نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره پیاپی ۳۱ ، سال هشتم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲/صفحات: ۲۲-۱۲

تاثیر تنش خشکی و پاکلوبوترازول بر میزان تجمع فلاونوئیدها و عناصر معدنی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط کشت درون شیشه

مهری عمویگی[۱]، رویا رضوی‌زاده*[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نوراصفهان، اصفهان

[۲]استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نوراصفهان، اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۷ تاریخ پذیرش:۹۲/۵/۲

چکیده

تنش خشکی به‌عنوان یک عامل محدودکننده تولیدات گیاهی است. در این پژوهش نقش پاکلوبوترازول در بهبود یا کاهش اثرات سوء تنش خشکی در گیاه کلزا در شرایط کشت درون شیشه‌ای بررسی شد. بذرهای گیاه کلزا پس از ضدعفونی، در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های ۰، ٤ و ۸ درصد وزنی مانیتول (سطوح مختلف خشکی) و غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ پی‌پی‌ام پاکلوبوترازول کشت گردیدند. تنش خشکی سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و همچنین وزن تر اندام هوایی و ریشه گردید. ولی تیمار با پاکلوبوترازول این پارامترها را در شرایط تنش خشکی به طور معنی‌داری افزایش داد. محتوای فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها تحت تنش خشکی و تیمار پاکلوبوترازول به طور معنی‌داری افزایش یافت. تیمار پاکلوبوترازول موجب کاهش تجمع سدیم در اندام هوایی و ریشه و کلسیم در اندام هوایی تحت شرایط تنش خشکی گردید و مقدار پتاسیم اندام هوایی و ریشه و کلسیم ریشه را به میزان کمتری کاهش داد. در مجموع کاربرد پاکلوبوترازول در محیط کشت برای رفع آسیب ناشی از تنش خشکی در گیاه کلزا موثر بود.

واژگان کلیدی: پاکلوبوترازول، تنش خشکی، عناصر معدنی، کشت درون شیشه‌ای، کلزا

مقدمه

جنس *Brassica* L. متعلق به تیره Crucifereae و واجد ۵ گونه در ایران است. پس از سویا و نخل، گیاه کلزا سومین محصول کشت شده جهت تولید روغن گیاهی در دنیا است. دانه‌های روغنی به‌دلیل تولید روغن با کیفیت بالا و درصد زیادی از اسیدهای چرب مرغوب از اهمیت شایانی در تغذیه انسان برخوردار است (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۸).

از میان تنش‌های محیطی، تنش خشکی مهمترین عامل محدودکننده تولید محصولات در سیستم‌های کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می‌آید (Debaeke and Abdellah, 2004). کاهش مقدار آب در دسترس گیاه منجر به تنش خشکی و بروز تغییرات نامناسب مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاه می‌شود. از جمله می‌توان به کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها (محمودی و همکاران، ۱۳۸۷)، تغییر در میزان و سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاه مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها (Guidi et al., 2008) و تغییر در جذب و انتقال عناصر در گیاه (نیاکان و قربانلی، ۱۳۸٦) اشاره کرد.

پاکلوبوترازول یک تنظیم‌کننده بیوسنتز ژیبرلین می‌باشد که به گروه تریازول‌ها تعلق دارد. این ترکیب

*نویسنده مسئول: razavi.roya@gmail.com

www.SID.ir

اکسیداسیون کارن به کارنیک اسید که توسط کارن اکسیداز انجام می‌شود را مهار می‌کند (Hedden and Graebe, 1985). بنابراین تنظیم کننده‌های نوع تریازولی از طریق اثر بر مسیر بیوسنتز ژیبرلین موجب کاهش آن می‌شوند (Hedden and Kamiya, 1997). تأثیر پاکلوبوترازول به‌عنوان یک ماده ضد تعرق بر روابط آبی و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ثابت شده است (Asare-Boamah et al., 1986). اثرات فیزیولوژیکی پاکلوبوترازول شامل تغییرات در رشد و مورفولوژی گیاه (Kazaz and Karaguzal, 2010)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها (Still and Pill, 2004) و تغییرات مقدار و نسبت تنظیم‌کننده‌های رشد (Wang and Steffens, 1985) است. تریازول‌ها می‌توانند گیاهان را از تنش‌های محیطی شامل فقدان اکسیژن[1]، آلودگی هوا، خشکی، دمای بالا و نور ماوراء بنفش محافظت کنند (Fletcher and Hofstra, 1988). همچنین پاکلوبوترازول از طریق ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی موجب افزایش مقاومت گیاهان به خشکی می‌گردد (Amina and Hanan, 2011). نقش حفاظتی تریازول‌ها ممکن است از توقف حمله اکسیداتیو، کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش سم‌زدایی آنها ناشی شود (Somasundaram et al., 2009).

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر کاربرد برون‌زای تنظیم‌کننده پاکلوبوترازول در بهبود فرایند جوانه‌زنی، میزان تجمع رنگیزه‌های غیرفتوسنتزی (فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها) و عناصر معدنی گیاه کلزا در شرایط کشت درون شیشه‌ای[2] و تحت تنش خشکی و افزایش تحمل در مقابله با شرایط تنش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

موادگیاهی: در این تحقیق از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) رقم اکاپی استفاده گردید. ابتدا بذرهای تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان با آب مقطر شستشو و سپس با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۱ دقیقه و محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند. تعداد ۱۰ بذر در هر شیشه حاوی غلظت‌های ۰، ٤ و ۸ درصد وزنی مانیتول (سطوح مختلف خشکی) و غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ ppm پاکلوبوترازول قرار داده شد. به این منظور ابتدا محلول ۱۰۰ ppm پاکلوبوترازول در آب مقطر تهیه شد و با توجه به غلظت تیمار، حجم مناسبی از آن به محیط کشت پایه اضافه گردید. سپس محیط‌های کشت حاوی بذور به اتاق کشت با دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۸-۹۵ درصد منتقل شدند. ٤ هفته بعد از رشد، گیاهان حاصل برای اندازه‌گیری وزن تر ریشه و اندام هوایی، رنگیزه‌های غیرفتوسنتزی و عناصر معدنی مورد استفاده قرار گرفتند.

محاسبه درصد جوانه‌زنی بذور: در روزهای دوم و پنجم پس از کشت بذرها در محیط‌های کشت شاهد و تیمار، تعداد بذرهای جوانه‌زده در ۳ تکرار شمارش و بر حسب درصد گزارش گردید.

اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی و ریشه: پس از جدا کردن اندام هوایی و ریشه از یکدیگر، وزن هریک برحسب گرم با ترازوی دیجیتالی مدل KERN pls با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

سنجش میزان فلاوونوئیدها: میزان جذب فلاوونوئیدها به روش Krizek و همکاران (۱۹۸۸) در سه طول موج ۳۰۰، ۳۳۰ و ۲۷۰ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل RAY LEIGH UV 1601 اندازه‌گیری شد.

1- Anoxia
2- *In vitro*

Archive of SID

www.SID.ir

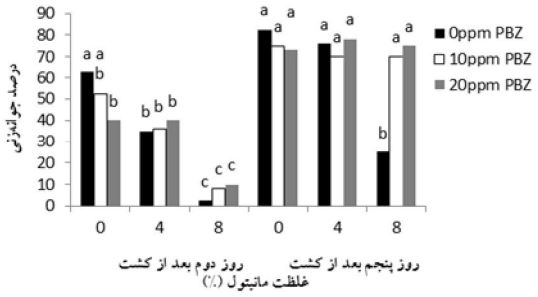
سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: از روش Wagner (۱۹۷۹) جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های برگ استفاده گردید. طبق این روش ۰/۰۵ گرم از بافت گیاهی در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی کاملاً سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ دار ریخته و به مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه قرار داده شد. جذب در طول موج ۵۵۰ nm خوانده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌ها برحسب میکرومول بر گرم وزن‌تر محاسبه و ارائه گردید.

سنجش میزان عناصر: ۰/۲ گرم از بافت گیاهی خشک (برگ و ریشه) وزن گردید و در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به‌مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. محصول حاصل بر روی هیتر گرم گردید تا بخارات اسیدی از محلول خارج شود. سپس حجم محلول با آب مقطر به ۳۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد (امامی، ۱۳۷۵). از محلول بدست آمده جهت اندازه‌گیری عناصر سدیم، پتاسیم و کلسیم در دستگاه الکترولیت آنالایز مدل AUDICOM Ac9801 استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان عناصر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه و ارائه گردید.

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 $P\leq$ ۰/۰۵ محاسبه گردید.

نتایج

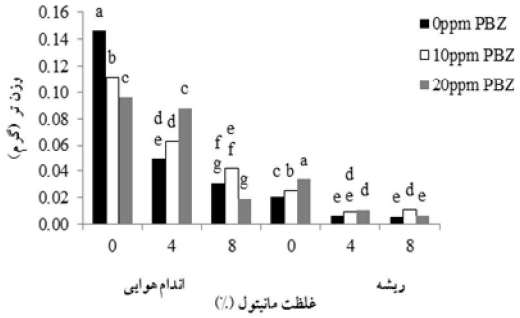
درصد جوانه‌زنی در روز دوم و پنجم بعد از کشت: درصد جوانه‌زنی در روز دوم بعد از کشت بذور تحت تنش خشکی ٤ و ۸ درصد مانیتول و در روز پنجم در بذور تحت تنش خشکی ۸ درصد مانیتول به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. پاکلوبوترازول در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام در روز دوم کاهش معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد. در تیمار توأم مانیتول و پاکلوبوترازول، پاکلوبوترازول بر روی درصد جوانه‌زنی در روز دوم در بذور تحت تنش خشکی اثر معنی‌داری نداشت. اما پاکلوبوترازول در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام در روز پنجم باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی تحت تیمار ۸ درصد مانیتول گردید (شکل ۱).



شکل ۱. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر میزان درصد جوانه‌زنی بذور در روز دوم و پنجم بعد از کشت. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq$۰/۰۵).

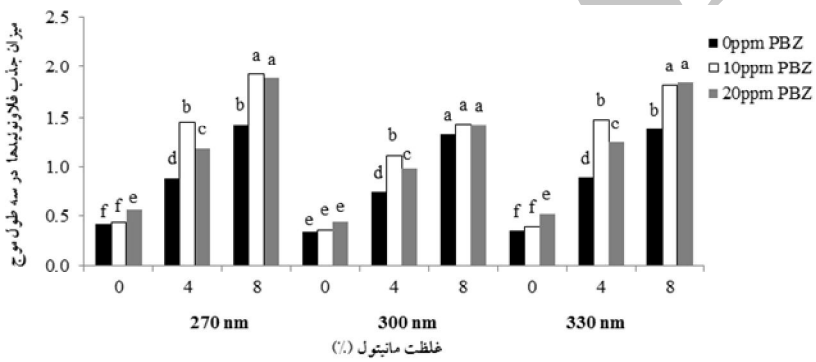
وزن تر اندام هوایی و ریشه: تیمار خشکی باعث کاهش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی و ریشه نسبت به گیاهان شاهد شد. در هر دو غلظت پاکلوبوترازول کاهش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی و افزایش معنی دار وزن تر ریشه نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش معنی‌دار وزن‌تر اندام هوایی گردید. وزن تر ریشه در گیاهان تحت تیمار پاکلوبوترازول ۲۰ پی‌پی‌ام و تنش خشکی ٤ درصد مانیتول و همچنین در گیاهان تحت تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام پاکلوبوترازول و تنش خشکی ۸ درصد مانیتول، نسبت به گیاهان در همان سطح تنش خشکی افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۲).

Archive of SID
www.SID.ir



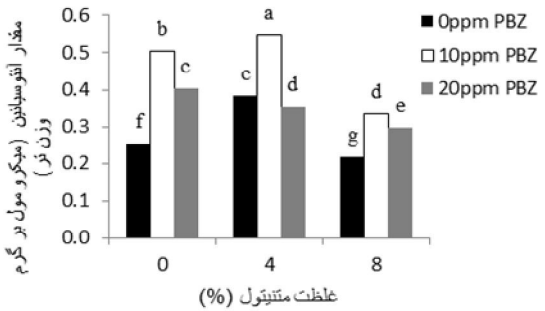
شکل ۲. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر وزن‌تر اندام هوایی و ریشه. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P≤۰/۰۵).

فلاونوئیدها: میزان جذب فلاونوئیدها در هر سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر در گیاهان تحت تنش خشکی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت. تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش معنی‌دار جذب فلاونوئیدها در دو طول موج ۳۳۰ و ۲۷۰ نانومتر نسبت به گروه شاهد گردید. در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، هیچ یک از غلظت‌های پاکلوبوترازول اثر معنی‌داری بر میزان جذب فلاونوئیدها در طول موج ۳۰۰ نانومتر در سطح خشکی ۸ درصد مانیتول نداشت. در حالی که در سایر گیاهان تحت تیمار توأم پاکلوبوترازول و تنش خشکی، هر دو غلظت پاکلوبوترازول افزایش معنی‌داری در میزان جذب فلاونوئیدها در هر سه طول موج ایجاد کرد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر میزان جذب فلاونوئیدها در طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P≤۰/۰۵).

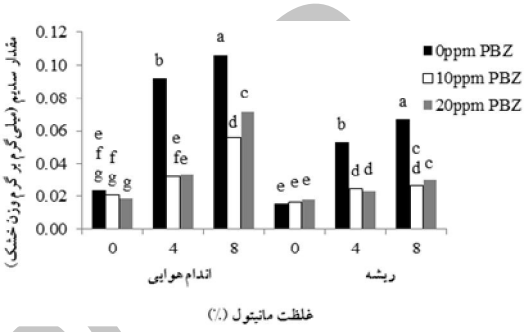
آنتوسیانین: آنتوسیانین در برگ گیاهان تحت تنش خشکی ٤ درصد مانیتول افزایش و در گیاهان تحت تنش خشکی ۸ درصد مانیتول نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در گروه شاهد هر دو غلظت پاکلوبوترازول افزایش معنی‌داری در میزان آنتوسیانین نسبت به گروه شاهد ایجاد کرد. در تیمار توأم پاکلوبوترازول و خشکی، هر دو غلظت پاکلوبوترازول موجب افزایش معنی‌دار آنتوسیانین‌ها در گیاهان تحت تنش خشکی ٤ و ۸ درصد مانیتول گردید (شکل ٤).



شکل ٤. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر میزان میزان آنتوسیانین برگ. مقادیر میانگین سه تکرار و با حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P≤۰/۰۵).

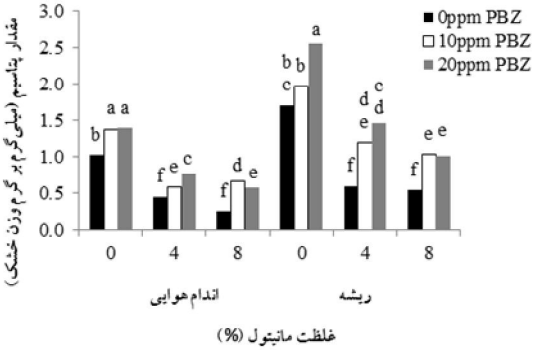
www.SID.ir

سدیم اندام هوایی و ریشه: تیمار پاکلوبوترازول به تنهایی اثر معنی‌داری بر میزان سدیم اندام هوایی و ریشه گیاهان نسبت به گیاهان گروه شاهد ایجاد نکرد. مقدار سدیم اندام هوایی و ریشه در گیاهان تحت تنش خشکی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت. هر دو غلظت پاکلوبوترازول کاهش معنی‌داری در تجمع یون سدیم در گیاهان تحت تنش خشکی ایجاد کرد (شکل ۵).



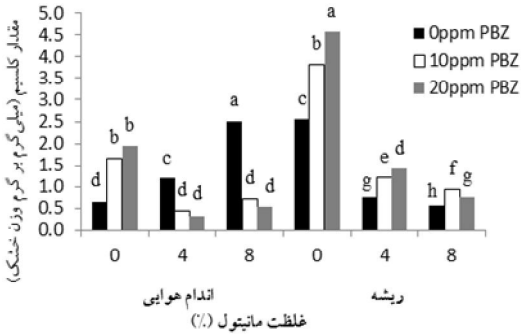
شکل ۵. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر میزان سدیم اندام هوایی و ریشه. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq ۰/۰۵$).

پتاسیم اندام‌هوایی و ریشه: هر دو غلظت پاکلوبوترازول در میزان پتاسیم اندام هوایی و غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام پاکلوبوترازول در میزان این یون در ریشه نسبت به گیاهان گروه شاهد افزایش معنی‌داری ایجاد کرد. مقدار پتاسیم در اندام هوایی و ریشه گیاهان تحت تنش خشکی کاهش معنی‌داری یافت. در گیاهان تحت تیمار همزمان مانیتول و پاکلوبوترازول مقدار پتاسیم اندام هوایی و ریشه به میزان کمتری نسبت به گیاهان تحت تنش خشکی کاهش یافت (شکل ٦).



شکل ٦. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر میزان پتاسیم اندام هوایی و ریشه. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq ۰/۰۵$).

کلسیم اندام‌هوایی و ریشه: هر دو غلظت پاکلوبوترازول به تنهایی موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلسیم اندام هوایی و ریشه نسبت به گروه شاهد گردید. تنش خشکی مقدار کلسیم را در اندام هوایی افزایش و در ریشه به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش داد. هر دو غلظت پاکلوبوترازول در شرایط تنش خشکی، موجب کاهش معنی‌داری در تجمع کلسیم اندام هوایی گردید. پاکلوبوترازول همچنین از کاهش میزان کلسیم ریشه در گیاهان تحت تنش ممانعت کرد (شکل ۷).



شکل ۷. اثر متقابل خشکی (مانیتول) و پاکلوبوترازول بر میزان کلسیم اندام هوایی و ریشه. مقادیر میانگین سه تکرار و با حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq ۰/۰۵$).

www.SID.ir

بحث

جوانه‌زنی به معنای ظهور ریشه‌چه و ساقه‌چه، طویل شدن آنها و اختصاص مواد ذخیره شده به محور جنینی است، که جزء اولین مراحل چرخه زندگی گیاه می‌باشد و نقش تعیین‌کننده‌ای در استقرار گیاه دارد (انفراد و همکاران، ۱۳۸۳). گزارش‌های متعددی از کاهش جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی وجود دارد (خزاعی و همکاران، ۱۳۹۱). کاهش فرآیند جوانه‌زنی در اثر تنش خشکی می تواند به کاهش جذب آب توسط بذرها ارتباط داشته باشد. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب آب به کندی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی صورت خواهد گرفت(Marchner, 1995). در این پژوهش نیز تیمارهای مختلف مانیتول بویژه در تنش خشکی ۸ درصد باعث کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای گیاه کلزا گردید. کاهش درصد جوانه‌زنی تحت شرایط تنش شوری در دانه‌رست گندم (نیاکان و همکاران، ۱۳۹۰) و پنبه (عالیشاه و همکاران، ۱۳۹۰) نیز گزارش شده است. هورمون ژیبرلین، سنتز آنزیم آمیلاز که برای شکستن منبع ذخیره‌ای بذر و تبدیل آن به سوخت قابل استفاده جنین ضروری است را فعال می‌کند. بنابراین ترکیبات تریازولی با کاهش هورمون ژیبرلین و کاهش سنتز آنزیم آمیلاز، جوانه‌زنی بذرها را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Prusakova et al., 2004). در این آزمایش نیز کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای تحت تیمار پاکلوبوترازول مشاهده شد که این کاهش از لحاظ آماری فقط در روز دوم بعد از کشت قابل ملاحظه بود. این نتایج پیشنهاد می‌کند که پاکلوبوترازول جوانه‌زنی را مهار نمی‌کند بلکه فقط آن را به تاخیر می‌اندازد. نتایج مشابهی از تاخیر جوانه‌زنی بذرها با به کار بردن پاکلوبوترازول در گوجه فرنگی (Still and Pill, 2003) و افرا (Marshall et al., 2000) گزارش شده است. در تیمار توأم پاکلوبوترازول و تنش‌خشکی، پاکلوبوترازول باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای تحت تیمار خشکی در روز پنجم بعد از کشت گردید. به‌طور مشابهی پیش تیمار بذرهای گندم با پاکلوبوترازول باعث افزایش درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی گردید (Gilley and Fletcher, 1997). بذوری که در شرایط تنش جوانه‌زنی مناسبی داشته باشند در مراحل بعدی رشد، گیاهچه‌هایی با بنیه‌های بهتر و سیستم ریشه‌ای قوی‌تر ایجاد خواهند کرد (Opoku et al., 1996). بنابراین پاکلوبوترازول با بهبود جوانه‌زنی بذرهای تحت تنش خشکی به تولید گیاهچه‌هایی با ویژگی سازشی مناسب‌تر به تنش خشکی کمک خواهد کرد. در این پژوهش نیز در حالی که تنش خشکی موجب کاهش وزن‌تر اندام هوایی گردید، به‌کار بردن پاکلوبوترازول در شرایط تنش خشکی موجب تولید گیاهچه‌هایی با وزن‌تر بیشتر اندام هوایی و ریشه گردید. کاهش وزن تر گیاه جو در شرایط تنش شوری (نیاکان و همکاران، ۱۳۸۸) و کاهش وزن‌تر کالوس تحت تیمار پلی‌اتیلن‌گلیکول (Ehsanpour and Razavizadeh, 2005) نیز گزارش شده است. نتایج مشابهی از افزایش وزن تر ریشه و اندام هوایی با به کار بردن پاکلوبوترازول در گیاه *Aesculus hippocastanum* تحت تنش گزارش شده است (Percival and Noviss, 2008). در پژوهش دیگری پیش تیمار بذرهای *Festuca arundinacea* و *Lolium perenne* با پاکلوبوترازول منجر به تولید گیاهچه‌هایی شد که در شرایط تنش خشکی وزن‌تر و خشک بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند (Shahrokhi et al., 2011). افزایش وزن تر ریشه و اندام هوایی با به کار بردن پاکلوبوترازول در دانه‌رست گندم نیز تحت تنش خشکی گزارش شده است (Gilley and Fletcher, 1997).

فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک و از مهمترین ترکیبات ثانویه گیاهان می‌باشند. آنتوسیانین‌ها به عنوان

Archive of SID

www.SID.ir

یک گروه از فلاونوئیدهای محلول در آب، در یک نقطه پایانی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها سنتز می‌شوند (Mars et al., 1995). با ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان (Vinyard et al., 2005) و مسیر فنیل‌پروپانوئید به‌ویژه مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها افزایش می‌یابد (Mackerness et al., 2001). فلاونوئیدها نقش حفاظتی کلیدی در برابر در تنش اکسیداتیو دارند زیرا قادرند تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار و یا آن‌ها را جاروب نمایند (Agati et al., 2007). نتایج مشابهی از افزایش فلاونوئیدها طی تنش خشکی (Watkinson et al., 2006) و افزایش آنتوسیانین طی تنش شوری (میرقاسمی و همکاران، ۱۳۸۸) گزارش شده است. در این تحقیق کاربرد پاکلوبوترازول از طریق افزایش آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها سبب زدودن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش سازگاری گیاه به شرایط تنش خشکی شد. با توجه به اینکه در طول تنش خشکی فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز که آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها است افزایش می‌یابد و موجب افزایش این ترکیبات می‌گردد (Guidi et al., 2008)؛ تصور می‌شود که پاکلوبوترازول نیز از طریق چنین مکانیسمی بر مقدار این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی افزوده باشد.

تنش خشکی جذب مواد غذایی از ریشه و انتقال آن به گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به همین علت در این پژوهش مقدار یون سدیم، پتاسیم و کلسیم اندام هوایی و ریشه مورد بررسی قرار گرفت. در هر دو بخش هوایی و ریشه میزان یون سدیم تحت تیمار مانیتول افزایش و میزان یون پتاسیم کاهش معنی‌داری یافت. نتایج مشابهی مبنی بر کاهش یون پتاسیم تحت تنش خشکی در نیشکر (Errabii et al., 2006) و سویا (نیاکان و قربانلی، ۱۳۸٦) گزارش شده است. در پژوهش دیگری افزایش یون سدیم و کاهش یون پتاسیم در گیاه کلزا تحت تنش شوری گزارش شده است (لاری یزدی و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش یون سدیم در شرایط تنش در دانه‌رست گندم نیز گزارش شده است (نیاکان و همکاران، ۱۳۹۰). نسبت Na^+/k^+ یک شاخص مناسب برای تعیین درجه مقاومت گیاه به تنش می‌باشد که عموماً در گیاهان حساس به تنش با افزایش مقدار Na^+ و کاهش k^+ این نسبت کاهش می‌یابد. تجمع یون سدیم و تغییر این نسبت بر فرآیندهای زیست‌انرژیایی[1] گیاه تاثیر می‌گذارد (Sudhir and Murthy, 2004). به دلیل اینکه پتاسیم فعال‌کننده بسیاری از آنزیم‌هایی است که برای فتوسنتز و تنفس ضروری هستند، کمبود آن منجر به مهار فتوسنتز و حتی کاهش رشد می‌شود. به علاوه وجود یون پتاسیم برای حفظ و ایجاد فشار آماس و تنظیم تعادل آبی در گیاهان حیاتی است. از طرف دیگر افزایش یون سدیم درون سلول منجر به ایجاد اختلال در بسیاری از فرایندهای آنزیمی درون گیاه می‌شود چراکه در بسیاری از آنزیم‌ها یون سدیم جایگزین یون پتاسیم (کوفاکتور آنزیم) می‌گردد و باعث غیرفعال شدن آنزیم و اختلال در سلول می‌شود. علاوه براین سنتز پروتئین را که به مقدار زیادی پتاسیم نیاز دارد دچار اختلال می‌کند (Parido and Das, 2005). در این پژوهش در تیمار توأم خشکی و پاکلوبوترازول، تجمع یون سدیم در شرایط تنش خشکی کاهش یافت و پاکلوبوترازول به این طریق موجب کاهش اثرات زیان بار تجمع یون سدیم در سلول‌ها از جمله آسیب به غشا و سنتز پروتئین‌ها گردید. از طرفی با توجه به نقش‌های پتاسیم در فرایندهای گیاه، نگهداری سطح مناسبی از پتاسیم برای ادامه حیات گیاه در شرایط تنش ضروری است. لذا به نظر می‌رسد پاکلوبوترازول در گیاهان تحت تنش خشکی، با کاهش تجمع یون سدیم و ممانعت از

1- Bioenergetic

Archive of SID

www.SID.ir

کاهش یون پتاسیم اثر حفاظتی خود را اعمال نموده است.تنش خشکی از طریق تغییر در خصوصیات دیواره سلولی، سبب تغییر در عوامل زیستی مربوط به سیگنال در غشای پلاسمایی همچون کانال کلسیمی می‌گردد (Zhao, 2000). نتایج حاصل از بررسی مقدار یون کلسیم در اندام هوایی و ریشه نشان داد که تحت تنش خشکی، مقدار یون کلسیم در اندام هوایی افزایش و در ریشه کاهش می‌یابد که علت آن می‌تواند افزایش انتقال یون کلسیم از ریشه به اندام هوایی باشد. افزایش غلظت کلسیم اندام هوایی در *Cynodon Dactylon* و *Cenchrus Ciliaris* تحت تنش خشکی گزارش شده است (Nudrat Aisha et al., 2008). افزایش کلسیم سیتوزولی به عنوان یک پیامبر ثانویه می‌تواند پاسخ‌های فیزیولوژیکی متعددی نظیر القای بیان ژن‌های مسئول تعادل اسمزی را رهبری کند (Pardo et al., 1998). در این تحقیق مشاهده شد به کار بردن پاکلوبوترازول موجب حفظ غلظت کلسیم اندام هوایی و ریشه در غلظتی مشابه با مقدار این عنصر در گیاهان شاهد شد. در بررسی اثر پاکلوبوترازول بر مقدار عناصر در گیاهان نتایج متضادی وجود دارد که تفاوت در نتایج، از تفاوت در مقدار پاکلوبوترازول مصرفی، مدت زمان تیمار، شرایط تیمار و گونه گیاهی ناشی می‌شود (Monge et al., 1994). در پژوهشی Martin و همکاران (۱۹۸۷) افزایش مقدار یون پتاسیم و کلسیم را در گیاهان تیمار شده با پاکلوبوترازول نشان دادند. به‌طورکلی تغییر در مقدار عناصر در اندام‌های گیاهی گیاهان تحت تیمار پاکلوبوترازول می‌تواند به تغییر نسبت رشد اندام‌ها و در نتیجه تغییر در جذب و انتقال عناصر مربوط باشد (Swietlik and Miller, 1984).

نتیجه‌گیری نهایی

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه کلزا تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد، اما تیمار پاکلوبوترازول با بهبود جوانه‌زنی، افزایش وزن تر اندام هوایی و ریشه، افزایش میزان فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان و همچنین کاهش تجمع یون سدیم و افزایش میزان یون پتاسیم از طریق تغییر در فرایندهای مربوط به جذب و انتقال عناصر، تاحدودی سبب بهبود اثرات تخریبی ناشی از تنش خشکی در این گیاه شد. بنابراین استفاده از این ماده به ویژه در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام برای بهبود مقاومت به تنش خشکی در این گیاه پیشنهاد می‌شود.

منابع

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

امامی، ع. (۱۳۷۵). روش‌های تجزیه گیاه . نشریه فنی مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور. انتشارات مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور، تهران. صفحه ۹۸۲.

انفراد، ا.، مجنون حسینی، ن.، پوستینی، ک. و خواجه احمد عطاری، ا. ع. (۱۳۸۳). بررسی جوانه‌زنی ارقام کلزا در شرایط شوری. نشریه علمی مجتمع آموزش عالی ابوریحان. جلد ۵. شماره ۲. صفحات ۱۷-۷.

خزاعی، ح.ر.، نظامی، ا.، عشقی‌زاده، ح. ا.، ریاحی نیا، ش. و شجاعی، ک. (۱۳۹۱). خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ژنوتیپ‌های تریتیکاله (*Triticale hexaploide* L) تحت تاثیر پتانسیل‌های متفاوت ناشی از شوری و خشکی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۳. شماره ۱۰. صفحات ۴۲-۳۳.

لاری یزدی، ح.، لک، ر. و گودرزی، م. (۱۳۸۸). بررسی اثرات برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید آسکوربیک بر برخی شاخص‌های رشد، میزان

Archive of SID

www.SID.ir

پرولین و تغییرات یون‌های سدیم و پتاسیم در دو رقم کلزا (Hayola 401 & RGS). پژوهش‌های علوم گیاهی. جلد ٤. شماره ۱. صفحات ۱۹-۹.

عالیشاه، ع.، نیاکان، م. و غفوری، ش. (۱۳۹۰). اثر پرایمینگ تنظیم‌کننده پیکس بر شاخص‌های رشد و سیستم آنتی‌اکسیدانی دانه‌رست پنبه در سطوح مختلف شوری. پژوهش‌های علوم گیاهی. جلد ٦. شماره ۳. صفحات ۳۳-۲۲.

محمودی، ع.، بارانی، ح.، سلطانی، ا. و سپهری، ع. (۱۳۸۷). بررسی اثر تنش خشکی بر روی یونجه یکساله (*Mdicago scutellata* CV Mill) در مرحله جوانه‌زنی. مجله علمی پژوهشی مرتع. شماره ۲. صفحات ۱۲٤-۱۱۳.

میرقاسمی، ج.، رضایی، م.ع.، عالیشاه، ع. و شابدین، م. (۱۳۸۸). تاثیر تنش شوری بر میزان تجمع آنتوسیانین، پرولین و گلیسین بتائین در ارقام تجاری پنبه (*Gossypium hirsutum* L.). پژوهش‌های علوم گیاهی. جلد ٤. شماره ۱. صفحات ٤۳-۳۵.

نیاکان، م.، رشیدزاده، و. و نوری‌نیا، ع. (۱۳۸۸). بررسی اثر نمک، ژیبرلین و آسکوربات بر جوانه‌زنی، رشد و اثر آنتی‌اکسیدانی دانه‌رست جو (*Hordeum vulgare* L.). پژوهش‌های علوم گیاهی. جلد ٤. شماره ۱. صفحات ۲۸-۲۰.

نیاکان، م.، صادقی، س. و قربانلی، م. (۱۳۹۰). اثر اسپرمیدین، تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، پارامترهای رشد، تنظیم‌کننده‌های اسمزی، میزان سدیم و کلر دانه‌رست گندم. پژوهش‌های علوم گیاهی. جلد ٦. شماره ۱. صفحات ۸۹-۷۸.

نیاکان، م. و قربانلی، م. (۱۳۸٦). اثر تنش خشکی بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای فتوسنتزی، میزان پروتئین و محتوی یونی در بخش‌های هوایی و زیرزمینی دو رقم سویا. رستنی‌ها. جلد ۸. صفحات ۳۲-۱۷.

Agati, G., Mattini, P., Goti, A. and Tattini, M. (2007). Chloroplast- located flavonoids can scavenge singlet oxygen. New Phytologist. 174: 77–89.

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.

Asare -Boamah, N.K., Hofstra, G., Fletcher, R.A. and Dumbroff, E.B. (1986). Triadimefon protect bean plants from water stress through its effect on abscisic acid. Plant Cell Physiology. 27: 383- 390.

Debaeke, P., and Abdellah, A. (2004). Adaptation of crop management to water limited environments. European Journal of Agronomy. 21: 433-446.

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.

Errabii, E., Gandonou, C.B., Essalmani, H., Abrini, J., Idaomar, M. and Skali-Senhaji, N. (2006). Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief. African Journal of Biotechnology. 5 (16): 1488-1493.

Fletcher, R.A.A. and Hofstra, G. (1988). Triazoles as potential plant protectants. In: Sterol synthesis inhibitors in plant protection, pp: 21– 331. eds. D. Berg, and M. Plempel. Ellis Horwood Limited, Cambridge.

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.

Guidi, L., Deglinnocenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Tattini, M. (2008). Interactions of water stress and solar irradiance on the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare*. Tree Physiology. 28: 873–883.

Hedden, P. and Kamiya, Y. (1997). Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation. Annual Review of Plant

Archive of SID

www.SID.ir

Physiology and Plant Molecular Biology. 48: 431-460.

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.

Kazaz, S. and Karaguzel, O. (2010). Influence of growth regulators on the growth and flowering characteristics of Goldenrod . European Journal of Scientific Research. 5: 498-507.

Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiationon growth of CV. New Red Fire Lettuce. Physiology Plantarum. 103: 1-7.

Mackerness, S.A.H., John, C.F., Jordan, B. and Thomas, B. (2001). Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct role for different reactive oxygen species and nitric oxide. FEBS Lett. 489: 237–242.

Marchner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants .Second reprint. Academic Press. pp: 6-73.

Marshall, J.G., Rutledge, R.G., Blumwald, E. and Dumbroff, E.D. (2000). Reduction in turgid water in jack pine, white spruce and black spruce in response to drought and paclobutrazol. Tree Physiology. 20: 701-707.

Mars, K.A., Alfenito, M.R., Loyd, A.M. and Valbot, V.A. (1995). Glutathione s-transferees involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene bronze-2. Nature. 375: 397-400.

Martin, G.C., Yoshikawa, F. and LaRue, J.H. (1987). Effects of soil applications of paclobutrazol on vegetative growth, pruning time, flowering, yield and quality of Flavorcrest peach. Journal of American Society for Horticultural Science. 112: 915-921.

Monge, E., Aguirre, R. and Blanco, A. (1994) . Application of paclobutrazol and GA3 to adult peach trees: effects on nutritional status and photosynthetic pigments. Plant Physiology. 112: 319-323.

Nudrat Aisha, A., Shahbaz, M. and Ashraf, A.S. (2008). Nutrient acquisition in differentially adapted populations of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. and *Cenchrus ciliaris* L. under drought stress. Pakistan Journal of Botany. 40(4): 1433-1440.

Opoku, G., Davies, F.M., Zetrio, E.V. and Camble, E.E. (1996). Relationship between seed vigor and yield of white beans (*Phaseolos vulgaris* L.). Plant Varieties and Seeds. 9: 119-125.

Pardo, J.M., Reddy, M.P. Yang, S., Maggio, A., Huh, G.H., Mutasumoto, T., Coca, M.A., Koiwa, H., Yun, D.J., Watad, A.A., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M. (1998). Stress signaling through Ca^{2+} calmodulin-dependent protein phosphatase calcineurin mediates salt adaptation in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 95: 9681-9686.

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

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

Prusakova, L.D., Chizhova, S.I. and Paplova, V.V. (2004). Assessment of triazole growth retarding activity in alpha-amylase bioassay using spring barley endosperm. Russian Journal of Plant Physiology. 51: 563-567.

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

Somasundaram, R., Abdul Jaleel, C., Abraham, S., Azooz, M.M. and Panneerselvam, R. (2009). Role of paclobutrazol and ABA in drought stress amelioration in *Sesamum indicum* L. Global Journal of Molecular Sciences. 4 (2): 56-62.

Still, J.R. and Pill, W.G. (2003). Germination, emergence, and seedling growth of tomato and impatiens in response to seed treatment with paclobutrazol. Horticulture Science. 38: 1201-1204.

Still, J.R. and Pill, W.G. (2004). Growth and stress tolerance of tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in response to seed treatment with paclobutrazol. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 79: 197–203.

Sudhir, P. and Murthy, S.D.S. (2004). Effect of salt stress on basic processes of photosynthrsis. Photosynthetica. 42: 481-486.

Swietlik, D. and Miller, S.S. (1984). The effect of paclobutrazol on the growth and uptake of Ca^{2+} and K^{+} by apple seedlings. Journal of Plant Nutrition. 7: 1555-1565.

Vinyard, P.G., Moody, C.J. and Jacob, C. (2005). Oxidative activation of antioxidant

Archive of SID

www.SID.ir

defense. Trends in Biochemical Science. 8: 453–461.

Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole /extera vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplast. Plant Physiology. 68: 88-93.

Wang, S.Y. and Steffens, G.L. (1985). Effect of paclobutrazol on water stress-induced ethylene biosynthesis and polyamine accumulation in apple seedling leaves. Phytochemistry. 24: 2185-2190.

Watkinson, J.I., Hendricks, L., Sioson, A.A., Vasquez-Robinet, C., Verlyn, S., Heath, L.S., Schuler, M. Bohnert, H.J., Bonierbale, M. and Grene, R. (2006). Accessions of *Solanum toberosum* spp. Andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. Plant Science. 18: 1-4.

Zhao, H.C. (2000). Influence of water stress on the lipid physical membranes from *P. betuloefolia*. Biointerfaces. 19: 181-185.

Archive of SID

www.SID.ir