بررسی تأثیر پیش تیمار بذر با ٢٤-اپی براسینولید بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری

کبری قلی‌پور[۱] و پرتو روشندل[۲*]

دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۲/ اصلاح: ۱۳۹۷/۰۴/۱۱/ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۴/ انتشار: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۲]گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
[*]مسئول مکاتبات: proshandel@sku.ac.ir

چکیده. به‌منظور بررسی اثر پرایمینگ بذر با ۲۴-اپی براسینولید (صفر، ۰/۱ و ۱میلی‌گرم بر لیتر) بر افزایش مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) به تنش شوری (صفر، ۷۰ و ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای صورت گرفت. تنش شوری به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش در میزان رشد گیاه گوجه‌فرنگی شد. با این وجود، پرایمینگ با ۲۴-اپی براسینولید (EBL) (۱ میلی-گرم بر لیتر) از اثرات منفی کلریدسدیم (به‌ویژه در ۱۴۰ میلی‌مولار) به‌نحو معنی‌دار کاست. در این حالت، ۲۴-اپی براسینولید باعث تغییر در میزان وزن تر و خشک (بیش از دو برابر)، کلروفیل کل (۷۲+ درصد)، کاروتنوئیدها (دو برابر)، پرولین آزاد (سه برابر)، نشت الکترولیت‌ها (۱۸/۶- درصد)، نسبت Na^+/K^+ در ریشه (۵۷/۵-درصد) و اندام‌های هوایی (۶۲- درصد) نسبت به شاهد شوری شد. به‌نظر می‌رسد پرایمینگ بذر با اپی‌براسینولید با افزایش در میزان پرولین آزاد، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز کاهش نشت الکترولیت‌ها و نسبت Na^+/K^+ در بافت‌های گیاه گوجه‌فرنگی منجر به افزایش تحمل گیاه گوجه‌فرنگی به تنش شوری شد.

واژه‌های کلیدی. پرایمینگ بذر، پرولین، تنظیم کننده رشد گیاهی، لیکوپرسیکون اسکولانتوم، مقاومت به شوری

Effects of seed pretreatment with 24-brassinolide on physiological and biochemical characters in tomato plants under salt stress

Kobra Gholipoor[1] & Parto Roshandel[2]*

Received 13.07.2017/ Revised02.07.2018/ Accepted 15.07.2018/ Published 19.03.2019

[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[2]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
* Correspondent author: proshandel@sku.ac.ir

Abstract. In order to study the effects of seed priming with 24-epibrassinolide (EBL) (0, 0.1, 1 mg/l) on the increase of the tolerance of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to salinity (0, 70 and 140 mM NaCl), factorial experiments were conducted in a completely randomized design under greenhouse conditions. Results showed that salt stress significantly decreased the growth of tomato plants. However, priming with EBL (1 mg/l) significantly decreased the negative effects of NaCl (particularly at 140 mM). As a result, EBL increased the fresh and dry weights (<2 folds), total chlorophyll (+72%), carotenoids (+ 2 folds), free proline (+3 folds), electrolyte leakage (-18.6%), Na^+/K^+ in the roots (-57.5%) and shoots (-62%) compared with salinity control. It could be concluded that priming with epibrassinolide resulted in enhanced salt tolerance in tomato plants via increment in free proline, photosynthetic pigments and decrease in electrolyte leakage and Na^+/K^+ ratio in the tissues.

Keywords. *Lycopersicon esculentum*, plant growth regulator, proline, salt tolerance, seed priming

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) از تیرهٔ بادنجانیان (Solanaceae)، گونه بومی آمریکای مرکزی و جنوبی است و در مناطق مختلف دنیا به‌عنوان گیاه زراعی کشت می‌شود. سهم عمده تولیدات جهانی گوجه‌فرنگی در مناطق گرم و خشک است. در ایران نیز مناطق وسیعی به‌ویژه در استان‌های بوشهر و خراسان زیر کشت این گیاه قرار گرفته است. شوری ناشی از کلریدسدیم از تنش‌های محیطی مضر و روبه افزایش به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا محسوب می‌شود که تولید محصولات زراعی را دچار مخاطره جدی می‌نماید. در این میان، گیاه گوجه‌فرنگی از جمله گیاهان نسبتاً حساس به شوری است و شوری آب یا خاک در مراحل مختلف تکوین، رشد و تولید محصول این گیاه را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهد. تاکنون روش‌های مختلفی برای مقاوم‌سازی گیاهان زراعی به تنش شوری معرفی شده است. یکی از روش‌های کاربردی و نسبتاً ساده اجرای پرایمینگ بذر است. در تحقیق حاضر، پرایمینگ بذرهای گوجه فرنگی با ۲۴-اپی براسینولید مورد مطالعه قرار گرفت. براسینواستروئیدها فیتوهورمون-هایی هستند که طیف گسترده‌ای از فرایندهای فیزیولوژیک مانند جوانه‌زنی، تمایز آوندها و یا فرایندهای فتومورفوژنتیک را تنظیم می-کنند (Gomes, 2011). اخیراً استفاده از این دسته هورمون‌ها در امور زراعی مورد توجه قرار گرفته است زیرا گفته می‌شود براسینواستروئیدها می‌توانند همانند پلی، شکاف بین ملاحظات سلامتی مصرف‌کنندگان و نیاز به تولید محصول بیشتر توسط تولیدکنندگان را برطرف نمایند. زیرا یکی از مزایای اصلی استفاده از براسینواستروئیدها آن است که این هورمون‌ها با دوز طبیعی و مسیرهای طبیعی متابولیسمی، تأثیر خود را بر گیاه اعمال می‌کنند و از این لحاظ کمترین تأثیر مخاطره‌انگیز را در اکوسیستم‌های طبیعی به-دنبال خواهند داشت (Khripach *et al.*, 2000). به عنوان مثال گزارش شده است که استفاده از براسینواستروئیدها بر روی گیاه خیار، باعث افزایش متابولیسم و پاک شدن گیاه از علف‌کش‌ها می-شود. چنین ویژگی براسینواستروئیدها می‌تواند در کاهش خطرات ناشی از سموم کشاورزی برای صیفی‌جاتی که به‌صورت غیرارگانیک کشت می‌شوند مفید باشد (Xiao Jian *et al.*, 2009). از طرفی، روشن شده است که کاربرد خارجی براسینواستروئیدها می‌تواند باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و فلزات سنگین گردد (Bajguz & Hayat, 2009). به‌عنوان مثال، براسینواستروئیدها باعث افزایش مقاومت خردل هندی و یا گیاهان انگور به سرما شدند (Kumar *et al.*, 2010; Xi *et al.*, 2013). گزارش شده است که پرایمینگ بذر تربچه با ۲۴-اپی براسینولید باعث افزایش مقاومت گیاهان این گونه به تنش خشکی می‌شود (Mahesh *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای دیگر معلوم شد که کاربرد براسینواستروئیدها از سمیت سرب، کادمیم و روی در گیاه تربچه می‌کاهد (Anuradha & Rao, 2007; Ramakrishna & Rao, 2015). گزارش شده است تیمار بذر برنج با براسینواستروئیدها باعث تقویت سیستم فتوسنتزی و افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاهان رشد یافته از چنین بذرهایی در شرایط شوری می‌شود (Anuradha & Rao, 2007). در پژوهشی که بر روی یونجه معمولی انجام گرفت معلوم شد پرایمینگ بذرهای آن با براسینولید نه تنها باعث بهبود پارامترهای جوانه‌زنی تحت تنش شوری می‌شود بلکه بیوماس گیاهان حاصله نیز در شرایط شوری افزایش یافته است (Zhang *et al.*, 2007). در تحقیق دیگری خیساندن بذرهای نخودفرنگی در محلول EBL باعث ارتقای رشد گیاهان این گیاه در حضور کلریدسدیم شد (Shahid *et al.*, 2011).

در تحقیق حاضر، اثر پرایمینگ بذر گوجه فرنگی با ۲۴-اپی براسینولید در افزایش مقاومت به شوری این گیاهان تحت تنش مذکور مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

آماده سازی و شرایط رشد

بذرهای گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) رقم $DRW6208F_1$ از شرکت مواد زراعی (اصفهان) خریداری شد. به منظور پرایمینگ از سه سطح ۲۴-اپی براسینولید (صفر، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر) به‌مدت ۳۶ ساعت، محیط تاریک و دمای ۲۰ درجه سانتیگراد استفاده شد. پس از آن بذرها برای جوانه‌زنی بر روی کاغذ صافی مرطوب درون ظروف پتری قرار داده شدند. دانه‌رست‌های هفت روزه به گلدان‌هایی حاوی ماسه و پرلیت در گلخانه منتقل شدند. هر گلدان حاوی ۵ عدد گیاه و هر تیمار شامل ۳ تکرار بود. شرایط گلخانه برای رشد گیاهان عبارت بود از: ۱۶ ساعت روشنایی / ۳۲ درجه سانتیگراد و ۸ ساعت تاریکی/ ۲۰ درجه سانتیگراد. برای ایجاد

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]

تنش شوری از سه سطح کلریدسدیم (صفر، ۷۰ و ۱۴۰ میلی مولار) استفاده شد. گیاهچه های ۹ روزه به‌مدت سه هفته تحت تنش شوری قرار داشتند. پس از آن و به‌منظور بررسی تغییرات وزن گیاهان ۳۰ روزه، بخش‌های هوایی و زیرزمینی به‌طور جداگانه با ترازوی حساس (۰/۰۰۰۱ ±) توزین شد. برای خشک کردن گیاهچه‌ها از آون ۶۰ درجه سانتیگراد (تا رسیدن به وزن ثابت) استفاده شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای ارزیابی تغییرات میزان کلروفیل کل (a+b) و کاروتنوئیدها، ۰/۲گرم از بافت تازه برگی با ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی به خوبی سائیده و با استون به حجم رسانده شد (Lichtenthaler & Buschmann, 2001). این مخلوط سانتریفوژ شده و سپس شدت جذب محلول شفاف رویی با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۶ ، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر بررسی شد. میزان کاروتنوئیدها، کلروفیل های a، b و کل با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

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

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

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

$$\text{Car. } (mg.m^{-1}) = [(1000A_{470}) - (1.8\text{Chl. a}) - (85.2\text{Chl. b})]/198$$

سنجش پرولین آزاد

برای اندازه‌گیری پرولین، عصاره برگی (۲۰۰ میلی گرم بافت تازه برگ) با استفاده از محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک به‌دست آمد (Bates *et al.*, 1973). با استفاده از معرف نین هیدرین و تولوئن طول موج محلول رنگی با دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. میزان پرولین با کمک منحنی استاندارد بر اساس میکرومولار بر گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه‌گیری نشت الکترولیتی غشاء

۰/۱ گرم وزن تر برگ در ظروف شیشه‌ای در پوش‌دار محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به‌مدت سه ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در بن‌ماری قرار داده شد و نشت الکترولیتی آنها با استفاده از هدایت‌سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (C_1). مجدداً نمونه‌ها به‌مدت دو دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده و سپس برای بار دوم هدایت الکتریکی آنها پس از سرد شدن محلول اندازه‌گیری شد (C_2). درصد نشت (EL) مطابق رابطه زیر محاسبه شد (Tuna *et al.*, 2008):

$$\%EL = C_1/C_2 \times 100$$

C_1 =هدایت الکتریکی محلول قبل از جوش ؛ C_2 = هدایت الکتریکی محلول بعد از جوش

تعیین میزان یون‌های سدیم و پتاسیم

برای سنجش میزان کاتیون‌های Na^+ و K^+، ریشه و بخش هوایی خشک شده گیاهان مورد آزمایش پس از آسیاب شدن به‌مدت ۵ ساعت درون کوره و در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. به خاکستر حاصل از هر نمونه، ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال اضافه و حرارت داده شد. پس از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی، حجم محلول صاف شده با افزودن آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم با فلیم فتومتری اندازه-گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش ها در قالب طرح کاملا تصادفی و به‌صورت فاکتوریل به اجرا درآمد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در برنامه آماری SPSS مورد بررسی قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها در سطح $p<0.05$ و با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن صورت گرفت. نمودارهای مربوطه با استفاده از برنامه Excel رسم شد.

نتایج

تحلیل داده‌ها حاکی از آن بود که تنش شوری در هر دو سطح، باعث کاهش معنی‌دار در وزن تر اندام‌های هوایی گیاهان گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد می‌شود ($p<0.05$) (شکل A۱). این کاهش در غلظت-های ۷۰ و ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به‌ترتیب عبارت بود از ۲۶- و ۶۶- درصد. در غلظت ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، پرایمینگ بذر با EBL در هیچیک از غلظت‌های آن نتوانست تغییری در وزن تر گیاهان گوجه‌فرنگی به‌وجود آورد (شکل A۱). ولی تحت غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، تأثیر مثبت این پرایمینگ در هر دو سطح به‌کار رفته آشکار شد ($p<0.05$)؛ به‌نحوی که وزن تر اندام‌های هوایی در گیاهان به عمل آمده از بذرهای پرایم شده با سطح ۰/۱ EBL، ۶۴+ درصد و در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر بیش از دو برابر نسبت به شاهد شوری (تیمار ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) افزایش یافت. نتایج نشان داد در شرایط عادی، پرایمینگ با EBL تغییر معنی‌داری در وزن تر اندام‌های هوایی گیاهان گوجه‌فرنگی ایجاد نمی‌کند (شکل A۱). تنش شوری از وزن تر ریشه‌ها نیز به‌نحو معنی‌داری کاست ($p<0.05$) (شکل B۱). این کاهش تحت غلظت ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، ۴۷-

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]

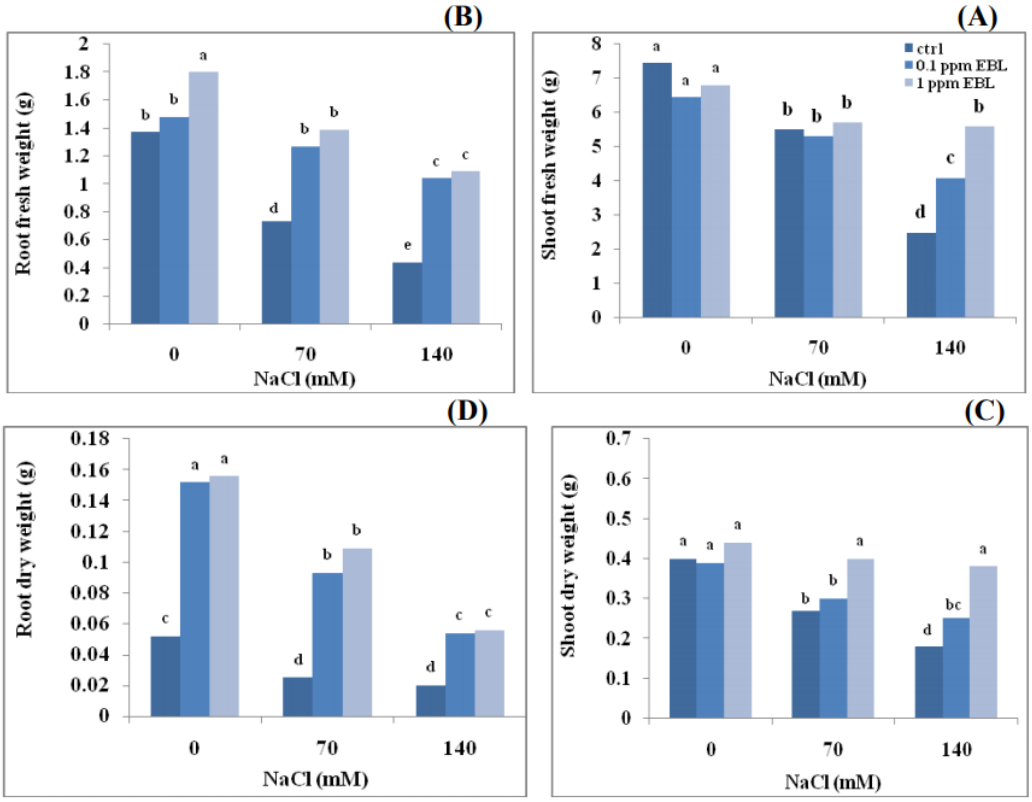
درصد و در سطح ۱۴۰ میلی‌مولار ۶۸- درصد بود. پرایمینگ با EBL در هر دو سطح باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه‌ها شد ($p<0.05$). تحت شوری ۷۰ میلی‌مولار، پرایمینگ باعث افزایش وزن تر ریشه‌ها تا ۹۰ درصد و تحت غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم این افزایش تا بیش از دو و نیم برابر به‌دست آمد (شکل B۱). در هر یک از دو سطح شوری، اختلاف معنی‌داری بین دو سطح پرایمینگ وجود نداشت. در شرایط بدون تنش، از دو سطح پرایمینگ با EBL فقط غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود که باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به شاهد شد (۳۱+ درصد) (شکل B۱).

نتایج نشان داد تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام‌های هوایی گیاهان گوجه فرنگی می‌شود (شکل C۱). این کاهش در غلظت ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، ۳۲/۵- درصد و تحت ۱۴۰ میلی‌مولار ۵۵- درصد به‌دست آمد. تحت تنش ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، پرایمینگ با EBL فقط در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر توانست باعث افزایش معنی‌دار بخش‌های هوایی شود (۴۸+ درصد) (شکل C۱). در غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار هر دو سطح پرایمینگ باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام‌های هوایی شد، اما EBL در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین افزایش را باعث شد (افزایش بیش از دو برابر نسبت به شاهد شوری در ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم). در شرایط عادی، پرایمینگ با EBL تغییر معنی‌داری در وزن خشک اندام‌های هوایی گیاهان گوجه فرنگی ایجاد نکرد (شکل C۱). تنش شوری باعث کاهش ۶۱/۵ درصدی وزن خشک ریشه‌ها نسبت به شاهد شد و این کاهش معنی‌دار بود (شکل D۱). پرایمینگ با EBL توانست باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه‌ها تحت تنش شوری شود. تحت تنش کلریدسدیم ۷۰ میلی‌مولار، افزایش وزن خشک ریشه‌ها بیش از ۴ برابر بود (شکل D۱). در غلظت ۱۴۰ میلی-مولار، این افزایش در حدود ۲/۸ برابر نسبت به شاهد شوری (در این سطح از کلریدسدیم) به‌دست آمد. تحت این دو سطح شوری، اختلاف معنی‌داری بین تأثیر دو غلظت EBL مشاهده نشد. در شرایط بدون تنش نیز پرایمینگ با EBL توانست باعث افزایش ۳ برابری وزن خشک اندام‌های زیرزمینی نسبت به شاهد شود ($p<0.05$) (شکل D۱).

نتایج نشان داد تنش شوری در هر دو سطح، از میزان کلروفیل کل نسبت به شاهد می‌کاهد ($p<0.05$) (شکل A۲). تحت ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، این کاهش ۱۷ درصد و تحت تأثیر کلریدسدیم ۱۴۰ میلی‌مولار، بیش از ۴۷ درصد نسبت به شاهد بود. تحت تنش شوری، پرایمینگ با هر دو سطح EBL باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل کل شد (شکل A۲). بیشترین غلظت کلروفیل کل در گیاهان به عمل آمده از بذرهای پرایم شده با ۱ میلی‌گرم بر لیتر به-دست آمد. تحت تأثیر این سطح از پرایمینگ، غلظت کلروفیل کل تحت شوری ۷۰ میلی‌مولار ۲۲ درصد و در غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار بیش از ۷۲ درصد افزایش نشان داد. در شرایط عادی، پرایمینگ نتوانست تغییری در میزان کلروفیل کل گیاهان گوجه فرنگی ایجاد کند (شکل A۲).

تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار غلظت کاروتنوئیدها نسبت به شاهد شد (شکل B۲). این کاهش تحت غلظت ۷۰ میلی‌مولار کلریدسدیم ۲۸ درصد و در غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار نزدیک به ۵۳ درصد بود ($p<0.05$). پرایمینگ با EBL در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار این پارامتر در هر دو شرایط عادی و تنش شوری شد (شکل B۲). این افزایش در شرایط عادی نزدیک به ۱۹ درصد، تحت کلریدسدیم ۷۰ میلی‌مولار ۴۲ درصد و در ۱۴۰ میلی-مولار دو برابر نسبت به شاهد مربوط به خود بود. در شرایط عادی و شوری ۷۰ میلی‌مولار تأثیر پرایمینگ در سطح ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری با شاهد مربوط به خود نداشت. ولی در تنش ۱۴۰ میلی‌مولار، باعث افزایش ۵۶ درصدی نسبت به شاهد شوری در این غلظت شد. با این وجود، میزان این افزایش به‌طور معنی‌دار کمتر از پرایمینگ در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. میزان پرولین آزاد فقط تحت تنش شوری ۱۴۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد یافت؛ این افزایش بیش از ۴ برابر بود (شکل C۲). پرایمینگ با EBL بیشترین تأثیر در افزایش پرولین را در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر ایجاد کرد. در تنش شوری ۷۰ میلی‌مولار، پرایمینگ در سطح ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر تغییری در میزان پرولین نداشت ولی در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر، باعث افزایشی نزدیک به ۴/۵ برابر نسبت به شاهد شوری شد (شکل C۲). در غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، پرایمینگ در سطح ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش ۲/۵ برابری پرولین آزاد در برگ‌های گوجه فرنگی و در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر این افزایش بیش از ۳ برابر نسبت به شاهد شوری مربوطه بود. در شرایط عاری از تنش شوری، پرایمینگ به‌کار رفته تغییری در میزان پرولین آزاد ایجاد نکرد (شکل C۲).

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]



شکل ۱– گیاهان ۳۰ روزه گوجه فرنگی که بذرشان با ۲۴-اپی براسینولید پرایم شده و تحت تنش شوری رویانده شده اند. **A:** وزن تر اندام‌های هوایی؛ **B:** وزن تر ریشه‌ها؛ **C:** وزن خشک اندام‌های هوایی؛ **D:** وزن خشک ریشه‌ها. میانگین‌های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

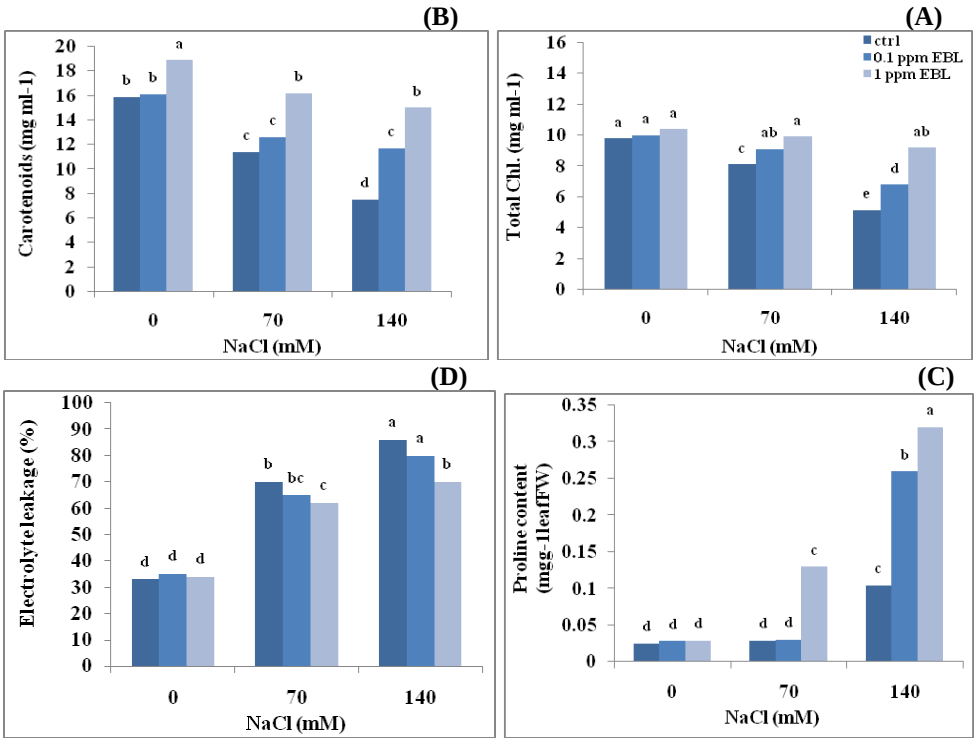
Fig. 1. 30-day-old *Lycopersion esculentum* plants whose seeds were primed with 24-epibrassinolide and grown under salt stress. **A :**Shoot fresh weight; **B :**Root fresh weight; **C :**Shoot dry weight; **D :**Root dry weight. Means (three replicates) with the same letter are not significantly different at $p<0.05$.

تحت تنش شوری، نشت الکترولیتی غشاء افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد یافت ($p<0.05$) (شکل D۲). میزان این پارامتر در شوری ۷۰ میلی‌مولار، ۲/۱ برابر و در شوری ۱۴۰ میلی‌مولار، ۲/۶ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد که از نظر آماری نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. پرایمینگ با EBL فقط در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش نشت الکترولیتی در دو سطح ۷۰ و ۱۴۰ میلی-مولار کلریدسدیم شد (شکل D۲). کاهش پارامتر مذکور در این دو سطح شوری به‌ترتیب عبارت بود از ۱۱/۴– و ۱۸/۶– درصد. در شرایط بدون تنش، پرایمینگ با EBL تغییری در میزان این پارامتر به‌دنبال نداشت (شکل D۲).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم در بافت‌های ریشه گوجه‌فرنگی نشان داد که تحت تنش شوری میزان Na^+/K^+ نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافته است (شکل A۳). این افزایش تحت شوری ۷۰ میلی‌مولار ۱۷ و در شوری ۱۴۰ میلی‌مولار ۲۳/۵ برابر بیش از شاهد بود. نتایج آشکار کرد که پرایمینگ با EBL به-ویژه در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر در کاهش این نسبت مؤثر است ($p<0.05$) (شکل A۳). تحت شوری ۷۰ میلی‌مولار، تنها پرایمینگ در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود که توانست از نسبت Na^+/K^+ به-نحو معنی‌دار بکاهد ($p<0.05$)؛ میزان این کاهش ۴۷ درصد بود. تحت تنش ۱۴۰ میلی‌مولار، کاربرد هر دو سطح EBL توانست از میزان Na^+/K^+ در بافت‌های ریشه کم کند ($p<0.05$). این کاهش در سطح ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر ۳۴ درصد و در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر ۵۷/۵ درصد بود. در شرایط عادی پرایمینگ با EBL تغییری در میزان Na^+/K^+ باعث نشد (شکل A۳). نتایج نشان داد که در غلظت‌های ۷۰ و ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم میزان Na^+/K^+ در اندام‌های هوایی گیاهان گوجه فرنگی افزایش معنی‌دار می‌یابد ($p<0.05$) (شکل B۳). این افزایش در شوری ۷۰ میلی‌مولار، ۱۴ و در شوری ۱۴۰ میلی‌مولار ۲۱ برابر بیش از شاهد بود.

پرایمینگ بذر گوجه فرنگی با EBL (به‌جز شوری ۷۰ میلی‌مولار و پرایمینگ در سطح ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) توانست باعث کاهش Na^+/K^+ در اندام‌های هوایی گیاهان گوجه فرنگی شود (شکل B۳). این کاهش در شوری ۷۰ میلی‌مولار و پرایمینگ در سطح ۱

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]



شکل ۲- گیاهان ۳۰ روزه گوجه‌فرنگی که بذرشان با ۲۴-اپی براسینولید پرایم شده و تحت تنش شوری رویانده شده‌اند. **A:** محتوای کلروفیل کل؛ **B:** غلظت کاروتنوئیدها؛ **C:** محتوای پرولین آزاد؛ **D:** نشت الکترولیتی غشاء . میانگین های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Fig. 2. 30-day-old *Lycopersicon esculentum* plants whose seeds were primed with 24-epibrassinolide and grown under salt stress. **A** :Total chlorophyll content; **B** :Carotenoids concentration; **C** :Free proline concentration; **D** :Electrolyte leakage. Means (three replicates) with the same letter are not significantly different at $p<0.05$.

میلی‌گرم بر لیتر برابر بود با ۵۰ درصد (نسبت به شاهد شوری مربوطه). تحت شوری ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، EBL در سطح ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر ۴۲ درصد و در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر تا ۶۲ درصد از میزان این پارامتر کاست؛ این تفاوت اختلاف آماری نیز در برداشت. در شرایط بدون تنش، پرایمینگ با EBL تغییری در میزان این پارامتر ایجاد نکرد (شکل B۳).

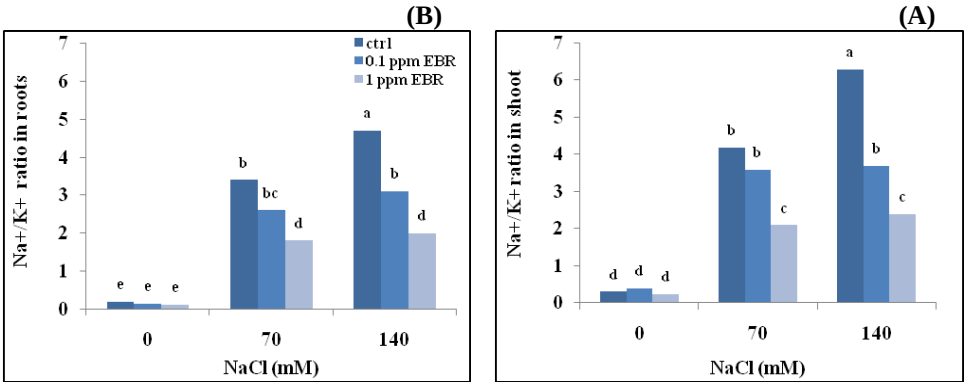
بحث

گیاهان معمولا تحت تأثیر عوامل نامطلوب محیطی نظیر خشکی یا شوری بالای آب و خاک قرار می‌گیرند. تحت تنش شوری، رشد و نمو گیاه به‌دلیل کمبود آب (ناشی از اثرات اسمزی کلریدسدیم) و سمیت یون‌هایی خاص (مانند ازدیاد Na^+ و Cl^-) کاهش می‌یابد. محققان روش‌های مختلفی را برای افزایش مقاومت به شوری و بهبود رشد گیاه در چنین شرایطی به‌کار می‌بندند. مطابق با داده‌های به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر، نتایج مطالعات قبلی نیز حاکی از توانایی EBL در ایجاد مقاومت به شوری در گیاهان بوده است (Divi *et al.*, 2010; Abbas *et al.*, 2013).

از طرفی، در تحقیقات انجام گرفته، کاربرد EBL هم بصورت محلول پاشی و هم خیساندن بذر گزارش شده است. با این وجود، با تحقیقی بر روی گندم، معلوم شد خیساندن بذر در محلول ۲۴-اپی براسینولید بیش از محلول‌پاشی بر برگ‌های این گیاه، باعث افزایش غلظت اندوژن براسینواستروئیدها در برگ گیاهچه‌های رشد یافته می‌شود (Janeczko & Swaczynova, 2010). همسو با چنین نتیجه‌ای، در تحقیق حاضر نیز پرایمینگ بذر با EBL تحت بررسی قرار گرفت.

در تحقیقات انجام یافته هیچ‌گاه به یک غلظت بهینه ثابت برای اثرگذاری براسینواستروئیدها اشاره نشده است زیرا غلظت بهینه EBL برای کاهش اثرات منفی کلریدسدیم به گونه گیاهی و شدت تنش شوری بستگی دارد. به‌عنوان مثال در حالی که در تحقیق حاضر، غلظت مناسب برای افزایش مقاومت به شوری گوجه‌فرنگی در شدت شوری بالا، ۱ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد، برای گیاه خیار غلظت ۰/۰۱ و برای یونجه معمولی ۰/۰۰۲ میلی‌گرم

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]



شکل ۳ – گیاهان ۳۰ روزه گوجه فرنگی که بذرشان با ۲۴-اپی براسینولید پرایم شده و تحت تنش شوری رویانده شده اند. **A:** نسبت یون‌های پتاسیم به سدیم در اندام‌های هوایی؛ **B:** نسبت یون‌های پتاسیم به سدیم در ریشه‌ها. میانگین‌های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Fig. 3. 30-day-old *Lycopersicon esculentum* plants whose seeds were primed with 24-epibrassinolide and grown under salt stress. **A** :K^+/Na^+ ratio in Shoot; **B** :K^+/Na^+ ratio in Root. Means (three replicates) with the same letter are not significantly different at $p<0.05$.

بر لیتر گزارش شده بود.

در تحقیق حاضر، در حضور کلریدسدیم از میزان پارامترهای مورد بررسی کاسته شد و با افزایش شدت تنش، این کاهش فزونی یافت. با این وجود، نتایج حاکی از تأثیر مثبت ۲۴-اپی براسینولید بر کاهش اثرات منفی کلریدسدیم بود. در حضور کلریدسدیم به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر- تأثیر EBL بر ارتقاء وزن تر و خشک هر دو بخش ساقه و ریشه قابل ملاحظه بود. مشابه با چنین حالتی افزایش وزن تر و خشک گیاهان یونجه و یا برنج که بذر آنها با براسینواستروئید پرایم شده بود نیز گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 2013). نکته جالب توجه آنکه در شرایط بدون تنش، پرایمینگ با EBL فقط بر افزایش وزن تر و خشک ریشه‌ها تأثیر مثبت داشت و اندام‌های هوایی تحت تأثیر این هورمون قرار نگرفتند.

در تحقیق حاضر، یکی از اثرات مثبت EBL بر روی گیاهان گوجه فرنگی بالا نگه داشتن غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شوری بود. در تحقیقی دیگر نیز که بر روی گیاهان خیار تحت تنش شوری انجام گرفت محققان به نتایج مشابهی دست یافتند (Xiao-min & Wei, 2013). بر این اساس تیمار EBL باعث بالا نگه داشتن سرعت فتوسنتز تحت تنش شوری می‌شود و به این ترتیب، رشد گیاهان تحت تنش افزایش می‌یابد. با مطالعه بر روی گیاهان نخود فرنگی تحت تنش شوری آشکار شد که استعمال EBL حتی به‌مدت دو ساعت و به میزان ۱۰۰ نانومولار باعث از سرگیری رشد ساقه می‌شود (Fedina, 2013). بر اساس یافته‌های این تحقیق، EBL فسفریلاسیون تیروزینی پروتئین‌های مرحله تاریکی فتوسنتز را خاموش کرده و از این طریق باعث بهبود فعالیت فتوسنتزی و متعاقباً شاخص‌های رشد گیاهان مذکور می‌شود. تأثیر مثبت EBL در افزایش محتوای کلروفیل کل، درگیاهان سویا تحت شرایط غرقابی نیز گزارش شده است (Lu *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر، EBL باعث افزایش پرولین به‌ویژه در سطح ۱ میلی‌گرم بر لیتر شد. در تحقیقات قبلی نیز تأثیر EBL بر افزایش محتوای پرولین تحت شرایط شوری عنوان شده بود (Abbas *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2013). به‌نظر می‌رسد سیستم دفاع بیوشیمیایی گیاه، از اسید آمینه پرولین به‌عنوان یک اسمولیت در برابر تنش غیرزیستی استفاده می‌کند. گفته می‌شود در بسیاری از گونه‌ها و در شرایط تنش، پرولین به‌عنوان محافظت‌کننده سلولی در بافت‌های گیاه تجمع و انواع اکسیژن واکنش‌گر را پاکروبی می‌نماید (Ashraf & Foolad, 2007). همچنین، افزایش محتوای پرولین آزاد باعث بهبود شاخص پایداری غشاء و پتانسیل آب برگ می‌شود (Rady, 2011; Hayat *et al.*, 2010). تأثیر براسینواستروئیدها از جمله EBL بر افزایش سطح پرولین آزاد در دیگر تنش‌های غیر زیستی مانند خشکی (گیاه برنج)، شرایط غرقابی (گیاه سویا) و سمیت روی (گیاه تربچه) نیز گزارش شده است (Lu *et al.*, 2006; Farooq *et al.*, 2009; Ramakrishna & Rao, 2015).

همسو با نتایج حاضر که نشان داد پرایمینگ با EBL از میزان نشت الکترولیت‌ها در گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش می‌کاهد؛

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]

دیگر گزارشات نیز نشان دهنده چنین تأثیری بود (Lu *et al*., 2006; Ding *et al*., 2012). محققان دلیل این امر را بیش از همه مربوط به کاهش تولید سوپراکساید و محتوای H_2O_2 و در نتیجه افزایش انسجام و پایداری غشاءهای سیتوپلاسمی دانسته‌اند (Zhang *et al*., 2007). مشابه با نتایج بررسی حاضر پیرامون تأثیرEBL بر روی نسبت Na^+/K^+ در گیاهان گوجه فرنگی، در مورد گیاهان بادمجان تحت تنش شوری نیز گزارش شده است که EBL باعث کاهش نسبت Na^+/K^+ می‌شود اگرچه مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نیست (Ding *et al*., 2012).

به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد داده‌های مقاله حاضر نشان دهنده تأثیر مثبت پرایمینگ بذر با ۲۴-اپی براسینولید در افزایش تحمل گیاه گوجه فرنگی به تنش شوری در مرحله گیاه کامل است. بر این اساس، مکانیسم این فرآیند می‌تواند با افزایش غلظت پرولین آزاد و رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز کاهش درصد نشت الکترولیت‌ها و نسبت Na^+/K^+ در بافت‌های ریشه و بخش هوایی مرتبط باشد.

سپاسگزاری

از خانم خورشید نیکزاد به پاس کمک های مفیدشان در انجام این پروژه قدردانی می‌شود.

REFERENCES

Abbas, S., Latif, H.H. and Elsherbiny, E.A. 2013. Effect of 24-epibrassinolide on the physiological and genetic changes on two varieties of pepper under salt stress conditions. – Pak. J. Bot. 45: 1273-1284.

Anuradha, S. and Rao, S.S.R. 2007. Effect of 24-epibrassinolide on the growth and antioxidant enzyme activities in radish seedlings under lead toxicity. – Indian J. Plant Physiol. 12: 396-400.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine, betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. – Environ. Exp. Bot. 59: 206-216.

Bajguz, A. and Hayat, S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. – Plant Physio. Biochem. 47: 1-8.

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

Ding, H.D., Zhu, X.H., Zhu, Z.W., Yang, S.J., Zha, D.S. and Wu, X.X. 2012. Amelioration of salt-induced oxidative stress in eggplant by application of 24-epibrassinolide. – Biol. Planta. 56: 767-770.

Divi, U.K., Rahman, T. and Krishna, P. 2010. Brassinosteroid-mediated stress tolerance in *Arabidopsis* shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways. – BMC Plant Biol. 10-151.

Farooq, M., Wahid, A., Basra, S.M.A. and Din, I.U. 2009. Improving the water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress. – J. Agro. Crop Sci. 195: 262-269.

Fedina, E.O. 2013. Effect of 24-epibrassinolide on pea protein tyrosine phosphorylation after salinity action. – Russian J. Plant Physiol. 60: 351-358.

Gomes, M.M.A. 2011. Physiological effects related to brassinosteroid application in plants. In Brassinosteroids: A Class of plant hormone (pp. 193-242). Springer Netherlands.

Hayat, S., Hasan, S.A., Yusuf, M., Hayat, Q. and Ahmad, A. 2010. Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiata*. – Environ. - Exp. Bot. 69: 105-112.

Janeczko, A. and Swaczynova, J. 2010. Endogenous brassinosteroids in wheat treated with 24-epibrassinolide. – Biol. Planta. 54: 477-482.

Khripach, V., Zhabinskii, V. and de Groot, A. 2000. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. – Ann. Bot. 86: 441-447.

Kumar, M., Sirhindi, G., Bhardwaj, R., Kumar, S. and Jain, G. 2010. Effect of exogenous H_2O_2 on antioxidant enzymes of *Brassica juncea* L. seedlings in relation to 24-epibrassinolide under chilling stress. – Indian J. Biochem. Biophys. 47: 378-382.

Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: Current protocols in food analytical chemistry, F4.3.1-F4.3.8. John Wiley and Sons, Inc. New York.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]

Lu, X., Chen, Y., Gong, W. and Chen, Y. 2006. Effect of brassinolide on the seedling growth and waterlogging resistance of soybean. – Chinese Agri. Sci. Bul. 23: 37-38.

Mahesh, B., Parshavaneni, B., Ramakrishna, B. and Rao, S.S.R. 2013**.** Effect of brassinosteroids on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.) under PEG-6000 induced water stress. – American J. Plant Sci. 4: 2305-2313.

Rady, M.M. 2011**.** Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress. – Sci. Hort. 129: 232-237.

Ramakrishna, B., and Rao, S.S.R. 2015**.** Foliar application of brassinosteroids alleviates adverse effects of zinc toxicity in radish (*Raphanus sativus* L.) plants. –Protoplasma 252: 665- 677.

Shahid, M.A., Pervez, M.A., Balal, R.M., Mattson, N.S., Rashid, A. and Ahmad, R. 2011**.** Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.). – Australian J. Crop Sci. 5: 500-510.

Sharma, I., Ching, E., Saini, S., Bhardwaj, R. and Pati, P.K. 2013**.** Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1. – Plant Physiol. Biochem. 69: 17-26.

Tuna, A.L., Kaya, C., Higgs, D., Murillo-Amador, B., Aydemir, S. and Girgin, A.R. 2008**.** Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. – Environ. Exp. Bot. 62: 10-16.

Xi, Z., Wang, Z., Fang, Y., Hu, Z., Hu, Y. and Deng, M. 2013**.** Effects of 24-epibrassinolide on antioxidation defense and osmoregulation systems of young grapevines (*V. vinifera* L.) under chilling stress. – Plant Growth Regul. 71: 57-65.

Xiao Jian, X., Zhang, Y., Wu, J.X., Wang, J.T., Zhou, Y.H., Shi, K., Yu, Y.L. and Yu, J.Q. 2009**.** Brassinosteroids Promote Metabolism of Pesticides in Cucumber. – J. Agri. Food Chem. 57: 8406-8413.

Xiao-min, L.U. and Wei, Y.A.N.G. 2013**.** Alleviation effects of brassinolide on cucumber seedlings under NaCl stress. – Yingyong Shengtai Xuebao 24: 24-30.

Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, X.J. and Knapp, A. 2007**.** Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. – Crop and Pasture Sci. 58: 811-815.

*****

How to cite this article:

Gholipoor, K. and Roshandel, P. 2019. Effects of seed pretreatment with 24-brassinolide on physiological and biochemical characters in tomato plants under salt stress. – Nova Biol. Reperta 5: 449-457.

قلی‌پور. ک. و روشندل، پ. ۱۳۹۷. بررسی تأثیر پیش تیمار بذر با ۲۴-اپی براسینولید بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۵: ۴۵۷-۴۴۹.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.7.1]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.449]