلول بالایی، شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه و گزارش گردید.

سنجش مقدار کل پروتئین‌ها: ۰/۰۲ گرم از بافت تازه برگ توزین گردید و با ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات نمکی در هاون چینی که در درون یخ قرار داده شده بود؛ سائیده شد. پس از سانتریفیوژ نمودن به محلول رویی معرف A (کربنات سدیم اشباع)، معرف B (محلول سولفات مس یک درصد)، معرف C (ترکیبی از معرف‌های فوق) و معرف D (فولن–سیوکالتو) مطابق با روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) افزوده و در بن ماری در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. در پایان میزان پروتئین بر حسب میلی‌گرم به گرم وزن‌تر با استفاده از رسم منحنی استاندارد توسط آلبومن گاوی محاسبه و گزارش گردید.

محاسبات آماری: تمام آزمایشات طبق طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل انجام شد و آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. مقایسه میانگین براساس آزمون Duncan انجام گردید و سطوح معنی‌دار بودن تیمارها در سطح $p \leq 0.05$ محاسبه گردید.

نتایج:

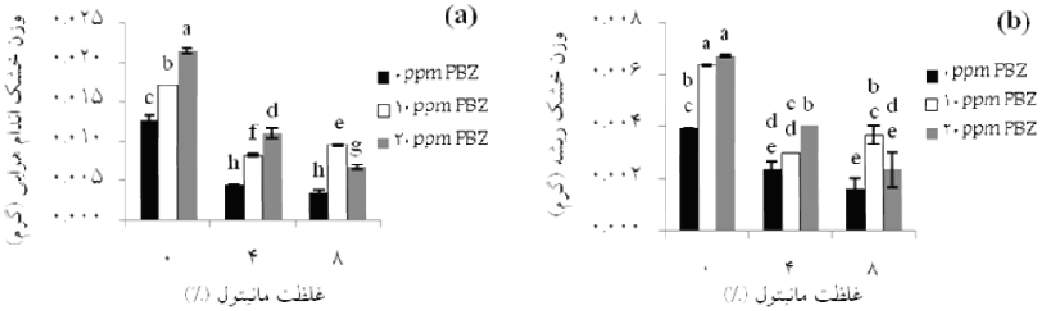
طول اندام هوایی: تیمار خشکی باعث کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی نسبت به گیاهچه‌های شاهد شد. هر دو غلظت پاکلوبوترازول باعث کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی نسبت به گروه شاهد در محیط بدون مانیتول شد. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، پاکلوبوترازول در طول اندام هوایی گیاهچه‌های تحت تنش خشکی اثر معنی‌داری نداشت (شکل a ۱).

عمق ریشه: تیمار خشکی باعث کاهش معنی‌دار عمق ریشه در خشکی ۸٪ مانیتول نسبت به گروه شاهد بدون مانیتول شد. در محیط بدون مانیتول عمق ریشه در گیاهچه‌هایی که با ۲۰ ppm پاکلوبوترازول تیمار شده بودند، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۲۰ ppm موجب افزایش معنی‌دار عمق ریشه گیاهچه‌های تحت تنش خشکی ۴٪ مانیتول گردید (شکل b ۱).

وزن خشک اندام هوایی: تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها نسبت به گروه شاهد شد. در محیط بدون مانیتول هر دو غلظت پاکلوبوترازول باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- بررسی اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر وزن خشک اندام هوایی(a) و ریشه (b) گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد ($p\leq0.05$).

هوایی گیاهچه‌های کلزا نسبت به گروه شاهد شد. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، هر دو غلظت پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌های تحت خشکی ۴ و ۸٪ مانیتول گردید (شکل a ۲).

وزن خشک ریشه: تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در وزن خشک ریشه گیاهچه نسبت به گروه شاهد شد. در محیط بدون تنش خشکی تیمار پاکلوبوترازول باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه گیاهچه‌های کلزا نسبت به گروه شاهد گردید. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، در گیاهچه‌های تحت تیمار پاکلوبوترازول ۲۰ ppm و تنش خشکی ۴ ٪ مانیتول و همچنین در گیاهچه‌های تحت تیمار ۱۰ ppm پاکلوبوترازول و تنش خشکی ۸ ٪ مانیتول وزن خشک ریشه، نسبت به گیاهچه‌ها در همان سطح تنش خشکی افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (شکل b ۲).

کلروفیل *a*، *b* کلروفیل کل و کارتنوئیدها: در گیاهچه مورد مطالعه میزان کلروفیل *a*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها با افزایش خشکی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. هر دو غلظت پاکلوبوترازول در گیاهان بدون تیمار خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل گردید. در حالی که تیمار پاکلوبوترازول فقط در غلظت ۱۰ ppm افزایش معنی‌داری در میزان کارتنوئیدها نسبت به گروه شاهد بدون مانیتول ایجاد کرد. در هر دو غلظت پاکلوبوترازول میزان کلروفیل *b*، کلروفیل *a*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در گیاهچه‌های تحت تنش ۴٪ مانیتول افزایش معنی‌داری یافت. به کار بردن پاکلوبوترازول در غلظت ۱۰ ppm افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در سطح خشکی ۸٪ مانیتول ایجاد کرد (شکل۳).

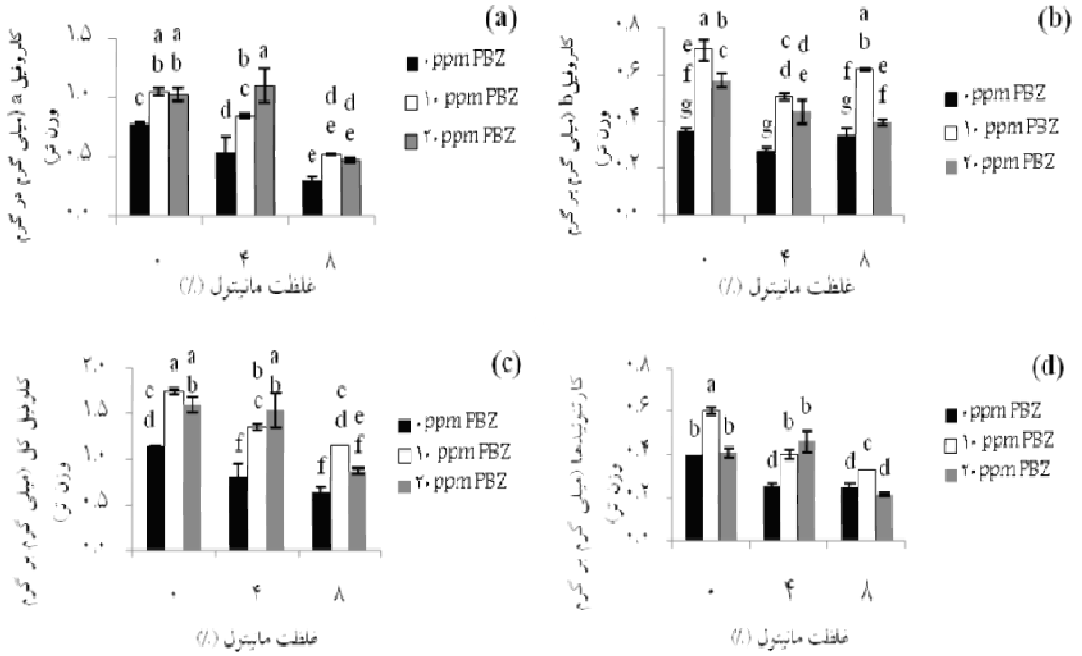
قندهای احیاکننده: تیمار خشکی باعث افزایش قندهای احیاکننده اندام هوایی گردید تیمار پاکلوبوترازول به تنهایی نیز باعث افزایش معنی‌دار میزان قندهای احیا کننده نسبت به شاهد شد. افزایش قندهای احیاکننده در تنش خشکی ۴٪ مانیتول و ۲۰ ppm پاکلوبوترازول و همچنین تنش خشکی ۸٪ مانیتول و ۱۰ و ۲۰ ppm پاکلوبوترازول نسبت به همان سطح تنش خشکی مشاهده شد (شکل a ۴).

تجمع مالون‌دی‌آلدهید (MDA): در این آزمایش تنش خشکی ۸٪ موجب افزایش معنی‌داری در میزان MDA گردید. تیمار پاکلوبوترازول به تنهایی باعث کاهش معنی‌دار MDA نسبت به گروه شاهد گردید. در تیمار توأم مانیتول و پاکلوبوترازول، هر دو غلظت پاکلوبوترازول میزان MDA را در گیاهچه‌های تحت تنش خشکی ۴ و ۸٪ به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل b۴).

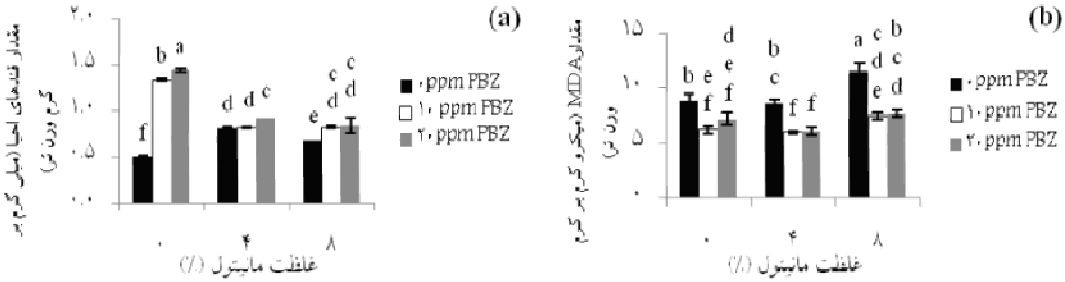
پرولین ریشه و اندام هوایی: مقدار پرولین اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های تحت تنش خشکی ۴٪ مانیتول

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۳- بررسی اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر میزان کلروفیل *a* (a)، کلروفیل *b* (b)، کلروفیل کل (c) و کارتنوئیدهای (d) گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد (p≤0.05).

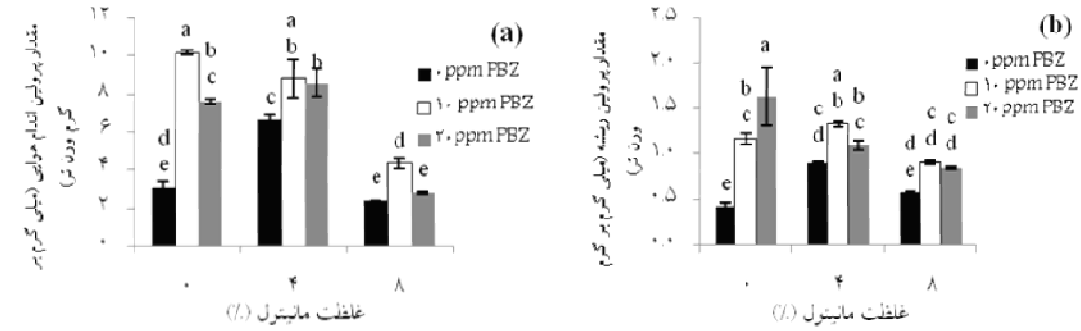


شکل ۴- بررسی اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر مقدار قندهای احیا کننده (a) و میزان MDA (b) گیاهچه‌های کلزا مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد (p≤0.05).

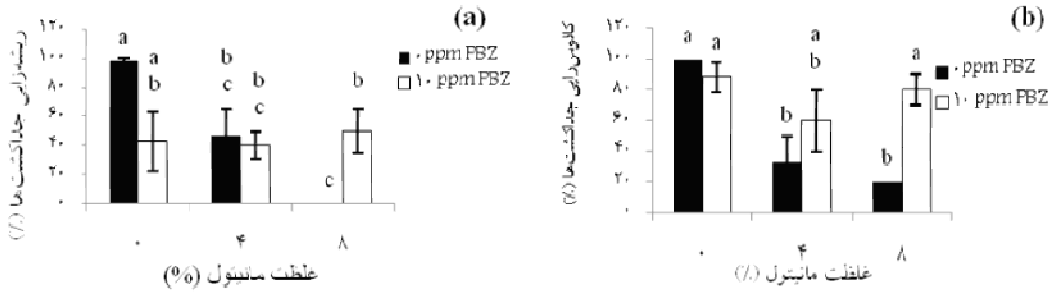
افزایش یافت (شکل ۵). تیمار پاکلوبوترازول در محیط بدون تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار میزان پرولین اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌ها نسبت به گیاهان گروه شاهد شد. به کار بردن پاکلوبوترازول در غلظت ۱۰ ppm باعث افزایش معنی‌دار پرولین اندام هوایی گیاهچه‌ها در هر دو سطح تنش خشکی و همچنین پرولین ریشه در سطح تنش خشکی ۴٪ مانیتول گردید. همچنین پاکلوبوترازول در غلظت ۲۰ ppm در پرولین اندام هوایی گیاهچه‌های در سطح تنش خشکی ۴٪ مانیتول افزایش معنی‌داری ایجاد کرد.

درصد ریشه‌زایی: پس از ۴ هفته، بیشترین درصد ریشه‌زایی در قطعات جداکشت کشت شده در محیط MS

www.SID.ir



شکل ۵- بررسی اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر میزان پرولین اندام هوایی(a) و پرولین ریشه (b) گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد ($p\leq0.05$).



شکل ۶- اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر درصد ریشه‌زایی (a) و درصد کالوس‌زایی جداکشت‌های کلزا (b). مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد ($p\leq0.05$).

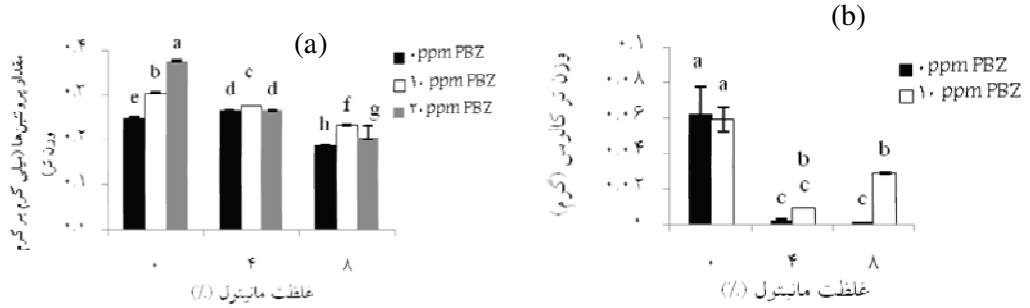
حاوی هورمون ریشه‌زایی مشاهده شد (۹۸٪). ریشه‌ها به خوبی رشد کردند به نحوی که تمام سطح محیط کشت از ریشه‌های سفید رنگ و منشعب پوشیده شد. با افزایش تنش خشکی درصد ریشه‌زایی جداکشت‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. در سطح خشکی ۸٪ مانیتول هیچ یک از جداکشت‌ها ریشه تولید نکردند (۰٪). در جداکشت‌های تحت تیمار پاکلوبوترازول و خشکی ۸٪ مانیتول، ریشه با انشعابات فراوان تشکیل شد و درصد ریشه‌زایی به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل a ۶).

درصد کالوس‌زایی: پس از ۴ هفته، در همه قطعات جداکشت در محیط MS حاوی هورمون‌های کالوس‌زایی تمایز زدایی صورت گرفت و کالوس تشکیل شد (۱۰۰٪ کالوس‌زایی) و کالوس‌ها سبز رنگ، ترد و شکننده بودند. با افزایش تنش خشکی درصد کالوس‌زایی، به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت و در قطعات جداکشت به ویژه در تنش خشکی ۸٪ مانیتول آثاری از قهوه‌ای شدن مشاهده شد. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، درصد کالوس‌زایی در محیط حاوی پاکلوبوترازول و تنش خشکی ۸٪ مانیتول نسبت به جداکشت‌های تحت تنش، به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل b ۶).

مقدار پروتئین: پروتئین کل در گیاهچه‌های تحت تنش خشکی ۴٪ مانیتول افزایش و تحت تنش خشکی ۸٪ مانیتول نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در محیط بدون مانیتول هر دو غلظت پاکلوبوترازول افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین‌ها نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد. در تیمار توأم پاکلوبوترازول و خشکی، پاکلوبوترازول موجب افزایش معنی‌دار پروتئین‌ها گردید که این افزایش

Archive

www.SID.ir



شکل۷- اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول (PBZ) بر میزان پروتئین کل(a) و بر وزن‌تر کالوس‌های(b) گیاهچه کلزا. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون Duncan می‌باشد ($p\leq0.05$).

در سطح خشکی ۴٪ مانیتول با پاکلوبوترازول ppm ۱۰ و در سطح خشکی ۸٪ مانیتول با غلظت ppm ۱۰ و ۲۰ پاکلوبوترازول معنی‌دار شد (شکل a ۷).

وزن‌تر کالوس: در هر دو سطح تنش خشکی کاهش معنی‌داری در وزن‌تر کالوس‌ها نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. وزن‌تر کالوس‌های تولید شده در محیط حاوی پاکلوبوترازول و بدون مانیتول تفاوت معنی‌داری نسبت به کالوس‌های بدون تیمار نداشت. در تیمار توأم پاکلوبوترازول و تنش خشکی، پاکلوبوترازول فقط توانست وزن‌تر کالوس‌های تحت تنش خشکی ۸٪ مانیتول را به طور معنی‌داری افزایش دهد (شکل b ۷).

بحث:

تنش خشکی به عنوان یک عامل مهم محیطی بر پارامترهای رشد گیاه اثر می‌گذارد. گزارش‌هایی مبنی بر کاهش طول ریشه و ساقه تحت تنش خشکی وجود دارد (Khoshsokhan *et al*., 2012). در این پژوهش نیز کاهش طول ریشه و ساقه تحت تنش خشکی مشاهده گردید. مشخص گردیده است که گونه‌های مقاوم به خشکی، با تغییر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آناتومی قادر به ایجاد ساختارهای مقاوم به خشکی 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 مورد نقش پاکلوبوترازول بر پارامترهای رشد گزارش‌های متعددی وجود دارد. از جمله گزارش شده است که پاکلوبوترازول کاهش رشد ناشی از تنش سرمایی (Pinhero and Fletcher, 1994) و تنش خشکی (Matta *et al*., 1998) را بهبود می‌بخشد. با توجه به اینکه رشد و تقسیم سلولی نیازمند حفظ فشار تورژسانس می‌باشد و سلول‌ها باید حجم مناسبی برای تقسیم داشته باشند؛ بنابراین به دنبال کمبود آب و ایجاد تنش اسموتیک، با از دست رفتن آب سلول‌ها، فشار تورژسانس و حجم سلول کاهش یافته و این امر موجب کاهش رشد و تقسیم سلولی می‌گردد (Xing and Zhu, 2002). لذا بهبود پارامترهای رشد در گیاهچه‌های تحت تنش خشکی و پاکلوبوترازول را می‌توان به نقش پاکلوبوترازول در افزایش محتوی آب سلول‌ها نسبت داد (Berova and Zlatev, 2003).

یکی از ویژگی‌های مطلوب جهت ارزیابی تأثیر تنش خشکی بر گیاهان، تعیین وزن خشک گیاه می‌باشد. بنابراین روند عمومی که گیاهان در شرایط تنش خشکی با آن روبرو هستند، کاهش وزن خشک می‌باشد (Farooq *et al*., 2009). در این پژوهش نیز تنش خشکی موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه گردید. یکی از دلایل کاهش وزن خشک در گیاهان تحت تنش خشکی، کاهش فتوسنتز می‌باشد. تنش خشکی از طریق اختلال در ساختار غشا، ایجاد بی‌نظمی در ساختار اندامک‌ها و به هم ریختن عملکرد روزنه‌ها موجب کاهش نرخ فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد گیاه می‌شود (Zhang *et al*., 1997). در این

Archive of SID

www.SID.ir

پژوهش پاکلوبوترازول وزن خشک اندام هوایی و ریشه را در گیاهچه‌های کلزا تحت تنش خشکی بهبود بخشید. نتایج مشابهی از افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی با به کار بردن پاکلوبوترازول در گیاهان تحت تنش گزارش شده است (Gilley and Fletcher, 1997). در واقع می‌توان این گونه 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.

در این پژوهش کاهش مقدار کلروفیل *a* و کلروفیل کل گیاهچه‌های تحت تنش خشکی مشاهده شد. گزارش مشابهی مبنی بر کاهش مقدار کلروفیل در آفتابگردان وجود دارد (Oraki *et al*., 2012). رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی تنش باعث تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه کاهش رنگیزه‌ها می‌گردد (Sairam *et al*., 1998). تنش خشکی همچنین با افزایش برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر اتیلن و اسیدآبسیزیک، فعالیت کلروفیلاز را تحریک و باعث تجزیه کلروفیل می‌گردد (Draikewicz, 1994). بنابراین کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً می‌تواند به دلیل کاهش سنتز کلروفیل و افزایش تجزیه آن باشد. در این پژوهش افزایش میزان کلروفیل کل با به کار بردن پاکلوبوترازول مشاهده شد. 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). همچنین مشاهده شده است که پاکلوبوترازول باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار خشکی (Amina and Hanan, 2011; Percival and Noviss, 2008) و تیمار سرمایی (Pinhero and Fletcher, 1994) شده است. در این پژوهش نیز پاکلوبوترازول مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی را به طور قابل توجهی در برگ گیاهچه‌های کلزا تحت تیمار توأم پاکلوبوترازول و خشکی نسبت به گیاهچه‌های تحت همان مقدار خشکی افزایش داد.

کارتنوئیدها ترکیبات تتراترپنی می‌باشند که به عنوان حامی رنگیزه‌های فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی 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). در این تحقیق کاهش معنی‌داری در مقدار کاروتنوئید طی تنش خشکی مشاهده شد. در حالی که پاکلوبوترازول در شرایط تنش و غیر تنش موجب افزایش کارتنوئیدها گردید. نتایج مشابهی از اثر حفاظتی پاکلوبوترازول از طریق افزایش مقدار کارتنوئیدها بر گیاهان تحت تنش خشکی گزارش شده است (Amina and Hanan, 2011; Percival and Noviss, 2008). تجمع کربوهیدرات‌ها که در تنظیم اسمزی جهت مقاومت به خشکی در گیاهان نقش ایفا می‌کند اغلب تحت تنش خشکی و دهیدراسیون مشاهده شده است. علاوه بر نقش قندها در تعدیل اسموتیکی، قندها در حفظ پروتئین‌ها، حفظ سیالیت غشا و زدودن رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش دارند. تجمع قندهای محلول طی تنش خشکی در آفتابگردان گزارش شده است (Oraki *et al*., 2012). در مطالعه حاضر میزان قندها در گیاهچه‌های تحت خشکی افزایش یافت. Moradshahi و همکاران (۲۰۰۴) علت افزایش قندها در شرایط کمبود آب در گیاه *Brassica rapus* را تحرک بیشتر ذخایر پلی‌ساکاریدی دانستند. طی تنش خشکی در گیاه گندم مقدار تجمع قندها با تیمار پاکلوبوترازول افزایش یافت (Amina and Hanan, 2011). به نظر می‌رسد کاربرد پاکلوبوترازول در این تحقیق از طریق افزایش قندها سبب افزایش سازگاری گیاهچه‌ها به شرایط تنش شده است. از آنجایی که پاکلوبوترازول باعث تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی می‌شود، بنابراین افزایش مقدار قندها در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول را می‌توان به نقش پاکلوبوترازول در تعدیل

Archive of SID

www.SID.ir

کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت داد. رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده توسط خشکی باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Sairam *et al*., 1998). نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها، ترکیباتی نظیر مالون‌دی‌آلدئید می‌باشد. در این تحقیق مقدار مالون‌دی‌آلدئید در تنش خشکی افزایش یافت. افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید طی تنش خشکی در گندم گزارش شده است (Tatar and Gevrek, 2008). پاکلوبوترازول همچنین با جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در طول تنش خشکی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، حفظ تمامیت غشا و کاهش تراوش الکترولیت‌ها در دانه‌رست گندم گردید (Amina and Hanan, 2011; Gilley and Fletcher, 1997). در این تحقیق مشخص است که پاکلوبوترازول میزان پراکسیداسیون لیپیدهای ناشی از تنش خشکی را کاهش داده است، بنابراین احتمالاً پاکلوبوترازول به نوعی با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها از طریق اثر بر مکانیسم‌های دفاع آنزیمی و غیرآنزیمی، گیاهچه کلزا را در مقابل تنش اکسایشی محافظت کرده است.

تحت تنش خشکی ۴٪ مانیتول میزان پرولین اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های کلزا افزایش یافت. تجمع پرولین تحت تنش خشکی می‌تواند به دلیل نقش آن به عنوان یک اسمولیت در تنظیم اسمزی و حفاظت از بسیاری از پروتئین‌ها و آنزیم‌های سیتوپلاسمی باشد (Delauney and Verma, 1993). گزارش‌های متعددی حاکی از این است که پاکلوبوترازول بر میزان پرولین اثر می‌گذارد. گزارش شده است که پاکلوبوترازول موجب افزایش مقدار پرولین در گندم شده است (Tatar and Gevrek, 2008). همچنین گزارش شده است که پاکلوبوترازول موجب افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شده است (Amina and Hanan, 2011; Percival and Noviss, 2008). در پژوهش حاضر نیز پاکلوبوترازول مقدار پرولین را به طور قابل توجهی در اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های کلزا افزایش داده است. 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 گیاهچه کلزا افزایش بیوسنتز پرولین و یا کاهش تجزیه آن در اثر تیمار با پاکلوبوترازول می‌باشد.

پروتئین‌های زیادی در گیاهان شناخته شده‌اند که در تنش خشکی بیان می‌شوند و حتی بیان بسیاری از پروتئین‌های که جزء متابولیسم اصلی گیاهان هستند در شرایط تنش خشکی افزایش نشان می‌دهند. از جمله پروتئین‌های که در تنش اسمزی افزایش پیدا می‌کنند می‌توان به پروتئین‌های فراوان با تأخیر جنین زایی (LEA ها)، دهیدرین‌ها، پروتئین‌های مربوط به سیستم دفاعی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروتئین‌های دخیل در سنتز محافظت کننده‌های اسمزی اشاره کرد(Sha Vali Khan *et al*., 2007). بنابراین به نظر می‌رسد در گیاهچه‌های کلزا تحت تنش خشکی ملایم (۴٪مانیتول) گروه‌هایی از پروتئین‌های فوق افزایش یافته و سبب مقاومت گیاهچه‌ها به تنش شده‌اند. از طرفی با توجه به نقش پرولین در حفاظت پروتئین‌ها در برابر دناتوره شدن (Delauney and Verma, 1993)؛ افزایش مقدار پروتئین‌ها تحت تنش خشکی ملایم را می‌توان به افزایش پرولین در این سطح تنش نسبت داد. در مقابل کاهش مقدار پروتئین‌ها در غلظت بالاتر مانیتول (۸٪) می‌تواند به دلیل کاهش فتوسنتز و کاهش مواد مورد نیاز برای سنتز پروتئین‌ها باشد (Havaux *et al*., 1987). از دلایل دیگر کاهش پروتئین‌ها در این سطوح تنش خشکی، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد چرا که این ترکیبات موجب مهار سنتز پروتئین‌ها و یا منجر به دناتوره شدن آنها می‌گردند (Sgherri and Navari-Izzo, 1995). در این پژوهش به کار بردن پاکلوبوترازول در شرایط تنش و غیرتنش موجب افزایش پروتئین‌ها شده است. گزارش مشابهی مبنی بر افزایش میزان پروتئین‌ها در گیاهان گندم تیمار شده با پاکلوبوترازول وجود دارد (Nouriyani *et al*., 2012). می‌توان این‌گونه اظهار کرد که پاکلوبوترازول با القای سنتز

Archive of SID

www.SID.ir

پروتئین‌هایی مشابه با پروتئین‌های مقاومتی سنتز شده طی تنش و همچنین با ممانعت از تخریب پروتئین‌ها از طریق افزایش سیستم دفاعی و اسمولیت‌هایی مانند پرولین موجب افزایش مقدار پروتئین‌ها و حفاظت از آنها و در نهایت افزایش مقاومت گیاهچه کلزا به تنش خشکی گردیده است.

همچنین در این پژوهش با افزایش تنش خشکی درصد کالوس‌زایی و وزن‌تر کالوس‌ها کاهش یافت. در بررسی Abdelsamad و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گندم نیز مشخص شد که درصد کالوس‌زایی و وزن‌تر کالوس‌ها تحت تنش خشکی در شرایط کشت درون شیشه‌ای کاهش می‌یابد و این کاهش به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد و همبستگی مثبتی را بین تشکیل کالوس و وزن کالوس نشان دادند. عموماً میزان توانایی تشکیل کالوس یک ویژگی کارآمد برای بررسی پاسخ گیاه و میزان مقاومت به تنش خشکی محسوب می‌شود و وزن‌تر کالوس یک ویژگی کمی برای بررسی سرعت رشد کالوس در نظر گرفته می‌شود (Abdelsamad *et al*., 2007). کاهش رشد و وزن‌تر کالوس تحت تنش خشکی در *Pinus taeda* گزارش شده است (Newton *et al*., 1986). کاهش وزن‌تر کالوس نشان‌دهنده از دست رفتن آب سلول در شرایط تنش است (Newton *et al*., 1986). گزارش‌های دیگری مبنی بر کاهش وزن‌تر و محتوی آب کالوس تحت تنش خشکی القا شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) وجود دارد (Abdul-Qadir and Al-Ka'aby, 2011; Ehsanpour and Razavizadeh, 2005). قهوه‌ای شدن در بافت‌های گیاهی به وسیله پلی‌فنل‌اکسیداز صورت می‌گیرد و عموماً بعد از آسیب دیدن بافت‌ها ایجاد می‌گردد (احسان پور و امینی۱۳۸۲). بنابراین آثار قهوه‌ای شدن در جداکشت‌های تحت تیمار ۸٪ مانیتول در این تحقیق نشان دهنده آسیب زیاد به بافت‌ها است. همچنین حضور PEG در محیط کشت بر پارامترهای مربوط به باززایی جداکشت‌ها موثر است. اضافه کردن PEG به محیط کشت، رشد کالوس و ظرفیت باززایی گیاه گوجه فرنگی را کاهش داد (Aazami *et al*., 2010). در این پژوهش نیز درصد ریشه‌زایی جداکشت‌ها در شرایط تنش خشکی کاهش یافت. تأثیر پاکلوبوترازول بر رشد و نمو گیاهان در شرایط کشت درون شیشه‌ای خیلی کم مطالعه شده است. در این تحقیق پاکلوبوترازول درصد کالوس‌زایی، درصد ریشه‌زایی و وزن‌تر کالوس‌ها را تحت تنش خشکی تا حد معنی‌داری بهبود بخشید. نتایج متفاوتی از تأثیر پاکلوبوترازول بر ریشه‌زایی در شرایط کشت درون شیشه‌ای به دست آمده است. پاکلوبوترازول تشکیل ریشه را در جداکشت‌ها در تعدادی از گونه‌ها بهبود بخشید (Davis *et al*., 1986). در حالی که درصد ریشه‌زایی در جداکشت‌های تیمار شده با پاکلوبوترازول در *Phaseolus vulgaris* کاهش یافت (wiesman and Riov, 1994). در کل توانایی تولید ریشه به منظور ریزازدیادی گونه‌های گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و تولید مطلوب ریشه سهم زیادی در انتقال موفقیت‌آمیز گیاه به خاک دارد (Nizam and Te-chato, 2009). یکی از مکانیسم‌های سازشی گیاه به تنش خشکی بهبود سیستم ریشه‌زایی گیاه است (Misra *et al*., 1996). بنابراین افزایش درصد ریشه‌زایی توسط پاکلوبوترازول در شرایط خشکی نشان‌دهنده نقش آن در افزایش مقاومت به تنش است. همچنین پاکلوبوترازول با حفظ توانایی تکثیر سلول‌ها و محتوای آب بافت موجب بهبود درصد کالوس‌زایی و وزن تر کالوس‌های کلزا در شرایط تنش گردید.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد گیاهچه‌های کلزا تا حدودی مقاوم به تنش خشکی هستند اما با افزایش شدت تنش، مکانیسم‌های مقاومتی گیاهچه برای مقابله با این تنش شدید کارآمد نیستند. تیمار گیاهچه‌ها با پاکلوبوترازول توانست با ایجاد تغییراتی در فرآیندهای

Archive of SID

www.SID.ir

فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اثرات تخریبی ناشی از تنش خشکی را در این گیاهان بهبود بخشد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله از قطب تنش‌های گیاهی دانشگاه اصفهان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع:

احسان پور، ع. ا. و امینی، ف. (۱۳۸۲) کشت سلول و بافت گیاهی. جهاد دانشگاهی اصفهان، اصفهان.

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

پاک مهر، ی. (۱۳۸۹) مطالعه اثر شوری بر پارامترهای رشدی و اندام‌زایی گیاه کلزا (*Brassica napus*) در شیشه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور، اصفهان، ایران.

تورچی، م.، شیخ، ف.، ولی زاده، م.، شکیبا، م. ر.، و پاسبان اسلام، 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: ۲۶-۱۵.

سعیدی، ق.، صدقی، آ. (۱۳۸۷) تاثیر بعضی از عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف 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.

عظیم زاده، م. (۱۳۷۲). تعیین الگوی رشد در سه رقم گندم و دو رقم جو، پایان نامه ارشد، دانشگاه مشهد، مشهد، ایران.

وهابزاده، ع. و علیزاده، م. ا. (۱۳۷۸). آخرین واحه، آب مایه حیات. انتشارت جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.

Aazami, M. A., Torabi, M. and Jalili, E. (2011) *In vitro* response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress. African Journal of Biotechnology 9: 4014-4017.

Abdelsamad, A., El-Sayed, O. E. and Hayam, F. I. (2007) Development of drought tolerant double haploid wheat using biochemical genetic markers on *in vitro* culture. Journal of Applied Sciences Research 3: 1589-1599.

Abdul-Qadir, L. H. and Al-Ka'aby, H. K. (2011) The effect of water stress on callus and somatic embryos formation of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Jasmine cultured *in vitro*. Journal of Basrah Researches (Sciences) 315: 1817-2695.

Amina, A. A. and Hanan, H. L. (2011) Differential effects of paclobutrazol on water stress alleviation through electrolyte leakage, phytohormones, reduced glutathione and lipid peroxidation in some wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) grown *in vitro*. Romanian Biotechnological Letters 6: 6710-6721.

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

Berova. M. and Zlatev. Z. (2003) Physiological response of paclobutrazol-treated triticale plants to water stress. Biologia Plantarum 46: 133-136.

Davis, T. D., Walser, R. H., Soerenson, K. and Sankhla, N. (1986) Rooting and subsequent growth of cuttings treated with paclobutrazol. Plant Propagation 32: 7-9.

Delauney, A. J. and Verma. D. P. (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. The Plant Journal 4:215-223.

Draikewicz, M. (1994) Chlorophylase occurrence functions, mechanism of action, effect of extera and internal factor. Photosynthetica 30: 321-327.

Ehsanpour, A. A. and Razavizadeh, R. (2005).Effect of UV-C on drought tolerance of Alfalfa plant (*Medicago sativa* L.) callus. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 1: 107-110.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185–212.

Gilley, A. and Fletcher. R. A. (1997) Relative efficacy of paclobutrazol, propiconazole and tetraconazole as stress protectants in wheat seedlings. Plant Growth Regulation 21:169–175.

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

Archive of SID

www.SID.ir

Nizam, K. and Te-chato, S. (2009). Optimizing of root induction in oil palm plantlets for acclimatization by some potent plant growth regulators (PGRs). Journal of Agricultural Technology 5: 371-383.

Nouriyani, H., Majidi, E., Seyyednejad, S. M., Siadat, S. A. and Naderi, A. (2012) Effect of Paclobutrazol under Different Levels of Nitrogen on Some Physiological Traits of Two Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.). World Applied Sciences Journal 16: 1-6.

Oraki, H. Parhizkar khajani, F. and Aghaalikhana, M. (2012) Effect of water deficit stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and grain yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. African Journal of Biotechnology 25: 164-168.

Parida, A. K. and Das, A. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmwntal Safety 60: 324-349.

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

Pinhero, R. and Fletcher, R. (1994) Paclobutrazol and ancymidol protect corn seedlings from high and low temperature stresses. Plant Growth Regulation 15: 47–53.

Rademacher, W. (1995) Growth retardants: biochemical features and applications in horticulture. Acta Horticulturae 394: 57 -73.

Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D. C. (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. Biologia Plantarum. 41: 387-394.

Sankar, B., Jaleel C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007) Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. Acta Botanica Croatica 66: 43–56.

Sgherri, C. L. M. and Navari-Izzo, F. (1995) Sunflower seedling subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defence mechanisms. Physiologia Plantarum. 93:25-30.

Sho Vali Khan, P. S., Hoffman, L., Renaut, J. and Housman, J. F. (2007) Current initiatives in proteomic for analysis of plant salt tolerance. Current Sciences 93: 807-817.

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

Sugavanam, B. (1984) Diastereoisomers and enantiomers of paclobutrazol: Their preparation and biological activity. Pesticide Sciences 15:296-302.

Havaux, M., canaai, O. and Malkin, S. (1987) Inhibition of photosynthetic activies under slow water stress measured *in vivo* by photoacoustic method. Physiologia Plantarum 70: 503-510.

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.

Hedden, P. and Graebe, J. E. (1985) Inhibition of gibberellin biosynthesis by paclobutrazol in cell free homogenates of *Cucurbita maxima* endosperm and *Malus pumila* embryos. Plant Growth Regulation 4:111-122.

Inze, D. and Montagu, M. V. (2000) Oxidative stress in plants. Cornavall Great Britain.

Khoshsokhan, F., Babalar, M., Chaghazardi, H. R. and Fatahi moghadam, M. R. (2012) Effect of salinity and drought stress on Germination indices of two thymus species. Cercetări Agronomice în Moldova 149:27-35.

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.

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

Lowry, O. H., Roscberough, N. J., Farr, A. L. and Randal, R. J. (1951) Protein mesurment with the folin-phenol reagent. Biology Chemistery Journal 193: 265-275.

Matta, M., Tominago, S. and Kozaki, I. (1998) Relative effects of growth retardant (paclobutrazol) and water stress on tree growth and photosynthesis in ponkan (*Citrus reticulate* Blanco). Japanese Socity Horticultural Science 67: 28-34.

Misra, A. N., Murmu, B., Singh, P. and Misra, M. (1996) Growth and proline accumulation mung bean seedlings as affected by sodium chloride. Plant Biology 38: 531-536.

Moradshahi, A. B., Eskandari, S. and Choldebani, B. (2004) Some physiological response of canola (*Brassica rapus* L.) to water deficit stress under laboratory condition. Iranian Journal Science and Technology 28: 43-50.

Newton, R. J., Sen, S. and Puryean, J. D. (1986) Free proline changes in *Pinus taeda* L. callus in response to drought stress. Tree Physiology 1: 325-332.

Nishizawa, T. (1993) The effect of paclobutrazol on growth and yield during first year greenhouse strawberry production. Scientia Hortculturae 54: 267-274.

Archive of SID

www.SID.ir

Tatar, O. and Gevrek, M. N. (2008) Influence of water on proline accumulation, lipid peroxidation and water content of wheat. Asian Journal of Plant Sciences 34: 1-4.

Wiesman, Z. and Riov, J. (1994) Interaction of paclobutrazol and indole-3-butyric acid in relation to rooting of mung bean (Vigna radiata) cuttings. Physiolgia Plantarum 92: 608–612.

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

Zhang, J., Jia, W. and Zhang., D. P. (1997) Reexport and metabolism of xylem-delivered ABA in attached maize leaves under different transpirational fluxes and xylem ABA concentration. Journal of Experimental Botany 48:1557-1564.

Archive of SID

www.SID.ir