اثر نوعی براسینواستروئید(24-epibrassinolide) بر مقدار تجمع مالون دآلدئید، پرولین، قند و رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش کم آبی

عفت السادات احمدی موسوی[1]، خسرو منوچهری کلانتری[1و2] و مسعود ترکزاده[2]

[1] دانشگاه شهید باهنر کرمان- دانشکده علوم- بخش زیست شناسی

[2] مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی(ICST)

چکیده

براسینواستروئیدها گروهی از هورمونهای گیاهی هستند که اثرات زیستی قابل توجهی روی رشد و نمو گیاهان دارند، از جمله باعث افزایش مقاومت گیاهان به تنشهای محیطی می شوند.در بخش حاضر اثر نوعی براسینواستروئید(24-epibrassinolide) روی پراکسیداسیون لیپید، مقدار پرولین و قندهای احیا کننده، کلروفیل a و b و کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهان کلزا (*Brassica napus* L. cv. Fusia)تحت تنش کم آبی مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان مورد نظر در گلدانهای حاوی شن، رس و خاک برگ (به نسبت ۱:۱:۱) کاشته شده و برگهای گیاهان یک، دو و سه هفته بعد از جوانه زنی با محلول 10^{-7} مولار از ۲٤- اپی براسینولید که حاوی توین- ۲۰ (Tween-20 ۰/۱ درصد) بود، محلول پاشی شد. گیاهان شاهد با آب دو بار تقطیر حاوی توین-۲۰ (۰/۰۱ درصد) تیمار گردیدند. یک ماه بعد از جوانه زنی برداشت انجام گرفت. مقدار افزایش پراکسیداسیون لیپید تحت تنش کم آبی در تیمار با ۲٤- اپی براسینولید کاهش معنی داری داشت که نشان دهندهٔ کاهش مقدار خسارت اکسیداتیو در این گروه می باشد. مقدار پرولین و کاروتنوئیدها در تیماربا ۲٤- اپی براسینولید بطور معنی داری افزایش یافت که بیشتر از شرایط شاهد (بدون ۲٤- اپی براسینولید) یا تیمار کم آبی بود. مقدار کلروفیل a و b در طی تنش کم آبی کاسته شد ولی افزایش قابل توجهی در کلروفیل a و b در گیاهان تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید مشاهده شد. افزایش در مقدار قند تحت تنش کم آبی، در گیاهان تیمار شده با ۲٤- اپی براسینولید کمتر قابل توجه بود. حاصل آنکه تیمار گیاهان با ۲٤- اپی براسینولید خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش کم آبی را کاهش داد.

واژه های کلیدی: ۲٤- اپی براسینولید ، تنش کم آبی، خسارت اکسیداتیو، *Brassica napus*

مقدمه

گیاهان در اغلب مناطق خشک جهان کم و بیش با تنش رطوبتی مواجه هستند. البته در شرایط آب و هوای مرطوب نیز توزیع نامنظم بارندگی، منجر به محدود شدن آب قابل دسترس و در نتیجه کاهش رشد می شود. همچنین تنشهایی مانند تنش شوری، سرمازدگی و انجماد، همراه با از دست رفتن آب بافت، منجر به تنش کم آبی در گیاهان می شود (۳). کمبود آب با از بین رفتن آماس سلولها، باعث مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد برگ، کاهش فتوسنتز، بسته شدن روزنه ها، تغییر در متابولیسم، خشک شدن و مرگ گیاه می گردد(۲).

رشد سلول حساسترین فرآیند گیاه تحت تنش کم آبی است. به این علت فشار تورگر بعنوان نیروی فیزیولوژیکی برای توسعه سلول است. زمانیکه پتانسیل آب کم می شود تورگر به سرعت کاهش می یابد و کاهش در تورگر علت کاهش رشد و بسته شدن روزنه ها و کاهش فتوسنتز می باشد (۱۳).

تنظیم اسمزی با ذخیره املاح محلول توسط سلول، می تواند پتانسیل آب سلول را کاهش داده و موجب ایجاد محیطی سازگار برای ماکرومولکولهای سلول بویژه

Archive of SID

www.SID.ir

پروتئینها گردد(۳). برای تحمل دوره های تنش کم آبی در محیط، ساز و کارهای مقاومت و تحمل در گیاهان توسعه یافته است. یکی از راههای مقابله و تطابق، استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی است. افزایش مقاومت به تنش در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئیدها مشاهده می شود(۱۲و ۱٤).

اولین بار براسینواستروئیدها از دانه گرده گیاه Rape (*Brassica napus*) بوسیله Grove و همکاران (۱۹۷۹) استخراج و بعنوان ششمین گروه از تنظیم کننده های رشد گیاهی در نظر گرفته شد (۸, ۱٤ و ۱۸). براسینواستروئیدها تقریباً در تمام قسمتهای گیاه یافت می شوند و بیشترین مقدار آنها در اندامهای زایشی (دانه گرده و بذرهای نارس) مشاهده شده است (۱۰). این ترکیبات موجب تحریک رشد و تقسیم سلولی می شود (۷ و ۲۳) و بر خصوصیات الکتریکی، نفوذپذیری، ساختمان، پایداری و فعالیت آنزیمهای غشاء اثر می گذارند (۱٤) . همچنین در سطح مولکولی براسینواستروئیدها باعث تغییر بیان ژن و تغییر متابولیسم و بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئینها می گردند (۷).

امروزه ساختمان و عملکرد ۵۹ براسینواستروئید (٥٤ عدد بصورت آزاد و ۵ عدد بصورت هم یوغ با اسیدهای چرب و قندها) از گیاهان مختلف استخراج و شناسایی شده است (۱٤). براسینواستروئیدها باعث افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی می شوند (۷ ، ۱۲، ۱٤ و ۱۸). از جمله گزارش شده است که براسینواستروئیدها کاهش می دهند خسارت ناشی از تنش سرما ، دمای زیاد، فلزات سنگین (۱٤)، شوری (۱۸) و کم آبی (۱۲) شده اند.

کم آبی باعث تنش اکسیداتیو شده و این تنش در اعمال فیزیولوژیکی سلول اختلال ایجاد می کند . این تنش بعلت تولید انواع گونه های فعال اکسیژن در محیط سلول، مانند آنیون سوپراکسید $O_2^{\cdot}$، پراکسید هیدروژن H_2O_2 و رادیکالهای هیدروکسیل $OH^{\cdot}$ ، منجر به خسارت اکسیداتیو درگیاهان می شود. برای خاموش نمودن این گونه های سمی نیاز به سیستم آنتی اکسیدان خیلی مؤثر (سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی) در سلولهای گیاهی است (۵ و ٦). در شرایط تنش فرآیندهای مخرب غشاء فعال شده و منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می شوند، براسینواستروئیدها مقدار تجمع مالون دآلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کاهش می دهند. براسینواستروئیدها روی ترکیب اسیدهای چرب و نفوذپذیری غشاء اثر گذاشته و روی تجمع مواد محلول اثر مثبت دارند (۱٤).

در پژوهش حاضر برای روشن شدن تأثیر براسینواستروئیدها روی فرآیندهای سلولی افزایش دهنده مقاومت به تنش کم آبی، براسینواستروئیدِ ۲٤- اپی براسینولید بصورت برون زا روی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی استفاده شد و برای مشخص شدن نقش حفاظتی آنها در شرایط تنش کم آبی، پارامترهایی مانند مقدار مالون دآلدئید، رنگیزه های فتوسنتزی، پرولین و قند مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روشها

در این تحقیق از گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) استفاده شد. بذرهای این گیاه از مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان تهیه گردید.

کشت و تیمار گیاه: پس از جدا کردن بذرهای یکسان از نظر اندازه، این بذرها با سدیم هیپوکلریت ۰/۱ درصد ضد عفونی گردید و پس از شستشو با آب مقطر به گلدانهای حاوی ماسه، رس و خاک برگ منتقل شد. برای هر تیمار ٤ گلدان بعنوان ٤ تکرار در نظر گرفته و در هر گلدان ٤ بذر کاشته شد.

گلدانها پس ازکشت در اتاق رشد تحت شرایط دوره متناوب نوری ۱٦/۸ ساعت (تاریکی/ نور) با شدت نور ۱٤ کیلو لوکس، رطوبت ۷۵ درصد ودمای ۲±۲/۲۳±۱٦

Archive of SID
www.SID.ir

درجه سانتیگراد (نور/ تاریکی) نگهداری شد. برگ گیاهان تحت تیمار بفاصله یک، دو و سه هفته بعد از جوانه زنی با غلظت 10^{-7} مولار محلول حاوی توییـن-۲۰ ، ۲٤- اپی براسینولید و گیاهان شاهد با آب دو بار تقطیر توییـن-۲۰ (۰/۰۱ درصد) محلول پاشی شدند.

توییـن-۲۰ بعنوان یک روکنشگر(surfactant) برای افزایش جذب سطحی ۲٤- اپی براسینولید استفاده شد. قبل از شروع تیمار کم آبی، همه گیاهان بطور منظم در حد ظرفیت مزرعه ای آبیاری شدند. ۲٦ روز بعد از جوانه زنی تنش کم آبی اعمال شد.

برای سنجش مقدار رطوبت (درصد)، ٤ نمونه خاک از هرکدام از تیمارها با چوب پنبه سوراخ کن برداشته و برای اندازه گیری وزن تر(WW) خاک توزین شدند. نمونه های خاک در گرمخانه در دمای۷۰ درجه سانتیگراد بمدت ٤۸ ساعت قرار داده شدند و پس از سرد شدن برای بدست آوردن وزن خشک خاک (DW) مجدداً توزین شدند.

مقدار رطوبت خاک طبق فرمول زیر محاسبه گردید(۲۱).

Water content(%)=WW-DW/DW×100

تیمارهای مورد استفاده عبارت بودند از:

۱. **شاهد:** که با توییـن-۲۰ (۰/۰۱ درصد) محلول پاشی شد (مقدار رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه ای بود).

۲. WS1: که با توییـن-۲۰ (۰/۰۱ درصد) محلول پاشی شد و بمدت ۳ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفت (۲۵درصد ظرفیت مزرعه ای).

۳. WS2: که با توییـن-۲۰ (۰/۰۱ درصد) محلول پاشی شد و مدت ٤ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفت (۱۵درصد ظرفیت مزرعه ای).

٤. Bs: که با ۲٤- اپی براسینولید با غلظت 10^{-7} مولار محلول پاشی شد (ظرفیت مزرعه ای).

۵. WS1+Bs: که با ۲٤- اپی براسینولید با غلظت 10^{-7} مولار محلول پاشی شد و مدت ۳ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفت (۲۵درصد ظرفیت مزرعه ای).

٦. WS2+Bs: که با ۲٤- اپی براسینولید با غلظت 10^{-7} مولار محلول پاشی شد و مدت ٤ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفت (۱۵درصد ظرفیت مزرعه ای).

یک ماه بعد از جوانه زنی، سنجش کلروفیل، پرولین، قند و بررسی پراکسیداسیون لیپید از نمونه های گیاهی انجام شد.

اندازه گیری مقدار کلروفیل وکاروتنوئیدها: بر اساس این روش ۰/۲ گرم بافت تازه برگی را با ۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد بخوبی سائیده سپس محلول حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید ، ۵ میلی لیتر استن دیگر به آن اضافه ، حجم محلول را به ۱۵ میلی لیتر رسانده و شدت جذب آن در طول موجهای۶۶۳/۲, ٦٦٤/۸ و٤۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومترUV visible مدل S2100 Diod Array خوانده شد. غلظت رنگیزه های کلروفیل a و b و کارتنوئیدها با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید.

$Chl.a(mg.ml^{-1})=12.5\ A_{663.2}-2.79\ A_{646.8}$

$Chl.b(mg.\ ml^{-1})=21.51\ A_{646.8}-5.1\ A_{663.2}$

$Chl.Total(mg.\ ml^{-1})= Chl.a + Chl.b$

$Car(mg.ml^{-1})=(1000A_{470}-1.8ch_a-85.02\ ch_b)/19$

نتایج بدست آمده بر اساس وزن خشک محاسبه و ارائه شد.

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دآلدئید ایجاد شده با تیوباربیتوریک اسید (TBA) سنجش شد. غلظت مالوندآلدئید با استفاده از روش Packer & Heath (۲۲) در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده ازاسپکتروفتومتر صورت گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

جذب سایر رنگیزه های غیر اختصاصی در طول موج ٦۰۰ نانومتر تعیین و از این مقادیر کسر شد. برای محاسبه غلظت مالوندآلدئید از فرمول $A= \varepsilon bc$ با ضریب خاموشی(ε) معادل ۱۵۵ mM استفاده گردید. نتایج بدست آمده بر اساس وزن خشک محاسبه و ارائه شد.

اندازه گیری مقدار پرولین: ۰/۰۱ گرم بافت تر برگ را در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک سائیده، و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. مخلوط حاصل بمدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و از معرف نین هیدرین طبق روش Bates و همکاران (۱۷) استفاده شد. جذب فاز رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین است در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب mM/gDW تعیین گردید.

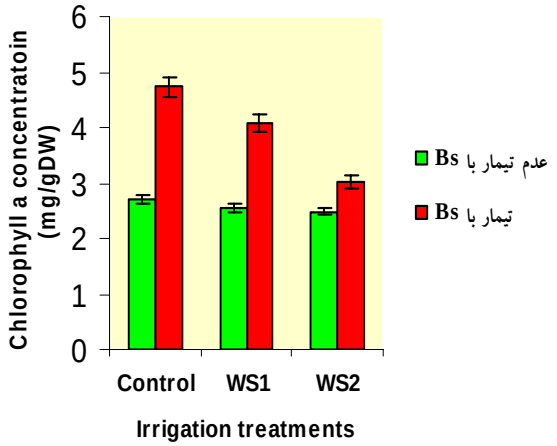
اندازه گیری مقدار قندهای احیا کننده: ۰/۰۱ گرم بافت خشک برگ را با ۱۵ میلی لیتر آب مقطر سائیده ، سپس مقدار قندهای احیا کننده در برگها مطابق روش سوموگی- نلسون اندازه گیری (٦) شد. شدت جذب محلولها در طول موج ٦۰۰ نانومتر تعیین شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاکننده بر حسب mg/lit محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: همه تجزیه و تحلیلهای آماری طبق طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. برای ارزیابی اثر دو تیمار روی صفت اندازه گیری شده همه داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و Excel تحت آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA) قرار گرفت و اختلاف میانگینها با روش LSD ($P_{Value} \leq 0.05$) مقایسه شد.

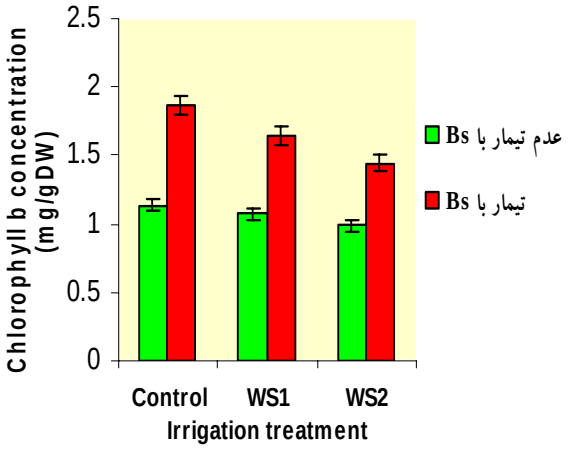
نتایج

مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها: تنش کم آبی در گیاه کلزا باعث کاهش معنی دار مقدار کلروفیل a و b در مقایسه با شاهد شد ، بنابراین برمقدار کلروفیل کل برگ نیز تأثیر گذاشت (نمودار ۱، ۲ و۳). کاربرد محلول ۲٤- اپی براسینولید با غلظت 10^{-7} مولار علت افزایش معنی دار مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل کل در مقایسه با شاهد (بدون تیمار ۲٤- اپی براسینولید) بود.

تیمار گیاهانی که تحت تنش کم آبی بوده اند با ۲٤- اپی براسینولید باعث افزایش معنی دار مقدار کلروفیل نسبت به گیاه تحت تنش کم آبی نیز گردید (نمودار ۱، ۲ و۳) .

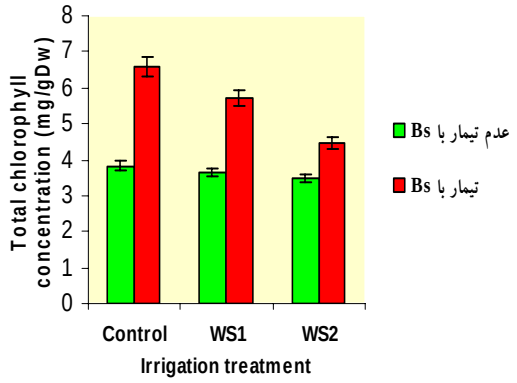


نمودار ۱: تغییرات مقدار کلروفیل a (mg/gDW) در تیمارهای مختلف آب (باBS و بدون BS) Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آبی



نمودار ۲: تغییرات مقدار کلروفیل b (mg/gDW) در تیمارهای مختلف آب (باBS و بدون BS) (Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آبی

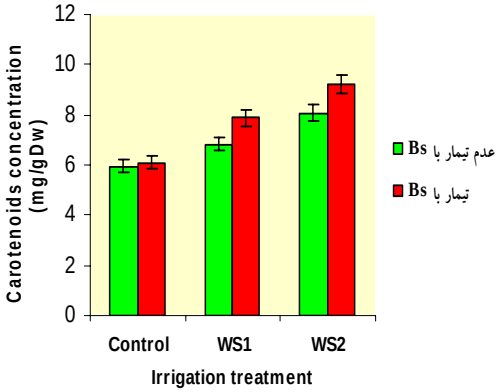
Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۳: تغییرات مقدار کلروفیل کل (mg/gDW) در تیمارهای مختلف آب (باBS و بدون BS) Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آبی

مقدار کاروتنوئیدها در تنش کم آبی افزایش معنی داری داشت و تیمار ٢٤- اپی براسینولید سبب افزایش معنی دار مقدار کاروتنوئیدها در مقایسه با گیاهان بدون تیمارگردید.

کاربرد ٢٤- اپی براسینولید در تیمار کم آبی باعث افزایش معنی دار مقدار کاروتنوئیدها در طی تنش کم آبی در مقایسه با گیاهان تحت تیمار تنش کم آبی و بدون کاربرد این ترکیب شد. بیشترین مقدارکاروتنوئیدها در گیاهانی یافت شد که ٤ روز تحت تیمار کم آبی قرار داشتند (نمودار ٤).



نمودار ٤: تغییرات مقدار کاروتنوئیدها (mg/gDW) در تیمارهای مختلف آب (باBS و بدون BS) Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آبی

مقدار پرولین: نتایج حاصل از سنجش پرولین نشان داد که تنش کم آبی باعث افزایش معنی دار مقدار پرولین شده است و بیشترین مقدار آن در گیاهانی مشاهده شد که چهار روز تحت تیمار کم آبی قرار داشتند که تقریبا ۱۲ برابر شاهد بود. تیمار با٢٤- اپی براسینولید سبب افزایش معنی دار پرولین در مقایسه با گیاهان شاهد شد.

بنابراین٢٤- اپی براسینولید تأثیری مثبت در افزایش مقدار پرولین برگ در تیمارهای کم آبی همراه با ٢٤- اپی براسینولید نسبت به تیمار کم آبی فاقد ٢٤- اپی براسینولید داشته است.

این اختلاف در مقدار پرولین نشان دهنده تأثیر مثبت ٢٤- اپی براسینولید در مقابله با تنش کم آبی می باشد (نمودار ٥).

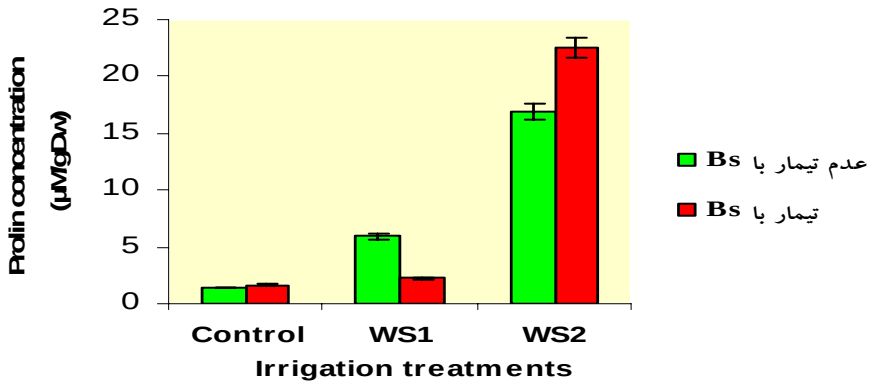
مقدار پراکسیداسیون لیپید: مالون دآلدئید شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شده است. در این آزمایش مقدار مالون دآلدئید تحت تنش کم آبی، افزایش معنی داری یافت و بیشترین مقدار در گیاهانی مشاهده شد که چهار روز تحت تیمار کم آبی قرار داشتند، که حدوداً ۳۷ درصد بیشتر از شاهد بود.

کاربرد ٢٤- اپی براسینولید باعث کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه کاهش معنی دار مقدار مالون دآلدئید در گیاهان تحت تیمار کم آبی در مقایسه با همان تیمار بدون ٢٤- اپی براسینولید شد. که نشان می دهد خسارت اکسیداتیو به مقدار کمتری در گیاهان تیمار شده با ٢٤- اپی براسینولید رخ داده است (نمودار ٦).

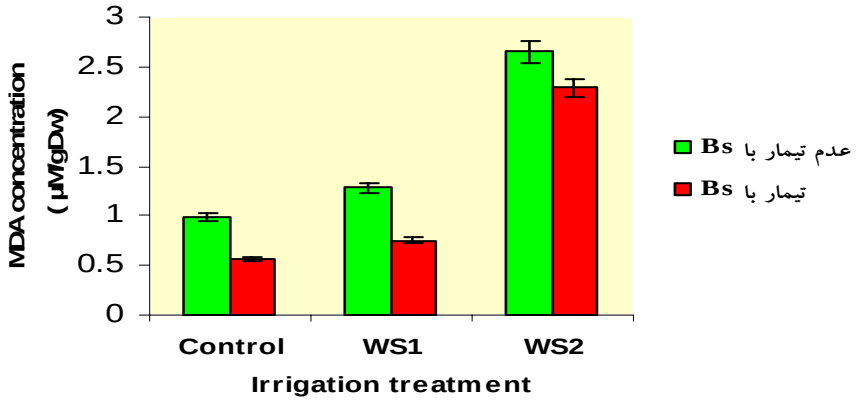
مقدار قند: نتایج حاصل از اندازه گیری قند نشان داد که قندهای احیاکننده در گیاهان تحت تنش کم آبی افزایش معنی داری نسبت به گیاهان شاهد دارد و بیشترین مقدار در گیاهانی با ٤ روز تیمار کم آبی است که حدوداً ۹۲ درصد بیشتر ازگیاهان شاهد می باشد. هنگامی که تنش کم آبی همراه با تیمار ٢٤- اپی براسینولید باشد ، کاهش

Archive of SID
www.SID.ir

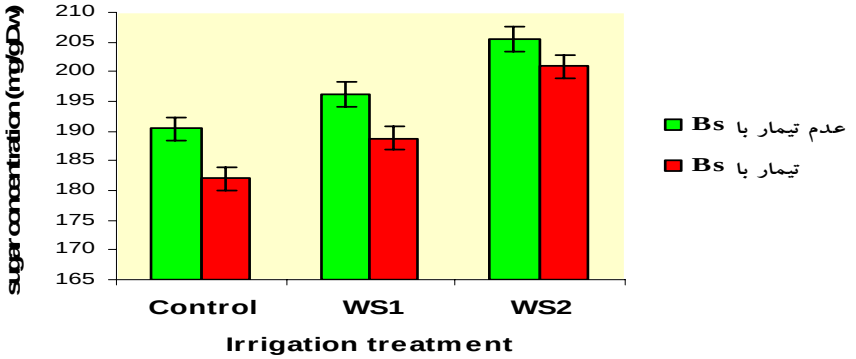
معنی داری در غلظت قند مشاهده می گردد. بطور کلی مقدار قند در گیاهان تیمار شده با ۲٤- اپی براسینولید (شاهد و تنشهای کم آبی) کاهش معنی داری نسبت به گیاهان بدون تیمار شده با ۲٤- اپی براسینولید (شاهد و تنشهای کم آبی) نشان می دهد (نمودار ۷).



نمودار۵: تغییرات مقدار پرولین (µM/gDW) در تیمارهای مختلف آب (با BS و بدون BS) Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آبی



نمودار ٦: تغییرات مقدار مالون دآلدئید (µM/gDW) در تیمارهای مختلف آب (با BS و بدون BS) Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آبی



نمودار ۷: تغییرات مقدار قند (mg/gDW) در تیمارهای مختلف آب (با BS و بدون BS) Control: شاهد WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی WS2: تحت ٤ روز کم آب

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

براسینواستروئیدها برفرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی گیاهان اثر گذاشته، سبب افزایش رشد (بعلت تحریک تقسیم و رشد سلولها) (۱۰) و خصوصیات الکتریکی، نفوذپذیری، ساختمان، پایداری و فعالیت آنزیمهای غشاء نیز اثر می گذارد. همچنین برمتابولیسم پروتئینها و بیان ژنها اثر دارند (١٤).

گزارشاتی وجود دارد که براسینواستروئیدها می توانند در مقابله با اثرات تنش به گیاهان کمک کنند و باعث افزایش مقاومت آنها نسبت به تنش شوند(١٤). تنش کم آبی بعلت کاهش مقدار آب بافت گیاهی روی پتانسیل آب برگ، رشد و فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم ازت و خصوصیات غشاء اثر دارد (۳).

علاوه بر این کمبود آب تنش اکسیداتیو ایجاد می کند که این تنش باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می شود. تنش ثانویه مذکور بدلیل تولید رادیکالهای آزاد اکسیژنی است که در محیط سلول ایجاد می گردد(١٦ و٢٤). رادیکالهای آزاد در درون سلول باعث آسیب رساندن به لیپیدها و اسیدهای چرب غشایی شده و رادیکالهای لیپید و پراکسی و هیدرو پراکسی تولید می کند رادیکالهای جدید تولید شده می توانند واکنشهای اکسیداسیون لیپیدها را تسریع کنند، مالون دآلدئید بعنوان شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپید غشاء، محسوب می شود(٢٤).

برای خنثی کردن اثر سمی گونه های اکسیژن فعال یک سیستم آنتی اکسیدان خیلی مؤثر مورد نیاز است که در سلولهای گیاهی دو سیستم غیر آنزیمی و آنزیمی این نقش را بر عهده دارند (١٦ و ٢٤). که بسیاری از گیاهان وقتی در محیط خشک قرار می گیرند آسیبهای جدی به آنها وارد شده و برمقدار مالون دآلدئید آنها افزوده می شود (۱۱ و ۲۱).

ایجاد تنش اکسیداتیو در سلولها می تواند در حضور براسینواستروئید تعدیل شود. در نتیجه مقاومت سلول به این تنش بیشتر می شود. در تحقیق حاضر مشاهده شد که مقدار پراکسیداسیون لیپید القا شده بوسیله تنش کم آبی در گیاه کلزا تیمار شده با ٢٤- اپی براسینولید نسبت به گیاه شاهد بطور معنی داری کاهش یافته است (نمودار ٦). کاهش تجمع مالون دآلدئید در تیمار ٢٤- اپی براسینولید توأم با تنش کم آبی احتمالاً نشان دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپید و سالم ماندن بیشتر غشاء تحت کم آبی می باشد. گزارشی نیز مبنی بر کاهش مالون دآلدئید بدلیل حفظ لیپیدهای غشاء از خسارت القا شده بوسیله رادیکالهای آزاد اکسیژن وجود دارد (۱۸). بنابراین گیاه کلزا تیمار شده با ٢٤- اپی براسینولید وقتی در معرض کم آبی قرار گیرد نسبت به همان گروه از گیاهان بدون تیمار بطور مؤثرتری رادیکالهای آزاد اکسیژن را از بین می برد. بنابراین مقدار خسارت سلول با استفاده از تیمار ٢٤- اپی براسینولید کاهش می یابد. گزارش مشابهی با نتایج حاصل از این تحقیق، در مورد گیاه برنج ، تحت تنش شوری بدست آمده است (۱۸).

همانطور که بیان شد برای خنثی کردن اثر سمی گونه های اکسیژن فعال ایجاد شده در تنش کم آبی، یک سیستم آنتی اکسیدان با کارائی بالا نیاز است. بخوبی مشخص شده است که کاروتنوئیدها می توانند سیستم جمع کننده نور دستگاه فتوسنتزی را از گزند مولکولهای اکسیژن یکتایی حفاظت نمایند. همچنین کاروتنوئیدها می توانند مستقیماً اکسیژن یکتایی را خاموش و غیر فعال کنند و یا بوسیله اکسیژن یکتایی اکسید شوند. همچنین می توانند حالت برانگیخته سه تایی حساسگر نوری کلروفیل را خاموش کنند. بنابراین بطورغیر مستقیم تولید گونه های اکسیژن را کاهش می دهند. همچنین کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می شود باعث مصرف اکسیژن

Archive of SID
www.SID.ir

و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می شوند(۲). بنابراین با توجه به نقش حفاظتی کارونتوئید ها نتایج تحقیق حاضر که افزایش معنی دار مقدار کاروتنوئیدها در طی تنش کم آبی و افزایش بیشتر آن طی استفاده از ٢٤- اپی براسینولید توأم با تیمار کم آبی می باشد قابل توجیه است (نمودار شماره ٤). بدین ترتیب گیاه کلزا برای کاهش خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو، مقدار کاروتنوئیدها را افزایش داده تا بتواند تنش کم آبی را بهتر تحمل نماید.

گیاهان تا زمانی می توانند آب را جذب کنند که پتانسیل آب آنها پایینتر از محیط باشد. معمولاً قسمت عمده تنظیم اسمزی می تواند از طریق افزایش غلظت انواع مواد محلول رایج از جمله قندها، اسیدهای آلی، یونها (بخصوص پتاسیم) تداوم یابد. آنزیمهای سیتوسل در غلظتهای بالای یونها، شدیداً ممانعت می شوند و بهمین دلیل یونها عمدتاً درون واکوئلها ، که در آنجا با آنزیمهای سیتوسل یا اندامکهای بین سلولی در تماس نیستند تجمع می یابند. بخاطر این نحوه تخصیص، محلولهای سازگار که با اعمال آنزیمها تداخل ندارند برای حفظ تعادل پتانسیل آب داخل سلول در سیتوپلاسم تجمع می یابند. این نوع مواد مانند گلیسین بتائین، پرولین و پلی اُلها موجب ایجاد محیطی سازگار برای ماکرومولکولهای سلول (بویژه پروتئینها) می شوند(۳).

تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به کم آبی در تنشهای کم آبی و شوری ایجاد شده در گیاهان دارد(۲۱) که ما نیز به همین نتیجه دست یافتیم و نمودار ۵ افزایش معنی دار مقدار پرولین در گیاهان تحت تنش کم آبی را نشان می دهد (نمودار ۵). گزارش مشابهی نیز در مورد تنش کم آبی روی گیاهان گندم، ذرت و برنج وجود دارد و مشخص شده است که تجمع پرولین در سیتوپلاسم مانند یک اسموتیکوم در حفاظت ساختمان ماکرومولکولها در محیطی که تعادل یونی آن بهم خورده عمل می کند(۱۷ و ۱۹) .بنظر می رسد کاربرد ٢٤- اپی براسینولید در این تحقیق نیز باعث افزایش سازگاری اسمزی در طی تنش شده باشد، چون افزایش پرولین در برگ گیاه کلزا مشاهده شد (نمودار ۵).

افزایش پرولین منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء در گیاهان می شود بدین ترتیب با روش تنظیم اسمزی تحمل به تنش کم آبی افزایش می یابد (۱۹). تجمع قندهای محلول داخل سلولها در تنظیم اسمزی نقش مهم ایفا نموده و کمک می کند تا پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ تورگر تحت تنش کم آبی داخل سلول باقی بماند(۲۲).

در این تحقیق نیز در شرایطی که گیاه کلزا تحت تنش کم آبی قرار داشت مقدار قند افزایش قابل توجه ای نشان داد. این نتایج با سایر گزارشات دیگر در مورد گیاهان کلم، حسن یوسف، ارکیده مطابقت دارد (۹، ۲۰ و ۲۲). مقدار گلوکز و فروکتوز (قندهای احیا کننده) در ساقه های گیاه افزایش و مقدار نشاسته کاهش یافته است(۲۲).

نشاسته از کربوهیدراتهای اصلی در ساقه گیاهان کلم است و در تنش کم آبی مقدار آن کاهش نشان می دهد. این پدیده احتمالاً یک پاسخ فیزیولوژیکی به تنش کم آبی می باشد. تنفس و رشد گیاه باعث استفاده نشاسته در طی تنش کم آبی و در نتیجه موجب کاهش مقدار ذخیره کربوهیدرات در طی تنش می شود. همچنین مقدار قندهای محلول در ساقه ها و ریشه های گیاهان تحت تنش افزایش می یابد. بنابراین کاهش نشاسته در ساقه ها احتمالاً با تجمع قندهای محلول ارتباط دارد . تجمع قندهای محلول در گونه های دیگرگیاهی نیز مشاهده شده است. در برگهای اسفناج تنش کم آبی موجب افزایش تجزیه نشاسته و تجمع قندهای محلول می شود. بنابراین هنگامیکه پتانسیل آب برگ کاهش می یابد، تجمع قندها احتمالاً در تنظیم اسمزی نقش اصلی ایفا می نمایند. همچنین گزارش شده است که در گیاهانی که به تنش کم

Archive of SID
www.SID.ir

آبی خو گرفته اند، تجمع قند ممکن است باعث افزایش میزان فتوسنتز شود(۲۲). علاوه بر این تجمع کربوهیدراتها در حفظ غشاهای سلولی نیز نمی تواند بی تأثیر باشد(٤).

با توجه به نتایج بدست آمده با تیمار ۲٤- اپی براسینولید توأم با تنش کم آبی مقدار تجمع قندهای احیا کننده کاهش نشان می دهد (نمودار ۷). بنظر می رسد که ۲٤- اپی براسینولید احتمالا یک نقش حفاظتی برای گیاهان کلزا داشته که مانع می شود در تنش کم آبی شرایط سخت برای گیاه ایجاد گردد. بنابراین نیاز به تجمع قند در گروه تیمار شده با ۲٤- اپی براسینولید وجود ندارد (نمودار ۷). در نتیجه تیمار ۲٤- اپی براسینولید حداقل باعث بهبود مقاومت گیاهان تحت تنش کم آبی می گردد.

تنش کم آبی موجب تخریب رنگدانه های فتوسنتزی، کاهش مقدار کلروفیل برگ و تخریب تشکیلات فتوسنتزی می گردد (۱۱، ۱۵ و ۱٦). احتمالاً کاهش معنی دار مقدار کلروفیل مشاهده شده در این تحقیق بدلیل کاهش فاکتورهای لازم جهت سنتز کلروفیل و تخریب ساختمان آن می باشد. بدین معنی که کاتابولیسم کلروفیل در شرایط کم آبی افزایش می یابد.گزارشهای مشابهی مبنی بر کاهش کلروفیل در تنش کم آبی در گیاهان زیتون، گندم و بادمجان وجود دارد (۱۵، ۱٦ و ۲٤). که علت عمده آن علاوه بر موارد ذکر شده می تواند بدلیل پیری زود رس برگها در اثر اختلال هورمونی ناشی از تنش کم آبی باشد (۳).

در مجموع براسینواستروئیدها با اثراتی که در تجمع مواد محلول، تنظیم اسمزی و افزایش کاروتنوئیدها بر جای گذاشته اند، باعث حفظ تورم و حجم سیتوزولی شده، ساختمان ماکرومولکولها و غشاهای سلولی را محافظت می نمایند، در نتیجه مانع قرار گرفتن گیاهان در شرایط سخت ایجاد شده بوسیله تنش می شوند، بنابراین نقش حفاظتی برای آنها ایفا می نمایند.

بطور کلی این تحقیق نشان می دهد که ۲٤- اپی براسینولید می تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش کم آبی افزایش دهد. تأیید کاربرد احتمالی این ماده در کشاورزی نیازمند تحقیق بیشتر است

سپاسگزاری: از جناب آقای دکتر محمد میرزایی ریاست محترم مرکز علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی بخاطر اجازه استفاده از امکانات آزمایشگاهی آن مرکز به مؤلف این مقاله تشکر و قدردانی می شود.

منابع

۱- ابراهیم زاده، حسن (۱۳۷۹). فیزیولوژی گیاهی٤ (فتوسنتز)، انتشارات دانشگاه تهران، ٦۹۰ صفحه.

۲- علیزاده، امین (کرامر، پال جی ۱۳۷٤). رابطه آب خاک و گیاه. نشر مشهد، ۷٤٤ صفحه.

۳- کافی، محمد (تایز و زایگر ۱۳۷٤). فیزیولوژی گیاهی(جلد دوم)، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۳۸۰ صفحه.

٤- کافی، محمد (بسرا، آ و بسرا، ر ۱۳۷۹) مکانیسمهای مقاومت به تنشهای محیطی در گیاهان. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۳۹۰ صفحه.

۵- مظفری، حسین (۱۳۸۳) بررسی نقش کلسیم در مقاومت گیاه خاکشیر *Descurainia sophia* به تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید باهنر کرمان.

٦- نصیبی، فاطمه (۱۳۸۲). اثر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر برخی از پارامترهای رشد و القا تنش اکسیداتیو در گیاه کلزا*Brassica napus* . پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید باهنر کرمان.

Archive of SID
www.SID.ir

7- Bajgaz, A ., (2000). Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of Chorella vulgaris. *Plant Physiology and Biochemistery*. 38: .209-215.

8- Bajgaz, A., Tretyn, A., (2003). The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*. 62:1027-104.

9- Cesare Stancato, G., Mazzafera, P., Silveria Buckeridge, M., (2001). Effect of a drought period on the mobilization of non-structural carbohydrates, photosynthetic efficiency and water status in an epiphytic orchid. *Plant Physiology and Biochemistry*. 39:1009-1016.

10- Clous, Steven D., Sasse, M., (1998). Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth & Development. *Annual reviews.* 49: 427-451.

11- Grmaetxe, I., Escurede, P. R., Arrese-Igor, C., (1998). Oxidative Damage in Pea plants Exposed to water Deficit or Paraquat. *Plant Physiology*. 116:173-181.

12- Jaisingh., Nakamura, S., Ota, Y.,(1993). Effect of epi-brassinolide on gram (*Cicer arientinum*) plants grow under water stress in juvenile stage. *Indian Journal of Agriculture Science.* 63:394-397.

13- Kalantari, Kh.M., (1989). Studies on the role of ethylene in water-stressed tomato plants, *Ph.D thesis*, University College of Wales Abery Stwyth,U.K.

14- Khripach, V.aA., Zhabinskii, V.N., Groot A.E., (1998).Brassinosteroids:A New Class of Plant Hormones. *Acadamic press*. United States of America. 460 pages.

15- Kirnak, H., Kaya, C., TAS, I., Higgs, D., (2001). The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg plants. *Plant Physiology*. 27:34-46.

16- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E., Navari –Izzo, F., (1999). Antioxidative defense system pigment composition and photosynthetic effiency in two wheat cultivars subjected to Drought. *Plant Physiology*. 119:1091-1100.

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

18- Ozdamir. F., Bor, M., Demiral, T., Turkan, I.,(2004). Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, prolin content and antioxidative system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. *Plant growth Regulation*. 42: .203-211.

19- Pandey, R., Agarwal, R.M.,(1998). Water stress-induced change in proline contents and nitrat reductase Activity in Rice under light and Dark condition. *Physiology and Moecular Biology of Plants.*, 4:53-57.

20- Pattangul, W., Madore, M.A., (1999). Water Deficit on Raffinose Family oligosaccharide
Metabolism in Coleus. *Plant Physiology*. 121:987-993.

21- Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., Fujita, K.,(2004). Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in Agrostis palustris Huds. *Environmental and Experimental Botany*.52:131-138.

Archive of SID

www.SID.ir

22- .Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., Tokuda, S., (2004). Physiologycal responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temprature storage in darkness. *Science Horticulturae*. 101:349-357.

23- Schaller, H., (2003). The role of sterols in plant growth and development. *Progrss in Lipid research.* 42:163-175.

24- Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., Masia,A., (2004). Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. *Plant Science* . 166:293-30

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of 24-epibrassinolide on lipid peroxidation , prolin, sugar and photosynthesis pigments content of colza(*Brassica napus* L.) under water stress

Ahmadi Mousavi E.[1] , M. Kalantari Kh.[1,2,] Torkzadeh M.[2]

[1]**Shahid bahonar university of kerman-Faculty of Science-Department of biology**

[2]**International center for science,High technology and Environmental Science, Kerman**

Abstract

Brassinosteroids are a new class of plant hormones with unique biological effects on plant growth and development. Brassinosteroids also can increase plant tolerance for water stress. The effects of 24-epibrasinolide on lipid peroxidation and content of proline, soluble sugars, chlorophyll and carotenoids were investigated in Colza (*Brassica napus* L. cv. Fusia) plant under water stress. The seeds were sown in plastic pots containing sand, clay and peat (in proportion of 1:1:1). Solution of 24-epi-brassinolid at 10^{-7} M concentration containing 0.01% Tween-20 (polyoxyethylene sorbitan) was sprayed on leaves at intervals of 1, 2 and 3 weeks after sowing. Control plants were sprayed with 0.01% Tween-20. One month after sowing, plants were harvested. Lipid peroxidation level significantly increased under water stress but decreased when 24-epibrassinolid were applied, revealing that less oxidative damage occurred in this group. Proline and carotenoids content was decreased when 24-epibrassinolide were applied even under water stress and was higher than control plants. Chlorophyll content was significantly decreased under water stress but increased by 24-epibrassinolide application. Additionally, the soluble sugar content of 24-epibrassinolide-treated plant under water stress was lower than well-watered plant under the same treatment. Results suggested that, 24-epibrassinolide can considerably alleviate oxidative damage induced by water stress conditions.

Key words: 24-epibrassinolide; water stress , oxidative damage, *Brassica napus*.

Archive of SID

www.SID.ir