بررسی اثرات ۲٤-اپی براسینولید و تنش کم آبی بر برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

عفت السادات احمدی موسوی*[۱و۲]، خسرو منوچهری کلانتری[۲]، سیدرضا جعفری[۱و۲]، ندا حسیبی[۲و۳] و کبری مهدویان[۱و۳]

[۱] کرمان، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی(ICST)

[۲] کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم- گروه زیست شناسی

[۳] کرمان، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم- گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۵/٤/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۷

چکیده

براسینواستروئیدها گروهی از هورمونهای گیاهی با اثرات ضد تنشی هستند. اثر ۲٤-اپی براسینولید روی محتوی آبی و سطح برگ، پراکسیداسیون لیپید، نشت یونی، مقدار پروتئین و اتیلن تولید شده 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 ۰/۰۱درصد) بود، محلول پاشی شدند. گیاهان شاهد با آب دو بار تقطیر حاوی توین-۲۰ (۰/۰۱درصد) تیمار گردیدند. یک ماه بعد از جوانه زنی برداشت انجام گرفت. مقدار افزایش پراکسیداسیون لیپید و نشت یونی 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 پروتئین، محتوی آبی و تولید اتیلن در تیمار با ۲٤-اپی براسینولید به طور معنی داری افزایش یافت. سطح برگ در طی تنش کم آبی کاسته شد ولی تغییر قابل توجهی در سطح برگ در گیاهانی که تحت تنش کم آبی بودند ولی با ۲٤-اپی براسینولید تیمار شده بودند، مشاهده نشد. 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، کلزا (*Brassica napus* L.) و اتیلن.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳٤۱٥٦۳٤پست الکترونیکی: effatmousavi@yahoo.com

مقدمه

براسینواستروئیدها برای اولین بار در سال ۱۹۷۹ توسط Grove و همکارانش از دانه گرده گیاه کلزا (*Brassica napus*) استخراج شدند و به عنوان یک گروه جدید از تنظیم کننده های رشد با اثرات زیستی قابل توجه در نظر گرفته شدند (۱۲). از آن زمان تاکنون ۵۹ نوع براسینواستروئید (٥٤ نوع به صورت آزاد و ۵ نوع به صورت همیوغ با اسیدهای چرب و قندها) از گونه های مختلف گیاهان شامل ٤۹ عدد نهاندانه (۱۲ تک لپه ای و ۳۷ دولپه ای)، ٦ بازدانه، یک پتریدوفیت و یک جلبک استخراج و شناسایی شدند (۲۱).

براسینواستروئیدها از مشتقات آلفا کولستان (α_cholestan) هستند و از مسیر موالونات در گیاه سنتز می شوند. این ترکیبات تقریبا در تمام قسمتهای گیاه یافت می شوند و بیشترین مقدار آنها در اندامهای زایشی (دانه گرده و بذر نارس) مشاهده شده است (۸ و ۲۱). این ترکیبات دارای اثرات فیزیولوژیکی مختلف در رشد و نمو گیاهان بوده، موجب تحریک رشد و تقسیم سلولی شده، روی جوانه زنی بذرهای گیاهان اثر گذاشته، بر خصوصیات الکتریکی، نفوذپذیری، ساختمان، پایداری و فعالیت آنزیمهای غشا نیز اثر می گذارند (۳۲)،

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین در سطح مولکولی براسینواستروئیدها موجب تغییر بیان ژن و تغییر متابولیسم و بیوسنتز نوکلئیک اسیدها و پروتئینها می گردند (٦). مطالعات انجام شده بر روی موتانهای مختلف براسینواستروئیدها نشان داده که این ترکیبات برای رشد و نمو گیاهان ضروری هستند (۲۲). در ضمن مشخص شده که این ترکیبات موجب افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی می شوند (٦، ۱۹ و ۳۲). برای مثال گزارش شده که براسینواستروئیدها موجب کاهش خسارت ناشی از تنش سرما، دمای زیاد، فلزات سنگین، شوری (۳۲) و تنش کم آبی (۱۹) شده اند.

گیاهان در اغلب مناطق خشک جهان کم و بیش با تنش رطوبتی مواجه هستند. همچنین تنشهایی مانند تنش شوری، سرمازدگی و یخ زدگی، همراه با از دست رفتن آب بافت، منجر به تنش کم آبی در گیاهان می شوند (۳ و ٤).

تنش کم آبی بر بسیاری از جنبه های رشد موثر بوده موجب تغییرات آناتومیکی، مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می گردد (۲). در شرایط کم آبی گونه های فعال اکسیژن تولید و تجمع یافته، که باعث خسارت اکسیداتیو و اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می شوند. (۲٦، ۳۸ و ۳۹).

تجمع گونه های فعال اکسیژن در شرایط تنش منجر به آسیب رساندن به ماکرومولکولها حیاتی مثل لیپیدها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، پروتئینها، اسیدهای نوکلئیک وسایر ترکیبات سلولی شده و اعمال طبیعی سلول را مختل می کنند (۲۹، ۳٤ و ٤۰). برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال های اکسیژن یک سیستم آنتی اکسیدان خیلی مؤثر نیاز بوده که شامل دو سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی در سلول های گیاه باشد (۱۸).

تجمع گونه های فعال اکسیژن علاوه بر این تنش روی مقادیر هورمونهای گیاهی اثر گذاشته، در نتیجه تعادل هورمونی گیاه به هم می خورد (۳). بررسیها نشان داده تنش کم آبی موجب افزایش تولید اتیلن می شود که این افزایش در مسیر طبیعی بیوسنتز و در مرحله تبدیل SAM به ACC، صورت می گیرد. این اتیلن حاصل از تنش در عکسل العملهای آغازین گیاه به تنش، مانند ریزش برگ، پیری و افزایش مقاومت دخالت می کند (۳).

با توجه به اینکه تنش کم آبی از عوامل محدود کننده در تولید محصولات کشاورزی محسوب می شود، بنابراین تحقیق روی مکانیسم مقاومت گیاهان به کم آبی حائز اهمیت است. در این میان استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی در بهبود و رفع آثار کم آبی در گیاهان بسیار سودمند است. در این پژوهش برای روشن شدن اینکه آیا براسینواستروئیدها روی فرآیندهای سلولی اثر گذارده و باعث افزایش مقاومت به تنش کم آبی می شوند، ترکیب ۲٤-اپی براسینولید به صورت برون زا روی بذرها و گیاهچه های کلزای تحت تنش کم آبی به کار برده شد. همچنین برای مشخص شدن نقش حفاظتی این ترکیب در شرایط تنش کم آبی، پارامترهایی مانند محتوی آبی برگ، سطح برگ، مقدار پروتئین، مالون دآلدئید و نشت یونی مورد سنجش قرار گرفت . در ضمن اتیلن تولید شده با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی، در تیمارهای کم آبی و ۲٤-اپی براسینولید اندازه گیری و با هم مقایسه شدند.

مواد و روشها

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

کشت وتیمار گیاه: پس از جدا کردن بذرهای یکسان از نظر اندازه، این بذرها با سدیم هیپوکلریت ۰/۱درصد ضد عفونی گردید و پس از شستشو با آب مقطر به گلدانهای حاوی ماسه، رس و خاک برگ (به نسبت ۱:۱:۱) منتقل شد. برای هر تیمار ٤ گلدان به عنوان 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 درجه سانتی گراد (نور/ تاریکی) نگهداری شد. برگهای گیاهان به فاصله های

Archive of SID

www.SID.ir

یک، دو و سه هفته بعد از جوانه زنی با محلول 10^{-7} مولار ۲٤-اپی حاوی توین-۲۰ و گیاهان شاهد با آب دو بار تقطیر حاوی توین-۲۰ (۰/۰۱درصد) محلول پاشی شدند.

۱۰ میلی گرم ۲٤-اپی براسینولید (MW=٤٨٠/٧) از Sigma (USA) خریداری و ۱۰ میلی لیتر محلول پایه (Stock) آن (با غلظت $10^{-3}\times$۰/۲۰۸۳ مول) با استفاده از اتانول ساخته و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد، سپس از محلول پایه به مقدار مناسب برداشته و محلول 10^{-8} مول ۲٤-اپی براسینولید با استفاده از آب تهیه گردید و مورد استفاده قرار گرفت.

توین-۲۰ (۰/۰۱درصد) به عنوان یک روکنشگر (Surfactant) برای افزایش جذب سطحی۲٤-اپی براسینولید استفاده شد. قبل از شروع تیمار کم آبی، همه گیاهان به طور منظم در حد ظرفیت مزرعه ای آبیاری شدند. ۲٦ روز بعد از جوانه زنی تنش کم آبی اعمال گردید. به طوری که یک سری گیاهان تحت سه روز تنش کم آبی و سری دیگر تحت چهار روز تنش کم آبی قرار گرفتند.

تیمارهای مورد استفاده عبارت بودند از:

۱. شاهد: که با توین-۲۰ (۰/۰۱درصد) محلول پاشی شد (مقدار رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه ای بود).
۲. WS1: که با توین-۲۰ (۰/۰۱درصد) محلول پاشی شد و به مدت ۳ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفت (۲۵درصد ظرفیت مزرعه ای).
۳. WS2: که با توین-۲۰ (۰/۰۱درصد) 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).

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 سانتی گراد به مدت ٤۸ ساعت قرار داده شده و پس از سرد شدن برای به دست آوردن وزن خشک خاک (DW) مجدداً توزین گردید.

مقدار رطوبت خاک طبق فرمول زیر محاسبه گردید(۲).

Water Content (%)=WW-DW/DW×100

یک ماه بعد از جوانه زنی، سنجش محتوی آبی برگ، سطح برگ، نشت یونی ، پراکسیداسیون لیپید و اتیلن تولید شده از نمونه های گیاهی انجام شد.

اندازه گیری محتوی آبی برگ: برای اندازه گیری محتوی آبی، هر گلدان به عنوان یک تکرار و هر گیاه به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. از هر گیاه برگ چهارم از بالا تهیه و بلافاصله برای تعیین وزن تر (FW) توزین شد، سپس در فویل آلومینیومی پیچیده و بمدت ٤۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از خشک شدن کامل نمونه ها، وزن خشک (DW) آنها اندازه گیری شد.

درصد رطوبت برگ یا ریشه (Water Content) طبق رابطه زیر محاسبه گردید(٤۲).

Water Content (%)=FW-DW/DW×100

همچنین بین وزن تر و وزن خشک برگ هر یک از تیمارها با استفاده از رگرسیون خطی رابطه بین وزن تر و خشک به دست آمد که پارامترهای بیوشیمیایی مورد سنجش بر اساس این رابطه ها بر حسب وزن خشک ارائه گردید.

اندازه گیری سطح برگ در گیاه: برای اندازه گیری سطح برگ گیاه، از هر گیاه چند برگ انتخاب شد. برگهای انتخاب شده از گیاه جدا و بر روی کاغذ قرار داده شده و از آنها کپی کاغذی

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه گردید. پس از تهیه کپی، مربعی که ابعاد آن ۱×۱ سانتیمتر بود جدا و توزین شده و وزن این مربع یادداشت شد. سپس کپی برگ مورد نظر توزین گردید و با رابطه تناسبی، سطح برگ بر اساس وزن آن مشخص گردید.

سنجش مقدار کل پروتئینها(Lowry ۱۹۵۱) : مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت تازه با ٤ میلی لیتر بافر فسفات نمکی (pH=۷) در دمای ٤-۰ درجه سانتی گراد ساییده شد. عصاره گیاهی تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در g ۵۰۰۰ سانتریفیوژ و ۱ میلی لیتر از محلول شفاف رویی برداشته شد. سپس ٤ میلی لیتر از معرف C طبق روش لوری به لوله آزمایش حاوی عصاره اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت آزمایشگاه نگهداری شد. پس از آن ۱/۵ میلی لیتر محلول رقیق شده فولین فنل اضافه و محلول حاصل بشدت به هم زده شد. ٤۵ دقیقه که لوله ها در تاریکی در درجه حرارت آزمایشگاه نگهداری شدند، جذب آنها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٦۰ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد (محلول آلبومین) تعیین گردید و بر حسب (mg/g DW) بیان شد (۳۰).

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دآلدئید ایجاد شده با تیوباربیتوریک اسید (TBA) سنجش شد. غلظت مالون دآلدئید با استفاده از روش Heath & Packer (١٤) در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده ازاسپکتروفتومتر صورت گرفت. جذب سایر رنگیزه های غیر اختصاصی در طول موج ٦۰۰ نانومتر تعیین و از این مقادیر کسر شد. برای محاسبه غلظت مالون دآلدئید از فرمول$A= \varepsilon bc$ با ضریب خاموشی(ε) معادل $155 mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده گردید. نتایج به دست آمده بر اساس وزن خشک محاسبه و ارائه شد.

اندازه گیری اتیلن در برگهای قطع شده گیاه (۲۰): تولید اتیلین توسط برگهای قطع شده در گیاهان کنترل و تیمارهای مختلف اندازه گیری گردید. بدین طریق که بلافاصله بعد از قطع برگها وزن تر آنها (٦ گرم) اندازه گیری شد. برگها در لوله های آزمایش با حجم ۵۰ میلی لیتر قرار گرفته و به هر لوله ۰/۵ میلی لیتر آب اضافه گردید تا برگها تورژسانس خود را در طی آزمایش از دست ندهند. درب لوله آزمایش حاوی برگ بوسیله Subaseal مخصوص به دقت بسته شد. بلافاصله پس از بستن درب لوله آزمایش زمان صفر منظور گردید. مدت یک دقیقه سر سوزنی داخل Subaseal فرو برده شد تا فشار داخل لوله آزمایش با فشار اتمسفر برابر گردد. لوله های آزمایش به مدت ۵ ساعت در اتاقک رشد دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند سپس با استفاده از سرنگ ۱ میلی لیتر از هوای داخل لوله آزمایش به دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent مدل H ۳٤-۱۱۵ ساخت کشور انگلستان، مجهز به آشکار ساز یونیزاسیون شعله ای(Flame ionization detector)، ستون کاپیلاری با اندازه (۱۰ m×۵۳۰ µm) تزریق گردید. درجه حرارت قسمت تزریق، آشکارساز و محفظه گرماده (آون) به ترتیب ۲۰۰، ۲۵۰ و ۱۱۵ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. از گاز نیتروژن به عنوان فاز متحرک استفاده گردید. در شرایط مذکور زمان بازیابی اتیلن استاندارد (خالص) از ستون ۱ دقیقه بود. مقدار اتیلن تولید شده با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب (nL/g DW) تعیین گردید.

اندازه گیری مقدار نشت یونی در برگ (Lutts et al. 1995): مقدار نشت یونی برای اندازه گیری مقدار نفوذپذیری غشا سلولی سنجیده می شود. ابتدا مقدار ۲ گرم دیسک برگی تهیه و برای برطرف شدن آلودگیهای سطح برگ ۳ مرتبه با آب دو بار تقطیر شستشو گردید، سپس در ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر استریل ، در لوله های آزمایش درب دار قرار داده شدند. لوله های آزمایش حاوی نمونه ها به مدت ٢٤ ساعت در شیکرانکوباتورAmperetablle MultitronII ساخت کشور آلمان در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) با ۱۰۰ rpm قرار داده شدند. بعد از گذشت ٢٤ ساعت هدایت الکتریکی (Electerical conductivity) محلول حاوی نمونه ها (EC_1) توسط دستگاه EC متر Metrohm ساخت سوئیس سنجیده شد، سپس نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در آون با دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند ، بعد از سرد شدن نمونه ها برای دومین مرتبه

Archive of SID

www.SID.ir

هدایت الکتریکی (EC_2) محلول حاوی دیسکهای برگی سنجیده شد(۳۱). برای به دست آوردن مقدار نشت یونی(Electrolyte Leakage) از رابطه زیر استفاده گردید.

$EL= EC_1/EC_2\times100$

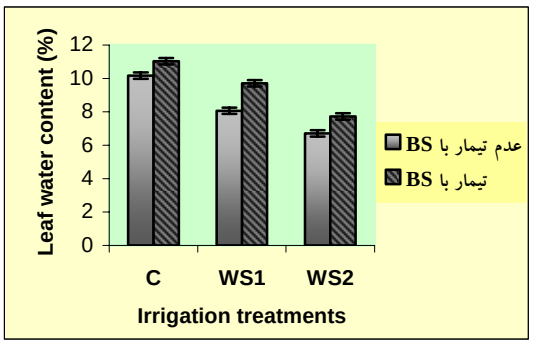
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری طبق طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. برای ارزیابی اثر دو تیمار روی صفت اندازه گیری شده همه داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و Excel تحت آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA) قرار گرفته و میانگینها با ارزش LSD مقایسه شد. $P\leq0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

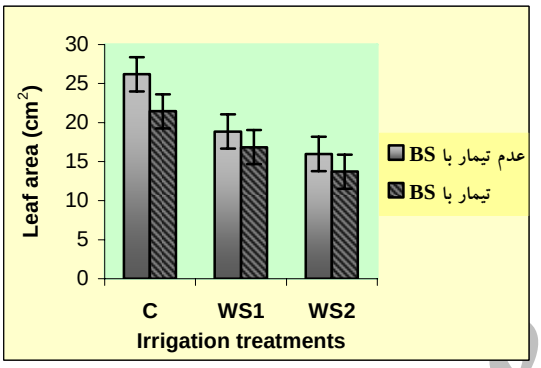
تنش کم آبی در گیاه کلزا باعث کاهش معنی دار درصد محتوی آبی برگ گیاهان نسبت به برگ گیاهان شاهد شد و بطور کلی محلول پاشی گیاهان با محلول ۲٤-اپی براسینولید (با غلظت $^{-7}$ ۱۰ مولار) منجر به افزایش معنی دار محتوی آبی برگ گیاهان در همه تیمارها گردید (نمودار ۱).

داده های حاصل از تأثیر تیمار خشکی بر اندازه سطح برگ گیاه مورد آزمایش، نشان داد که تیمار کم آبی موجب کاهش معنی دار سطح برگ نسبت به گیاهان شاهد شد و چهار روز تنش کم آبی بیشترین اثر را در کاهش سطح برگ داشته است. به طور کلی محلول پاشی گیاهان توسط محلول ۲٤-اپی براسینولید، با غلظت $^{-7}$ ۱۰ مولار منجر به کاهش سطح برگ شده ولی این کاهش قابل ملاحظه نمی باشد (نمودار ۲).

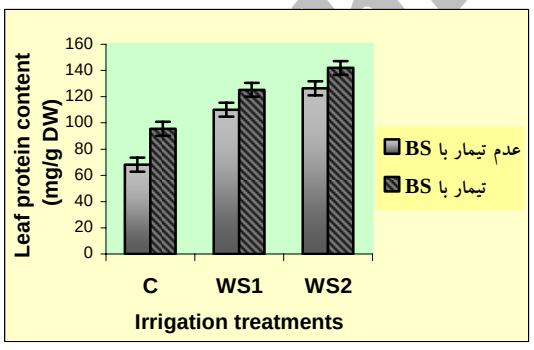
در نمودار ۳ مشاهده می شود که از اثر تیمار کم آبی، مقدار پروتئین برگ گیاهان کلزا به طور چشمگیری افزایش یافته است، به طوری که در گیاهانی که چهار روز تحت تنش کم آبی قرار داشتند مقدار افزایش پروتئین بیشتر از گیاهان شاهد و گیاهانی می باشد که سه روز تحت تنش کم آبی قرار داشتند. با توجه به نمودار مذکور و جدول یک مقدار پروتئین موجود در عصاره نمونه هایی که با ۲٤-اپی براسینولید تیمار شدند نسبت به گیاهانی که با ۲٤- اپی براسینولید تیمار نشدند افزایش معنی داری در سطح پنج درصد نشان داد.



نمودار ۱ – درصد محتوی آب برگ در تیمارهای مختلف تنش آبی (تیمار با BS و عدم تیمار با BS). میانگین سه تکرار ± انحراف معیار C: شاهد، WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی، WS2: تحت ٤ روز تنش کم آبی



نمودار ۲ – تغییرات سطح برگ در تیمارهای مختلف تنش آبی (تیمار با BS و عدم تیمار با BS). میانگین سه تکرار ± انحراف معیار C: شاهد، WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی، WS2: تحت ٤ روز تنش کم آبی



نمودار ۳ – مقدار پروتئین برگ در تیمارهای مختلف تنش آبی (تیمار با BS و عدم تیمار با BS). میانگین سه تکرار ± انحراف معیار C: شاهد، WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی، WS2: تحت ٤ روز تنش کم آبی

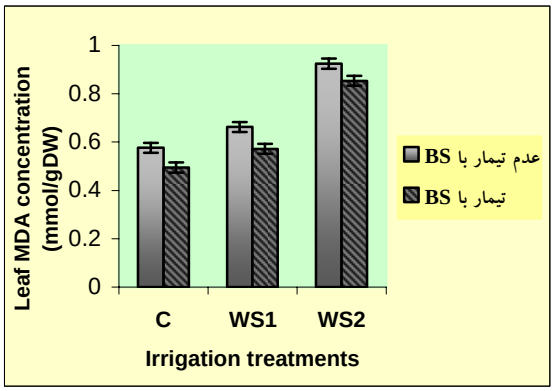
نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای ۲٤-اپی براسینولید، خشکی و ۲٤-اپی براسینولید–خشکی بر مقدار مالون دآلدئید برگ گیاهان کلزا در نمودار ٤ نشان داده شده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- مقایسه پارامترهای مختلف گیاه کلزا تحت شرایط تنش کم آبی و **تیمار و عدم تیمار با BS** (میانگین تکرارها ±انحراف معیار)

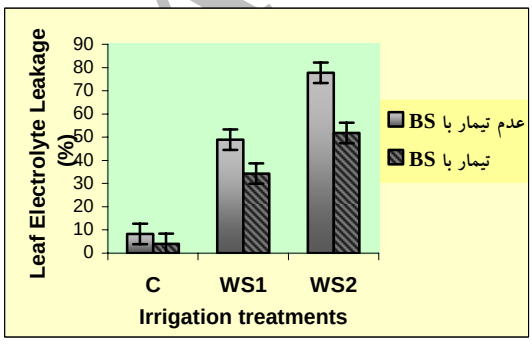
	تیمار با BS			عدم تیمار با BS		
	C	WS1	WS2	C	WS1	WS2
درصد محتوی آب برگ (%)	۱۰/۳±۰/۱۷٦	۸±۰/۲۱	٦/۷±۰/۱۹	۱۱±۰/۱۸	۹/۷±۰/۱۷	۷/۷±۰/۲
تغییرات سطح برگ (cm^2)	۲٦/۲±۲/۲	۱۸/۸±۱/۹	۱٦±۱/۵	۲۱/٤۵±۲	۱٦/۹±۱/۸	۱۳/۷±۱/۷
مقدار پروتئین برگ (mg/g DW)	٦۷/۲±۵/۲	۱۱۰/۱±٤/۸	۱۲٦/٤±۵/٦	۹۵/۵±٤/۹	۱۲۵/۳±٦/۱	۱٤۱/۹±۵/٦
مقدار مالون دآلدئید برگ (m mol/g DW)	۰/۵۸±/۰۲۳	۰/٦٦±۰/۰۲٤	۰/۹۲±۰/۰۲۳	۰/٤۹±۰/۰۲	۰/۵۷±۰/۰۲۱	۰/۸۵±۰/۰۱۹
مقدار هدایت الکتریکی (%)	۸/۳±٤/٤	٤۸/۹±۵/۷	۸/۹۸±٤/۵	۰/٦۲±٤	۰/۸۹±۵/۵	۰/۷٤±۵/۱
مقدار تولید اتیلن (nL/g DW)	$۰/۰۱۱±۲/۸\times۱۰^{-٤}$	$۰/۰۰۷±۳/۲\times۱۰^{-٤}$	$۰/۰۰٦±۳/٦\times۱۰^{-٤}$	$۰/۰۱۵±۳\times۱۰^{-٤}$	$۰/۰۰۸±۳/٦\times۱۰^{-٤}$	$۰/۰۰٦±۳/٤\times۱۰^{-٤}$

مالون دآلدئید شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شده است (۱۷). در این آزمایش مقدار مالون دآلدئید تحت تنش کم آبی افزایش معنی داری یافت و بیشترین مقدار در گیاهانی مشاهده گردید که چهار روز تحت تنش کم آبی قرار داشتند و کاربرد ۲٤-اپی براسینولید موجب کاهش چشمگیر مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه کاهش معنی دار مقدار مالون دآلدئید در گیاهان تحت تیمارهای کم آبی در مقایسه با همان تیمارها بدون ۲٤-اپی براسینولید شده است که نشان می دهد خسارت اکسیداتیو به مقدار کمتر در گیاهان تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید رخ داده است (جدول ۱).



نمودار ٤ – مقدار مالون دآلدئید برگ در تیمارهای مختلف تنش آبی (تیمار با BS و عدم تیمار با BS).میانگین سه تکرار ± انحراف معیار C: شاهد، WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی، WS2: تحت ٤ روز تنش کم آبی

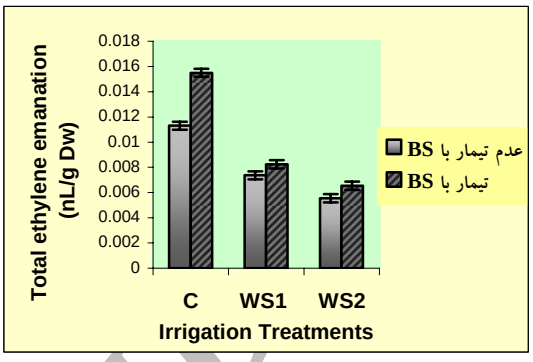
بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار هدایت الکتریکی برگ گیاهان کلزا تحت تیمارهای مختلف خشکی، ۲٤-اپی براسینولید و خشکی توأم با ۲٤-اپی براسینولید نشان داد که مقدار نشت یونی برگ در تیمارهای سه و چهار روز خشکی به طور چشمگیری افزایش یافته و بیشترین مقدار نشت یونی مربوط به گیاهانی است که چهار روز تحت تیمار خشکی بوده اند (نمودار۵). تیمار ۲٤-اپی براسینولید منجر به کاهش مقدار هدایت الکتریکی نسبت گیاهان شاهد شده است.



نمودار ۵ – مقدار هدایت الکتریکی در تیمارهای مختلف تنش آبی (تیمار با BS و عدم تیمار با BS). میانگین سه تکرار ± انحراف معیار C: شاهد، WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی، WS2: تحت ٤ روز تنش کم آبی

Archive of SID
www.SID.ir

نمودار ٦ تغییرات تولید اتیلن در برگ گیاهان کلزا تحت تیمارهای خشکی، ٢٤-اپی براسینولید و خشکی توام با ٢٤-اپی براسینولید را نشان می دهد.

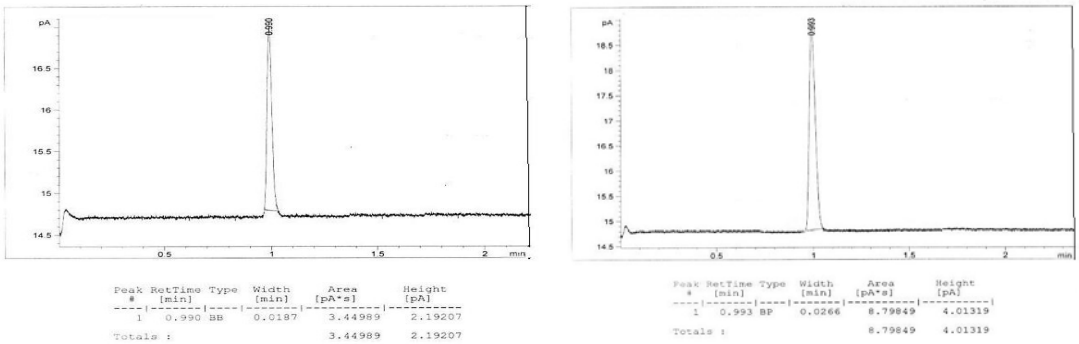


نمودار ٦ – مقدار تولید اتیلن در تیمارهای مختلف تنش آبی (تیمار با BS و عدم تیمار با BS). میانگین سه تکرار ± انحراف معیار C: شاهد، WS1: تحت ۳ روز تنش کم آبی، WS2: تحت ٤ روز تنش کم آبی

در نمودار ۷ منحنیهای اتیلن تولید شده دربرگ گیاهان تحت تیمارهای مذکور مشاهده می شود. مقدار تولید اتیلن در تیمارهای سه و چهار روز تنش خشکی نسبت به شاهد، کاهش چشمگیری نشان داد و به طور کلی مقدار تولید اتیلن در گیاهان تیمار شده با محلول غلظت 10^{-7} مولار ٢٤-اپی براسینولید نسبت به گیاهان شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد (جدول ۱).

بحث و نتیجه گیری

واضح ترین اثر تنش طولانی مدت کم آبی، کاهش رشد گیاه می باشد. کاهش رشد ناشی از تیمار کم آبی منجر به کاهش ارتفاع و سطح برگ گیاه می شود، این فرآیند منجر به کنترل تلفات آب از طریق برگها می گردد و احتمالاً به علت تغییر در تقسیم سلولی و یا جلوگیری از گسترش سلولها می باشد(۲۵). رشد سلول حساس ترین فرآیند گیاه تحت تنش کم آبی است، به این علت که فشار تورگر به عنوان نیروی فیزیولوژیکی مؤثر برای توسعه سلول می باشد، علاوه بر این مواد غذایی کمتری تحت تنش کم آبی در دسترس گیاه قرار می گیرد (١٦ و ٢٣).



نمودار ۷ – کروماتوگرام GC اتیلن تولید شده در گیاه کنترل(سمت چپ) و گیاه تیمار شده با ٢٤-اپی براسینولید(سمت راست)

Tardieu و Granier مشاهده کردند که تنش کم آبی روی میزان نسبی تقسیم سلول و میزان نسبی توسعه سلول اثر می گذارد و بیان کردند که احتمالاً کاهش تقسیم سلولی به دلیل اثرات کمبود آب روی فعالیتهایی از قبیل ساخت DNA ,RNA و مواد جداره سلولی می باشد (۱۱). در این تحقیق کاهش سطح برگ تحت تنش کم آبی مشاهده شد (نمودار۲). در مطالعه بر روی گیاه اکالیپتوس و بادمجان نیز کاهش رشد و کاهش سطح برگها تحت تنش کم آبی مشاهده شده است (۱۰ و ۲۳). سطح برگ کمتر موجب جذب آب کمتر از خاک و کاهش میزان تعرق شده و مقدار آب بیشتری برای استفاده در خاک باقی می ماند (١٦ و ٢٣).

گزارش شده است که براسینواستروئیدها توانایی تحریک رشد را داشته و تسریع در رشد به علت تحریک تقسیم و توسعه سلولی می باشد(۳۷). ولی در این بررسی تیمار گیاهان با ٢٤-اپی براسینولید تغییر قابل ملاحظه ای در سطح برگ ایجاد نکرده است.

Archive of SID
www.SID.ir

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق کاهش محتوی آبی برگ گیاهان کلزا تحت تنش کم آبی مشاهده شد (نمودار ۱). در گیاهچه های برنج نیز کاهش محتوی آبی برگ و ساقه در محیطهای حاوی پلی اتیلن گلیکول مشاهده شده است (۳۳). این کاهش در گیاهان تیمار شده با ۲٤- اپی براسینولید کمتر است که با نتایج گزارش شده در گیاهان خیار تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید تحت تنش کم آبی مطابقت دارد(۳۵). حفظ محتوی آب در گیاهان تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید در این تحقیق، احتمالاً به دلیل تنظیم اسمزی (با تجمع مواد محلول مطابق با بررسی روی گیاه کلزا(۱) و کاهش خسارت غشاها و ماکرومولکولهای ساختاری می باشد، که موجب حفظ آب سلول و افزایش مقاومت در شرایط کم آبی شده است (۳۵).

تحت شرایط نامساعد محیطی مثل کمبود آب گونه های فعال اکسیژن تولید و تجمع می یابند، گونه های فعال اکسیژن در سلولهای گیاهی محلهای هدف مختلفی مانند لیپیدها، رنگدانه ها، پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک دارند. لیپیدها از جمله ماکرومولکولهای حیاتی سلول هستند که تحت کم آبی پراکسیده می شوند و به علت شرکت لیپیدها در ساختمان غشاهای زیستی، تخریب این مولکولها ساختار غشایی را در بسیاری از سلول ها مختل می کند (۱۷ و ۳۹). بررسیها نشان داده که کمبود آب موجب صدمه به اسیدهای چرب غیر اشباع، افزایش نفوذپذیری غشا و تغییر خصوصیات غشا تیلاکوئیدی شده است(۱۵). گزارش شده که در اثر پراکسیداسیون لیپیدها تحت کم آبی در برگها و ریشه های گیاهان گندم تولید مالون دالدئید افزایش یافته است (۳۸).

افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی در این تحقیق در تیمارهای کم آبی به وضوح مشاهده شده و پراکسیداسیون لیپید و افزایش نشت یونی القا شده بوسیله تنش کم آبی در گیاه کلزا تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید نسبت به گیاهچه های تحت تنش کم آبی به تنهایی بطور معنی داری کاهش یافته است (نمودار ٤ و ٥). کاهش تجمع مالون دآلدئید و نشت یونی در تیمار ۲٤-اپی براسینولید توام با تنش کم آبی احتمالا نشان دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپید و سالم ماندن بیشتر غشا تحت کم آبی می باشد.

گزارش مشابهی با نتایج حاصل از این تحقیق، در مورد گیاه برنج ، تحت تنش شوری به دست آمده که کاهش مالون دآلدئید در تیمار ۲٤-اپی براسینولید به دلیل حفظ لیپیدهای غشا از خسارت القاء شده به وسیله رادیکالهای آزاد اکسیژن می باشد و احتمالاً افزایش تولید و فعالیت آنزیمها و پروتئینهای دفاعی در حفاظت ساختمان کلروپلاست، دستگاه فتوسنتزی و کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش کم آبی نقش دارند (۳۲).

برای خنثی کردن اثر سمی گونه های فعال اکسیژن سیستمهای آنتی اکسیدان خیلی مؤثر نیاز می باشد که شامل دو سیستم غیر آنزیمی و آنزیمی در سلولهای گیاهی است. افزایش تولید آنزیمهای آنتی اکسیدان برای خاموش کردن این رادیکالهای فعال، در تنش کم آبی مشاهده شده است (۲٦ و ۳۸). مشاهده شده که بسیاری از LEAs بوسیله تنش اسمتیک در گیاه آرابیدوپسیس القاء شده است که در سیتوپلاسم و هسته تجمع می یابند، تجمع LEAs منجر به اکتساب مقاومت در برابر از دست رفتن آب می شود (۷ و ۳٦).

در این تحقیق افزایش در محتوی پروتئینی تحت تنش کم آبی مشاهده شد (نمودار ۳)..Hoekstra et al گزارش کردند که این افزایش پروتئینها تحت کم آبی احتمالاً به دلیل سنتز آنزیمها و پروتئینهای دفاعی جدید می باشد (۱۵).

در گیاه سویا نیز تنش کم آبی موجب تغییراتی در متابولیسم دیواره سلولی شده در نتیجه پروتئینهای ۸۲ و ۷۲ ،۵۷ ،۳۵ کیلودالتونی که از اجزای ساختاری دیواره سلولی هستند تجمع می یابند ، گزارش شده است که این پروتئینها در تنظیم رشد و سازگاری گیاهان تحت تنش نقش دارند (٤۰).

در این بررسی کاربرد ۲٤-اپی براسینولید منجر به افزایش مقدار پروتئین کل در همه تیمارها شده است (نمودار ٤). افزایش سنتز پروتئینها در گیاهان مختلفی که توسط براسینواسترئیدها تیمار شده اند مشاهده شده است. Pustovoitova و همکاران

Archive of SID

www.SID.ir

(۲۰۰۰) بیان کردند که ۲٤-اپی براسینولید منجر به افزایش مقدار پروتئینهای HSP تحت تنش کم آبی شده که مقامت گیاهان را به تنش افزایش می دهد(۳۵). Dhaubhadel و همکاران (۱۹۸۳) گزارش کردند که در گیاهان کلزا تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید قرار گرفته در دمای بالا تعداد چهار عدد HSP که در شرایط دمای نرمال هم سنتز می شدند افزایش یافته که موجب بقای بیشتر این گیاهان در شرایط تنش می شود (۹). در این تحقیق نیز ٦ باند پروتئینی با شدت بیشتری در الکتروفورز مشاهده شد (اطلاعات داده نشده است).

بیوسنتز اتیلن تحت تنشهای مختلف افزایش می یابد، این اتیلن حاصل از تنش در پاسخهای آغازین گیاه به تنش دخالت می کند(۳). کلانتری ۱۹۸۹ و Kobayashi و همکاران (۱۹۸۱) نشان دادند که در برگهای گیاهان گوجه تحت شرایط کمبود آب مقدار تولید اتیلن افزایش می یابد (۲۰ و ۲٤). گزارشات ضد و نقیضی در مورد بیوسنتز اتیلن وجود دارد، بطور مثال گزارش شده است که در گیاه جو تولید اتیلن تحت تنش خشکی افزوده شده ولی با افزایش تنش مقدار آن کاهش می یابد (۵).

در این تحقیق تولید اتیلن در گیاهان کلزا تحت تنش کم آبی کاهش نشان داده (نمودار ٦)، اختلاف در مقدار اتیلن تولیدی به این دلیل است که بررسیهای مذکور در گیاهان سالم انجام گرفته است، در حالی که آزمایش صورت گرفته در این تحقیق روی برگهای قطع شده گیاه صورت گرفته است، در برگهای قطع شده آب به سرعت از دست می رود، درحالی که در گیاهان سالم آب به تدریج از دست می رود و مدت زمان کافی برای انجام یک سری وقایع وجود دارد (۱۳).

Watanobe, Imaseki (۱۹۸۷) اثرات شوک اسمتیک بکار رفته روی قطعات محور زیر لپه لوبیا را بررسی کرده و گزارش کردند که شوک اسموتیک تولید اتیلن را کاهش می دهد و بنابراین نتیجه گرفتند که تولید اتیلن با فعالیت غشا کنترل می شود. پیشنهاد شده است که مرحله تبدیل ACC به اتیلن در غشا پلاسمایی یا محلی که کاملا با آن همکاری می کند انجام می شود (نقل از مرجع ۱۳).

Liberman , Wang (۱۹۸۲) گزارش کردند که احتمالاً EFE به غشا پلاسمایی یا تونوپلاست متصل است، همچنین این آنزیم در سطح داخلی غشا قرار دارد (۲۸).

علاوه بر این Wright (۱۹۸۰) پیشنهاد کرد که آبسیزیک اسید داخلی مسئول مهار تولید اتیلن در برگهای گندم تحت تنش کم آبی است. آبسیزیک اسید قادر به تنظیم تولید اتیلن از طریق اثر بر روی مقدار ACC در برگهای گندم تحت شرایط کمبود آب می باشد (٤۱). Yoshli , Imaseki (۱۹۸۱) نیز اظهار نمودند که در محورهای زیر لپه لوبیا آبسیزیک اسید با ممانعت از سنتز ACC تولید اتیلن القاء شده به وسیله اکسین را باز می دارد (٤۳).

در گیاهان کلزا تیمار شده با ۲٤-اپی براسینولید مقدار تولید اتیلن افزوده شده است (نمودار ٦). گزارش شده که براسینولید موجب القاء بیوسنتز اتیلن می شود این اثر تحریک کنندگی براسینولید در تولید اتیلن مستقل از اثر اکسین است و احتمالاً تحریک در مرحله SAM و ACC می باشد (۲۷).

در یک نتیجه گیری کلی می توان بیان کرد که اپی براسینولید با اثراتی که در حفظ محتوی آبی برگ با تنظیم اسمزی (تجمع مواد محلول) ، تجمع پروتئینها و کاهش تخریب غشا نشان دادند موجب حفظ آماس و حجم سیتوزولی شده، ساختمان ماکرومولکولها و غشاهای سلولی را محافظت می نمایند، در نتیجه مانع می شوند که گیاهان در شرایط سخت ایجاد شده به وسیله تنش قرار گیرند، بنابراین نقش حفاظتی برای آنها ایفا می نمایند. به طور کلی این تحقیق نشان داد که ۲٤-اپی براسینولید می تواند مقاومت گیاهان کلزا را در برابر تنش کم آبی افزایش دهد و با تحقیقات و بررسیهای بیشتر کاربرد احتمالی این ماده در کشاورزی پایدار مشخص تر خواهد شد.

سپاسگزاری: از جناب آقای دکتر محمد میرزایی ریاست محترم مرکز علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی به دلیل اجازه

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده از امکانات آزمایشگاهی آن مرکز به مؤلف این مقاله تشکر و قدردانی می شود.

منابع

۱. احمدی موسوی، ع.، منوچهری کلانتری، خ و ترکزاده، م. (۱۳۸٤)، اثر نوعی براسینواستروئید (24-epibrassinolide) بر تجمع مالون دآلدئید، پرولین، قند و رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش کم آبی، مجله زیست شناسی، جلد ۱۸، ۳۰٦-۲۹۵.

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

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

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

5. Apelbaum, A., Yangs, S.F., (1981). Biosynthesis of stress ethylene induced by water deficit. *Plant Physiology*. 68:594-596.

6. 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.

7. Caruso, A., Morabito D., Delmotte, F., (2002). Dehydrin induction during drought and osmotic stress in Populus. *Plant Physiology and Biochemistry*. 40:1033-1042.

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

9. Dhaubhadel, S., K. S. Browning , D.R. Gallie , P. Krishna.(2002). Brassinosteroid functions to protect the translational machinery and heat-shock protein synthesis following thermal stress. *Plant.*29:681-691.

10. Gindaba, J., Rozanov, A., Negash, L., (2004). Response of seedlings of two Eucalyptus and three deciduous tree species from Ethiopia to severe water stress. *Forest Ecology and Managments*. 201:119-129.

11. Granier C. and F. Tardieu. (1999). Water Deficit and spatial pattern of leaf development. *Plant Physiology*. 119: 609-619.

12. Grove, M. D., G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. B. Mandava, J. F. Worley and J. D. Wathen. (1979). Brassinolide a plant growth promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*. 281:216-217.

13. Gubick, K.T., Taylor, J.S., Ried, D.M., (1986). The effect of drought on levels of ABA, Cytokinin, Gibberllins and Ethylene in airoponically grown sunflower plants. *Plant Growth Reglation*. 4:139-151.

14. Heath, R. L., Packer, L., (1969). Photoperoxidation in isolated choloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys*. 125: 189-198.

15. Hoekstra, F. A., Golovina, E.A., Buitink, J., (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Plant Science*. 6: 431-438.

16. Hsieh, T.H., Lee, J.T., Charng, Y.Y., Chan, M.T., (2002). How to define resistance to water deficit stress? *Plant Physiology*. 130: 618-626.

17. Inaki, I.O., Escurede, P.R., Ecana, M.B., (1998). Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. *Plant Physiology*. 116:173-181.

18. Inze, D., Montagu, M.V., (2002). Oxidative Stress in Plants .*TJ International Ltd, Padstow, Cornwall*. Great Britain. 321 pages.

19. Jaisingh, S. N., Ota, Y., (1993). Effects of epi-brassinolide on gram (Cicer arientinum) plants grow under water stress in juvenile stage. *Indian Journal of Agricultural Science*. 63:395-397.

20. 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.

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

22. Khripach, V., Zhabinskii, V., Groot, A.E., (2002). Twenty years of brassinosteroidal plant hormones Warrent Better Crops for the XXI century. *Annals of Botany*. 80: 440-447.

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

24. Kobayashi, K., Fuchigami, L.H., Brained, K.E., (1981). Ethylene and ethane production and

Archive of SID

www.SID.ir

electrolyte leakage of water-stressed "Pixy" plum leaves. *Hort Science*. 16:57-59.

25. Larcher, Walter. (2001). Physiological Plant Ecology. *Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York*. Germany. 505 pages.
26. Lascano, H.r., Melchiorre, M.N., Luna, C.M., Trippi, V.S., (2003). Effect of photo oxidative stress induced by paraquat in two wheat cultivars with differential tolerance to water stress. *Plant Science*. 164:841-848.
27. Li, J., Chory, J., (1999). Brassinosteroid actions in plants. *Journal of Experimental Botany*. 50:275-282.
28. Lieberman, M., Wang, S.Y., (1982). Influence of calcium and magnesium on ethylene production by apple tissue slices. *Plant Physiology*. 69:1150-1155
29. 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.
30. Lowry, O.H.., Rosbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Biol. Chem.* 193: 265.
31. Lutts, S., Kinet, J. M., Bouharmont, J., (1996). Nacl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annual Botany*. 78: 389-398.
32. Ozdamir, F., Bor, M., Demiral, T., Turkan, I., (2004). Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and anti oxidative system of rice (Oriza sativa L.) under salinity stress. *Plant growth Regulation*. 42: .203-211.
33. Pandey, R., Agarwal, R.M., (1998). Water stress-induced change in proline contents and nitrate reductase Activity in Rice under light and dark condition. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 4:53-57.
34. Pirker, K. F., Susanne, K., Reichenauer, T.G., (2002). Free radicals in the fruit of three strawberry cultivars exposed to drought stress in the field. *Plant Physiology and Biochemistery*. 40: 709-717.
35. Pustovoitova, T.N., Zhdonova, N.E., Zholkevich, V.N., (2000). Epibrassinolide increase plant drought resistance. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 376: 36-38.
36. Ramo, S., Labrador, E., (2001). Water stress-regulated gene expression in Cicer arietinum seedlings and plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 39:1017-1026.
37. Ram Rao, S., Vidya Vardhini, B., Sujatha, E., Anuradha, S., (2002). Brassinosteroids- a new class of phytohormones. *Current science*. 82:1239-1245.
38. Selote, D.S., Bhar ti, S., Khanna-Chorpa, R., (2004). Drought acclimation reduces O_2^*-accumulation and lipid peroxidation in Wheat seedlings. *Biochem Biophys Res Commun*.13: 724-729.
39. 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*. 166:293-300.
40. Tausz, M., Sorger, A., Grill, D., (2002). Complex interactive effects of drought and ozone stress on antioxidant defense systems of two wheat cultivars. *Plant Physiology and Biochemistery*. 40: 691-695.
41. Wright, S.T.c., (1980). The effect of plant growth regulator treatments on the levels of ethylene emanating from excised turgid and wilted wheat leaves. *Planta*.148:381-388.
42. Yamasaki S., Dillenburg L. R. (1999). Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. Revista Brasilleira de Fisiologia Vegetal, 11: 69–75.
43. Yoshii, H., Imaseki, H., (1981). Biosynthesis of auxin-induced ethylene. Effects of indule-3-acetic benzyladenine and abscisic acid on endogenous levels of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) and ACC synthase. *Plant Cell Physiol*ogy. 22:369-379.

Archive of SID

www.SID.ir

Study of the effects of 24-epibrassinolide and water stress on some physiological parameters in canola (*Brassica napus* L.) seedling

Ahmadi Mousavi E.[1,2], Kalantari Kh. M.[2], Jafari R.[1,2], Hasibi N.[2,3] and Mahdavian K.[1,3]

[1] International Center for Science, High technology and Environmental Science, Kerman, I.R. of IRAN

[2]Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN

[3] Biology Dept., Faculty of Science, Payamnoor University, Kerman, I.R. of IRAN

Abstract

Brassinosteroids are phytohormones possessing a wide spectrum of antistress activity. The effects of 24-epibrassinolise on leaf water content, leaf area, lipid peroxidation, electrolyte leakage, protein content and ethylene production were investigated in canola (*Brassica napus* L. cv. Fusia) seedling 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 and electrolyte leakage significantly increased under water stress but decreased when 24-epibrassinolid were applied, revealing that less oxidative damage occurred in this group. Protein content, water content and ethylene production was decreased when 24-epibrassinolide were applied even under water stress and was higher than control plants. Leaf area was significantly decreased under water stress but 24-epibrassinolide had no appreciable effect on the leaf area. Results suggested that, 24-epibrassinolide can considerably alleviate oxidative damage induced by water stress conditions.

Keywords: 24-epibrassinolide, water stress, germination, canola (*Brassica napus* L.) and ethylene.

Archive of SID

www.SID.ir