به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

صفحه‌های ۵۶۷-۵۵۷

بررسی پاسخ خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار به پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی ۲۴-اپی‌براسینولید

زهرا ساردویی کرا[۱]، وحیدرضا صفاری[۲]* و ایرج توسلیان[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنرکرمان، کرمان – ایران
۲. دانشیار گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان – ایران
۳. استادیار گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان – ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۹/۰۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی ۲۴-اپی براسینولید بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان، در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی ۲۴-اپی براسینولید با چهار غلظت (۰، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) بود. نتایج نشان داد که خصوصیات رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی با کاربرد این تنظیم‌کننده رشد به صورت پیش‌تیمار و محلول‌پاشی افزایش یافت. بیشترین وزن تر اندام هوایی، ریشه، وزن تر و خشک گل در تیمار ترکیبی (پیش‌تیمار ۰/۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۰/۱ میکرومولار) بود که به‌ترتیب موجب افزایش ۷۹، ۳۳، ۲۸ و ۲۶ درصد نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین، بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در ترکیب مذکور یافت شد، به گونه‌ای که به ترتیب موجب افزایش کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید حدود ۲/۴، ۳/۱، ۲/۵۸ و ۲/۷ برابر در مقایسه‌با شاهد گردید. این ترکیب سبب افزایش ۳۵ درصدی پروتئین و ۱۸/۳ درصدی قندهای احیا نسبت به شاهد شد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که ۲۴-اپی براسینولید می‌تواند با افزایش وزن گل و اندام هوایی موجب افزایش رشد و نمو و عملکرد بستری گیاه همیشه‌بهار در فضای سبز گردد.

کلیدواژه‌ها: پروتئین، تنظیم‌کننده رشد، خصوصیات رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، قند احیا

* نویسنده مسئول Email: safariv@uk.ac.ir

۱. مقدمه

گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) از تیره میناسانان[1] است. این گیاه معمولاً به عنوان گل یکساله در برنامه گلکاری قرار می‌گیرد و به طور گسترده در باغ‌ها و فضای سبز کشت و به دلیل رنگ زیبا و تداوم گلدهی مورد توجه قرار گرفته است. گیاه همیشه‌بهار اغلب به عنوان مرز بین سایر گل‌ها کشت می‌شود، زیرا رنگ زرد آن‌ها باعث می‌شود رنگ سایر گل‌ها بهتر نمایان شود. این گیاه در مکان‌های آفتابی و سایه آفتاب ایران به خوبی رشد کرده و به مراقبت کمی نیاز دارد [۱۱]. ارقام دارویی این گیاه دارای ترکیبات مهمی نظیر ساپونین‌ها، گلیکوزیدها و فلاونوئیدها بوده و به واسطه آنها دارای اثرات ضدویروسی، ضدتوموری و آنتی‌اکسیدانی است [۷].

اولین بار براسینواستروئیدها از دانه گرده گیاه کلزا استخراج و به عنوان ششمین گروه از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در نظر گرفته شدند [۱۶]. براسینواستروئیدها تقریباً در تمام قسمت‌های گیاهی یافت می‌شوند و بیشترین مقدار آن‌ها در اندام‌های زایشی (دانه گرده و بذرهای نارس) مشاهده شده است [۱۰]. براسینواسترئیدها با افزایش رشد طولی سلولی [۸]، افزایش تقسیم سلولی [۹]، تغییرات در ساختمان و نفوذپذیری غشای پلاسمایی، افزایش پمپ پروتون [۱۶] تقویت سنتز پروتئین و اسید نوکلئیک [۳] و افزایش فتوسنتز [۱۲]، رشد را بهبود می بخشند. این تنظیم‌کننده رشد با تأثیر مثبت بر فرآیندهای الگوبرداری و ترجمه، موجب افزایش رشد بافت گیاهی می‌شوند [۲۷]. ۲۴-اپی براسینولید تقسیم سلولی را در پروتوپلاست برگ‌های اطلسی و گیاه کلم افزایش می‌دهد [۱۴ و ۱۶].

تیمار گیاه آرابیدوپسیس با براسینواستروئید رشد گیاه را با تقسیم سلولی در مریستم انتهایی افزایش می‌دهد [۲]. مطالعات روی اپی کوتیل گیاه سویا، توانایی براسینواستروئیدها را در تقویت رشد طولی سلول‌ها نشان می‌دهد [۱۶]. استفاده از ۲۴-اپی براسینولید در یاس رازقی با غلظت‌های ۱ تا ۴ میکرومولار سبب افزایش کلروفیل، سطح برگ، وزن تر و خشک و شمار گل در گیاه گردید [۱]. کاربرد ۲۴ و ۲۸-اپی‌براسینولید در گیاه شمعدانی سبب افزایش وزن تر و خشک ساقه و ریشه شد [۲۶]. ۲۴-اپی براسینولید با غلظت‌های ۰/۵ تا ۳ میکرومولار سبب افزایش میزان کلروفیل و نرخ فتوسنتز در گیاه شمعدانی شد [۲۵]. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۲۴-اپی‌براسینولید در شاخص‌های رشد و نمو، گلدهی گیاه همیشه‌بهار به عنوان یکی از رایج‌ترین گل‌های باغچه‌ای در کشور از دیدگاه کشت بستری و کاربرد در فضای سبز بود.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. خاک مورد استفاده نمونه‌ای مرکب از ۲ قسمت ماسه بادی و ۱ قسمت خاک زراعی بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل چهار سطح پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی ۲۴- اپی براسینولید (۰، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) با ۳ تکرار در گلخانه تحت شرایط کنترل شده با دمای متوسط روزانه ۳ ± ۲۲ و دمای شبانه ۳ ± ۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰-۵۰ درصد و شدت روشنایی ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه در ۱۴ ساعت طول روز انجام شد. پیش از اعمال تیمارها بذرها به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد ضدعفونی و سپس به خوبی با آب مقطر شسته شدند. سپس، در گلدان‌هایی به قطر ۲۲ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر کشت شدند. برای پیش‌تیمار بذری با محلول ۲۴-اپی‌براسینولید بذرهای ضدعفونی شده به مدت ۲۴ ساعت درون محلول‌های تهیه شده در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و تیمار صفر

1. Asteraceae

میکرومولار ۲۴-اپی براسینولید به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که در آن فقط از آب مقطر استفاده شد. محلول‌پاشی این تنظیم‌کننده رشد نیز طی دو مرحله و در مراحل ۶ برگی و ابتدای گلدهی صورت گرفت و گیاهان شاهد نیز با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. بافت خاک مورد استفاده لوم شنی، EC خاک ۱/۸ میلی‌موس بر سانتی‌متر و pH آن ۷/۶ بود. هر گلدان شامل یک بوته و معیار آبیاری زمان رسیدن به تبخیر ۵۰ میلی‌لیتر در تشتک تبخیر بود.

وزن تر

وزن تر اندام های مختلف به وسیله ترازوی دقیق آزمایشگاهی Mettler Toledo مدل AX204 وزن گردیدند و برحسب گرم بیان شدند.

وزن خشک

برای تعیین وزن خشک گل، نمونه‌ها در داخل آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند و سپس با ترازوی دقیق آزمایشگاهی Mettler Toledo مدل AX204 وزن گردیدند و برحسب گرم بیان شدند.

اندازه‌گیری رنگیزه‌ها

اندازه‌گیری رنگیزه‌ها به روش لیچتندلر[1] [۲۰] انجام و غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید به ترتیب با استفاده از معادلات (۱، ۲، ۳ و ۴) محاسبه و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید:

$$Chla = 12.25\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.8} \quad (۱)$$

$$Chlb = 21.21\ A_{646.8} - 5.1A_{663.2} \quad (۲)$$

$$ChlT = chla + chlb \quad (۳)$$

$$Car = (1000A_{470} - 1.8chla - 85.02chlb)\ /198 \quad (۴)$$

در این رابطه‌ها، Chl.a، Chl.b، Chl.T و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گرانتوفیل) می‌باشد. غلظت برحسب میلی‌گرم بر گرم عصاره گیاهی تعیین گردید.

سنجش مقدار پروتئین کل

برای سنجش پروتئین از روش برادفورد[2] استفاده گردید [۵].

قندهای احیا

قند احیا به روش سوموگی[3] اندازه‌گیری شد [۲۴]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار قندهای احیاکننده برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ از معادله (۵) محاسبه گردید که FW، TW وDW به ترتیب وزن تر، تورژسانس کامل و وزن خشک می‌باشد [۲۲] .

$$RWC = \frac{Fw - Dw}{Tw - Dw} \times 100 \quad (۵)$$

نشت یونی

با استفاده از معادله (۶) زیر میزان نشت یونی محاسبه گردید:

$$MSI = \left({EC_1}/{EC_2} \right) * 100 \quad (۶)$$

EC_1 و EC_2 به ترتیب میزان نشت یونی اولیه و ثانویه می‌باشند [۲۱].

1. Lichtenthaler

2. Bradford

3. Somogy

جدول ۱ . تجزیه واریانس تأثیر پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ۲۴- اپی‌براسینولید بر برخی خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات											
		وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن ترگل	وزن خشک گل	کلروفیل آ	کلروفیل ب	کلروفیل کل	کارتنوئید	پروتئین	قند احیا	محتوی رطوبت نسبی	نشت یونی
پیش‌تیمار	۳	۷۴۶/۷**	۱۵/۶**	۰/۰۳۴۸**	۰/۰۰۱۵**	۶/۶۹**	۱/۳۸**	۱۴/۴۷**	۰/۸۷**	۱۰/۶**	۲۶/۴**	۸۵/۶**	۴۹/۶**
محلول‌پاشی	۳	۴/۳۳**	۱/۶**	۰/۰۱۸۶**	۰/۰۰۰۷۹**	۲/۸۵**	۰/۵۸**	۶/۰۲**	۰/۱۴۹**	۲/۴**	۸/۰۵**	۲۶/۴**	۲۱/۵**
پیش‌تیمار × محلول‌پاشی	۹	۱۸۰/۴۸**	۱/۵۸**	۰/۰۰۲۹**	۰/۰۰۰۴**	۰/۹۳**	۰/۳۷**	۲/۴۵**	۰/۱۲۶**	۱۴/۵**	۶/۸۹**	۲۳/۶**	۱۳/۸**
خطا	۳۲	۵/۰۵	۰/۱۳۴	۰/۰۰۰۵۶	۰/۰۰۱۶	۰/۸۸	۰/۰۷	۰/۰۹۳	۰/۰۰۷	۰/۲۱	۱/۹	۲/۶۵	۱/۳۴
ضریب تغییرات (٪)	–	۳/۸۶	۹/۹	۲/۹۸	۴/۰۹	۶/۹	۸/۵	۵/۶۸	۷/۳	۳/۸	۵/۸	۱/۸۷	۵/۶۱

** – معنی‌دار در سطح یک درصد

آنالیز آماری

نتایج با استفاده از رویه ANOVA نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده گردید.

۳. نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به شاخص‌های مورفولوژیک، فیزیولویک و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار نشان داد که علاوه بر معنی‌دار بودن اثرهای ساده پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی، اثرات متقابل این عامل‌ها برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار گردید (جدول ۱).

۱.۳. وزن تر اندام‌هوایی و ریشه، وزن تروخشک گل

تجزیه واریانس بیانگر این امر بود که پیش‌تیمار، محلول‌پاشی و اثرات متقابل روش استفاده‌ی ۲۴-اپی براسینولید بر وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن تر و خشک گل معنی‌دار بود (جدول ۱). باتوجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که بیشترین میزان وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن تر و خشک گل مربوط به تیمار ترکیبی (پیش‌تیمار ۰/۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۰/۱ میکرومولار) ۲۴-اپی براسینولید بود که به‌ترتیب موجب افزایش ۷۹، ۳۳، ۲۸ و ۲۵ درصدی نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۲). کاربرد این تنظیم‌کننده رشد به صورت پیش‌تیمار بذری حاکی از اثرات بیشتر آن بر وزن تر ریشه و وزن تر و خشک گل نسبت به کاربرد آن به صورت محلول‌پاشی بود (جدول ۲).

کلیه تیمارهای ترکیبی به‌غیر از (پیش‌تیمار ۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۱۰ میکرومولار) و (پیش‌تیمار ۱۰ میکرومولار به همراه محلول‌پاشی ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک گل نسبت به شاهد گردید (جدول ۲).

مشابه نتایج پژوهش حاضر در شمعدانی [۲۶]، کلم قرمز [۶] و یاس رازقی [۱] گزارش شده است. اثر براسینواستروئید در تقویت و بهبود رشد می‌تواند دلایل گوناگونی داشته باشد. از دلایل بهبود رشد گیاهان می‌توان اثر این تنظیم‌کننده رشد را در سنتز پروتئین و افزایش رنگیزه‌ها نام برد [۱۵، ۱۶ و ۱۸]. استفاده از براسینواستروئید در تحریک رشد می‌تواند از طریق اثر بر نفوذپذیری غشا، ساختمان و فعالیت‌های غشایی نیز باشد [۱۴]. استفاده از ۲۴-اپی براسینولید سبب بهبود میزان فتوسنتز و افزایش محتوی کلروفیل در شمعدانی شد [۲۵]. سطوح بالای کلروفیل میزان فتوسنتز را بالا برده و ممکن است به افزایش سطوح کربوهیدرات کمک کند. گزارش‌های متعددی در ارتباط با افزایش کلروفیل بعد از کاربرد براسینواستروئید وجود دارد. در جلبک تک‌سلولی *Chlorella vulgaris* کاربرد براسینواستروئید سطوح کلروفیل را افزایش داد [۴]. بررسی‌های انجام شده بر روی گیاه خردل هندی نیز نشان داد که ۲۸-هومو براسینولید شدت فتوسنتز را در این گیاه افزایش داد [۱۳]. بنابراین، به نظر می‌رسد که ۲۴-اپی براسینولید با افزایش پروتئین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوی کلروفیل و اثر بر نفوذپذیری غشاء سبب بهبود خصوصیات رویشی می‌گردد.

۲.۳. رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از تأثیر معنی‌دار محلول‌پاشی، پیش‌تیمار و اثرات متقابل محلول‌پاشی و پیش‌تیمار بر کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید در تیمار ترکیبی

(پیش‌تیمار ۰/۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۰/۱ میکرومولار) ۲۴-اپی براسینولید بود، به گونه‌ای که به ترتیب موجب افزایش ۲/۴، ۳/۱، ۲/۵۸ و ۲/۷ برابری نسبت به تیمار شاهد گردید. در کلیه رنگیزه‌ها نتایج حاکی از اثرات مثبت کاربرد این تنظیم‌کننده رشد به صورت پیش تیمار و محلول‌پاشی بود (جدول ۳). ۲۴-اپی براسینولید به صورت محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ و ۱ میکرومولار بر میزان کارتنوئید در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۳).

جدول ۲ . اثرات پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ۲۴-اپی براسینولید بر وزن تر و خشک گیاه همیشه‌بهار

پیش‌تیمار بذر (μM)	محلول‌پاشی (μM)	وزن تر اندام هوایی (g/plant)	وزن تر ریشه (g/plant)	وزن تر گل (g/plant)	وزن خشک گل (g/plant)
۰	۰	۴۲/۳ ± ۶/۱^{h}†	۱۶/۰۳ ± ۰/۲۵^{d}	۲/۲۸ ± ۰/۰۳^{e}	۰/۵۲ ± ۰/۰۱^{e}
	۰/۱	۴۹/۶ ± ۱/۸^{g}	۱۶/۱۱ ± ۰/۱۱^{d}	۲/۴ ± ۰/۰۲^{cde}	۰/۵۴ ± ۰/۰۱۵^{bcde}
	۱	۵۳/۳ ± ۱/۳۶^{f}	۱۶/۳ ± ۰/۱^{d}	۲/۴۴ ± ۰/۰۳^{cde}	۰/۵۵۶ ± ۰/۰۰۳^{bcde}
	۱۰	۵۶/۳ ± ۱/۳۶^{def}	۱۶/۴ ± ۰/۱^{d}	۲/۴۴ ± ۰/۱۵^{cde}	۰/۵۵۶ ± ۰/۰۰۶^{bcde}
۰/۱	۰	۵۴ ± ۳/۲^{f}	۱۸/۴۳ ± ۰/۵^{bc}	۲/۴۴ ± ۰/۰۲^{cde}	۰/۵۵۲ ± ۰/۰۰۳^{bcde}
	۰/۱	۷۶ ± ۰/۹^{a}	۲۱/۴ ± ۰/۳۶^{a}	۲/۹۲ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۶۶ ± ۰/۰۰۹^{a}
	۱	۶۳ ± ۰/۸۹^{b}	۱۹/۴۳ ± ۰/۴^{b}	۲/۶ ± ۰/۰۲^{b}	۰/۵۸۴ ± ۰/۰۰۵^{b}
	۱۰	۶۲ ± ۰/۸۹^{b}	۱۹/۰۸ ± ۰/۰۷^{bc}	۲/۵۶ ± ۰/۰۱^{bc}	۰/۵۸ ± ۰/۰۰۶^{bc}
۱	۰	۵۷ ± ۱/۸^{cdef}	۱۸/۶ ± ۰/۱^{bc}	۲/۴۸ ± ۰/۰۷^{bcd}	۰/۵۶۴ ± ۰/۰۰۲^{bcd}
	۰/۱	۶۰ ± ۱/۸^{bcd}	۱۹/۰۵ ± ۰/۲۷^{bc}	۲/۵۲ ± ۰/۰۲^{bc}	۰/۵۶۴ ± ۰/۰۰۲^{bcd}
	۱	۶۰ ± ۲/۳۶^{bcd}	۱۸/۸۶ ± ۱/۶^{bc}	۲/۴۸ ± ۰/۰۱^{bcd}	۰/۵۶۴ ± ۰/۰۰۷^{bcd}
	۱۰	۶۱ ± ۱/۳۶^{bc}	۱۸/۵۳ ± ۰/۷۵^{bc}	۲/۴۴ ± ۰/۰۰۵^{cde}	۰/۵۵۲ ± ۰/۰۰۵^{bcde}
۱۰	۰	۶۱/۶ ± ۰/۸۹^{b}	۱۸/۷ ± ۰/۶۵^{bc}	۲/۵۲ ± ۰/۰۰۹^{bc}	۰/۵۶۸ ± ۰/۰۰۲^{bcd}
	۰/۱	۵۹ ± ۰/۸۹^{bcde}	۱۸/۲۵ ± ۰/۰۹^{bc}	۲/۴ ± ۰/۰۰۷^{cde}	۰/۵۴۸ ± ۰/۰۰۷^{cde}
	۱	۵۹ ± ۱/۲^{bcde}	۱۶/۳۵ ± ۰/۰۹^{d}	۲/۳۲ ± ۰/۰۳^{e}	۰/۵۲۸ ± ۰/۰۰۱^{e}
	۱۰	۵۵/۵ ± ۱/۱^{ef}	۱۶/۳۴ ± ۰/۰۹^{d}	۲/۲۸ ± ۰/۰۱۴^{e}	۰/۵۲۴ ± ۰/۰۰۱^{e}

† اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد و در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۳ . تأثیر پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ۲۴- اپی براسینولید بر میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید گیاه همیشه‌بهار

پیش‌تیمار بذر (μM)	محلول‌پاشی (μM)	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	کارتنوئید (mg/g FW)
۰	۰	†۳/۵۳ ± ۰/۳^{g}	۰/۸۴ ± ۰/۰۵^{h}	۳/۳۷ ± ۰/۳^{g}	۰/۷ ± ۰/۰۳۵^{h}
	۰/۱	۳/۱۸ ± ۰/۲۴^{f}	۱/۱۲ ± ۰/۱^{g}	۴/۳ ± ۰/۳۶^{ef}	۰/۷۸ ± ۰/۰۱۵^{gh}
	۱	۳/۲۲ ± ۰/۰۵^{f}	۱/۱۴ ± ۰/۰۱^{g}	۴/۳۶ ± ۰/۳^{ef}	۰/۸ ± ۰/۰۳^{gh}
	۱۰	۳/۲۸ ± ۰/۲^{ef}	۱/۲۲ ± ۰/۰۹^{fg}	۴/۵ ± ۰/۰۳^{ef}	۰/۹ ± ۰/۰۳۵^{fg}
۰/۱	۰	۳/۳۴ ± ۰/۴^{def}	۱/۰۴ ± ۰/۱۱^{g}	۴/۳۹ ± ۰/۳^{ef}	۰/۹۶ ± ۰/۱۱^{ef}
	۰/۱	۶/۱۷ ± ۰/۶^{a}	۲/۶۲ ± ۰/۲^{a}	۸/۷۹ ± ۰/۷^{a}	۱/۹ ± ۰/۰۷^{a}
	۱	۴/۹۴ ± ۰/۱۱^{b}	۲/۰۹ ± ۰/۱۱^{b}	۷/۰۴ ± ۰/۲۴^{b}	۱/۵۶ ± ۰/۱۲^{b}
	۱۰	۴/۷۲ ± ۰/۱۷^{b}	۱/۸۷ ± ۰/۲^{c}	۶/۵۹ ± ۰/۳^{bc}	۱/۴ ± ۰/۲^{b}
۱	۰	۳/۳۹ ± ۰/۱۱^{def}	۱/۱ ± ۰/۰۷^{g}	۴/۵۴ ± ۰/۱۸^{ef}	۱/۱۶ ± ۰/۰۱^{cd}
	۰/۱	۴/۵۶ ± ۰/۰۷^{b}	۱/۶۷ ± ۰/۰۲^{cd}	۶/۲۴ ± ۰/۰۸^{c}	۱/۳ ± ۰/۰۴^{c}
	۱	۳/۹۸ ± ۰/۰۷^{c}	۱/۶۵ ± ۰/۱۳^{d}	۵/۶۳ ± ۰/۰۶^{d}	۱/۲ ± ۰/۱^{cd}
	۱۰	۳/۹ ± ۰/۱^{c}	۱/۵ ± ۰/۱^{de}	۵/۴ ± ۰/۲^{d}	۱/۱۶ ± ۰/۰۱^{cd}
۱۰	۰	۳/۷۴ ± ۰/۲۴^{cde}	۱/۷ ± ۰/۱۶^{ef}	۵/۴۱ ± ۰/۴d	۱/۵ ± ۰/۰۴^{b}
	۰/۱	۳/۸۵ ± ۰/۳۳^{cd}	۱/۴۱ ± ۰/۰۲^{ef}	۵/۴۵ ± ۰/۲۲^{d}	۱/۱ ± ۰/۱^{de}
	۱	۳/۲ ± ۰/۳^{f}	۱/۴ ± ۰/۰۵^{ef}	۴/۶ ± ۰/۳^{e}	۰/۹۹ ± ۰/۰۱^{ef}
	۱۰	۳/۱ ± ۰/۲^{f}	۱/۲۲ ± ۰/۰۲^{fg}	۴/۳۲ ± ۰/۰۸^{ef}	۰/۹۶ ± ۰/۱۱^{ef}

† اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد و در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

این نتایج با نتایج یافته‌های قبلی در مورد یاس‌رازقی [۱]، شمعدانی [۲۵] و خیار [۲۹] بود، مطابقت داشت. یکی از دلایل افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی تأثیر این ترکیب بر فعالیت هورمون جیبرلین بیان شد. براسینواستروئید بر فعالیت جیبرلین اثر تشدیدکنندگی دارد [۲۹].

۳.۳. پروتئین، قند احیا، رطوبت نسبی و نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پیش‌تیمار بذری، محلول‌پاشی و اثرات متقابل آنها بر پروتئین، قند احیا رطوبت نسبی و نشت یونی معنی‌دار بود (جدول ۱). باتوجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد، بیشترین میزان پروتئین مربوط به تیمار ترکیبی (پیش‌تیمار ۰/۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۰/۱ میکرومولار) ۲۴-اپی براسینولید بود که موجب افزایش ۳۵ درصدی پروتئین نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین، بالاترین میزان قند احیا و رطوبت نسبی مربوط به برهمکنش (پیش‌تیمار ۰/۱

میکرومولار به همراه محلول‌پاشی ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) ۲۴-اپی براسینولید بود (جدول ۴). ۲۴-اپی براسینولید ۱۰ میکرومولار به صورت پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی به‌ترتیب سبب افزایش ۱۱/۸ و ۱۱/۰۲ درصدی پروتئین نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۴).

تیمارهای توأم (پیش‌تیمار ۰/۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۱ میکرومولار) و (پیش‌تیمار ۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۰/۱ میکرومولار) به‌ترتیب باعث افزایش ۲۷/۶ و ۲۹ درصدی پروتئین و ۲۳ و ۱۶/۸ درصدی قندهای احیا در مقایسه با تیمار شاهد شدند. کاربرد این تنظیم‌کننده رشد به صورت پیش‌تیمار ۱۰ میکرومولار و تیمارهای ترکیبی (پیش‌تیمار ۰/۱ میکرومولار به همراه محلول‌پاشی ۰/۱، ۱ و ۱۰ میکرومولار) و (پیش‌تیمار ۱ میکرومولار + محلول‌پاشی ۰/۱ میکرومولار) سبب افزایش محتوی رطوبت نسبی به ترتیب به میزان ۵، ۱۳، ۱۰، ۹/۸ و ۸ درصد نسبت به عدم مصرف گردید. کلیه تیمارهای استفاده شده موجب کاهش معنی‌دار درصد نشت یونی نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۴).

جدول ۴ . اثرات پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ۲۴- اپی‌براسینولید بر پروتئین، قند احیا نشت یونی و رطوبت نسبی گیاه همیشه‌بهار

پیش‌تیمار بذر (μM)	محلول‌پاشی (μM)	پروتئین (mg/g FW)	قند احیا (mg/g FW)	رطوبت نسبی (٪)	نشت یونی (٪)
۰	۰	†۱۱/۱۶ ± ۱^{d}	۲۲ ± ۰/۲^{d}	۸۳/۴ ± ۱/۷^{d}	۲۵/۶ ± ۰/۶^{a}
	۰/۱	۱۱/۲ ± ۰/۲۴^{d}	۲۲/۳ ± ۱/۱^{d}	۸۵ ± ۱/۷۴^{cd}	۲۱/۸ ± ۰/۴^{bc}
	۱	۱۱/۳۶ ± ۰/۵^{d}	۲۲/۵ ± ۱/۵^{d}	۸۵/۹ ± ۱/۵^{cd}	۲۲/۲ ± ۰/۶^{bc}
	۱۰	۱۲/۳۹ ± ۰/۰۶^{c}	۲۲/۸ ± ۱/۸^{d}	۸۵/۹ ± ۲/۸۶^{cd}	۲۱/۲۶ ± ۰/۳۶^{bc}
۰/۱	۰	۱۱/۲۳ ± ۰/۲^{d}	۲۲ ± ۰/۸۸^{d}	۸۳/۸ ± ۰/۴^{d}	۲۳ ± ۳/۵^{b}
	۰/۱	۱۵/۱۵ ± ۰/۲۱^{a}	۲۸/۲ ± ۱/۸^{a}	۹۴/۲ ± ۰/۹^{a}	۱۶/۲۳ ± ۰/۷^{e}
	۱	۱۴/۲۵ ± ۰/۲۳^{b}	۲۷/۱ ± ۰/۹۶^{ab}	۹۲ ± ۱/۳^{ab}	۱۷ ± ۰/۸^{e}
	۱۰	۱۳/۵ ± ۰/۱۷^{d}	۲۵/۸ ± ۰/۷۶^{abc}	۹۱/۹ ± ۰/۴۶^{ab}	۱۶/۷ ± ۰/۸^{e}
۱	۰	۱۱/۳ ± ۰/۴^{d}	۲۲/۳ ± ۰/۲^{d}	۸۵/۴ ± ۱/۲^{cd}	۲۲ ± ۰/۸^{bc}
	۰/۱	۱۲/۶ ± ۰/۴۳^{c}	۲۵/۷ ± ۰/۶^{bc}	۹۰ ± ۲/۸^{b}	۱۷ ± ۰/۴^{e}
	۱	۱۲/۵۳ ± ۰/۴۵^{c}	۲۳/۱ ± ۰/۹۵^{d}	۸۶ ± ۲/۸^{cd}	۱۹/۲۶ ± ۰/۱۷^{d}
	۱۰	۱۱/۵ ± ۰/۵^{d}	۲۴ ± ۱/۸^{cd}	۸۵/۵ ± ۰/۵^{cd}	۲۰/۵ ± ۱/۱^{cd}
۱۰	۰	۱۲/۴۸ ± ۰/۲^{c}	۲۳/۵ ± ۱/۳^{cd}	۸۷/۶ ± ۱/۲^{c}	۲۲/۴ ± ۰/۲^{bc}
	۰/۱	۱۱/۳۸ ± ۰/۶^{d}	۲۲/۴۱ ± ۰/۳۶^{d}	۸۴/۲ ± ۰/۲۲^{d}	۲۲/۷ ± ۱/۶^{bc}
	۱	۱۱/۲۸ ± ۰/۸^{d}	۲۲/۶ ± ۱/۴^{d}	۸۳/۶ ± ۱/۶۵^{d}	۲۲/۲ ± ۰/۹^{bc}
	۱۰	۱۱/۲۲ ± ۰/۳۴^{d}	۲۲/۳ ± ۱/۱۶^{d}	۸۳/۶ ± ۰/۶۵^{d}	۲۲/۴ ± ۰/۴^{bc}

† اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد و در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند.
در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

براسینواستروئیدها با افزایش فعالیت دستگاه نسخه‌برداری و افزایش فعالیت RNA پلی‌مراز باعث افزایش سنتز پروتئین و با کاهش فعالیت RNAase و DNAase و پروتئازها از تجزیه آنها جلوگیری می‌کند [۲۸]. در مورد دلایل افزایش پروتئین توسط براسینواستروئید گزارش شده که علت تشکیل پروتئین‌ها به احتمال زیاد به دلیل القاء بیان ژن‌های آنها می‌باشد [۱۹]. در تربچه [۱۷] و خیار [۲۳] میزان قندهای احیا افزایش یافت که با نتایج حاصل در این پژوهش هم‌خوانی دارد.

به‌طورکلی، توسعه سلول‌ها به جذب آب و انبساط‌پذیری دیواره سلول‌ها بستگی دارد و براسینولیدها از طریق سست و نرم کردن دیواره سلولی، کاهش وسعت همی‌سلولز و اتصال صحیح پلیمرهای جدید در دیواره‌های در حال گسترش، باعث حفظ ضخامت، تمامیت و پایداری دیواره سلولی شده و نشت یونی را کاهش می‌دهد. احتمالاً براسینواستروئید روی خصوصیات الکتریکی، نفوذپذیری، پایداری و فعالیت آنزیم‌های غشا اثر می‌گذارد. به‌طورکلی، برای رشد، دیواره سلولی بایستی تحت تأثیر فشار آماس قرار گیرد. سلول‌های گیاه در پاسخ به براسینواستروئیدها بعضی از عوامل نرم‌کننده دیواره سلولی را خارج می‌کنند که انبساط‌پذیری دیواره سلولی را افزایش می‌دهند [۱۵]. کاربرد براسینو استروئید ۰/۰۱ میکرومولار در شلغم نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهد که به احتمال ناشی از اثر براسینواستروئید بر طویل شدن سلول می‌باشد [۱۴].

۴- نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که پیش‌تیمار بذری، محلول‌پاشی و تیمارهای ترکیبی آن‌ها می‌تواند با افزایش محتوی رطوبت نسبی، پروتئین، قندهای احیا و رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب بهبود خصوصیات رشدی در گیاه همیشه بهار گردد. تأثیرهای کاربرد احتمالی این ماده در گیاهان بستری نیازمند پژوهش‌های بیشتری است.

منابع

1. Akram A, Aslan Khan M, Yonis A and Ashfagh M (2014) Exogenous application of 24-epibrassinolid on morphological, biochemical attributes and essential oil contents of *Jasminum sambac* L.. Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 51: 881-886.
2. Arteca JM and Arteca RN (2001) Brassinosteroid-induce exaggerated growth in hydroponically grown Arabidopsis plants. Physiolgia Plantarum. 112: 104-112.
3. Bajgus A (2000) Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. Plant Physiology and Biochemistry. 38: 209-215.
4. Bajguz A and Czerpak R (1998) Physiological and biochemical role of brassinosteroids and their structure activity relationship in the green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (*Chlorophyceae*). Plant Growth Regulation. 171: 131-139.
5. Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.
6. Cag S, Goren-Baris C and Kaplan E (2007) The effect of different concentration of epibrassinolide on chlorophyll, protein and anthocyanin content and peroxidase activity in excised red cabbage (*Brassica oleraceae* L.) cotyledons. Biotechnology and Biotechnological Equipment. 21: 422-425.

7. Carreon SP, Iimenez GC and Vega JL (2002) Genotoxic and antigenotoxic properties of Calendula officinalis extracts in rat liver cell cultures treated with diethylnitrosamine. Toxicology *In Vitro*. 16: 235-258.

8. Catterou M, Dubis F, Schaller H, Aubanella L, Vilcol B and Sangwan-Norrel BS (2001) Brassinsteroids microtubules and cell elongation in Arabidopsis thaliana II. Effect of brassinosteroids on microtubules in the ball mutant. Planta. 212: 673-683.

9. Chandler JW, Cole M, Flier A and Werr W (2009) BLML, a b HLH protein involved in brassinosteroid signaling controls Arabidopsis embryonic pattering via interaction with DORNRO SCHCN and DORNROSCHEN-Like. Plant Molecular Biology. 49: 153-156.

10. Clous SD and Sasse M (1998) Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49: 427-451.

11. Dole JM and Wilkins HF (2004) Floriculture: Principles and Species, 2nd ED. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 347p.

12. Farduddin Q, Yusuf M and Ahmed A (2009) Effect of 28-homobrassinolid on antioxidant capacity and photosynthetic in *Brassica junceae* plant exposed to different levels of copper. Environomental Experimental and Botany. 66: 418-424.

13. Hayat S, Ahmad A, Mobin M, Hussain A and Fariduddin Q (2000) Photosynthetic rate, growth, and yield of mustard plants sprayed with 28-homobrassinolide. Photosynthetica. 38: 469-471.

14. Hayat S and Ahmad A (2011) Physiological Effects Related to Brassinostroid Application in Plant. Springer Science. 459 p.

15. Kalinichi J, Bhushan N, Madava B and Todhunter J (1985) Relationship of nucleic acid metabolism to brassinolide-induced responses in beans. Journal of Plant Physiology. 120: 207-214.

16. Khripach V, Zhabinskii V and Groot VAD (2000) Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. Annals of Botany. 86: 441-447.

17. Kommavarapu M, Parshavaneni B, Bellamkonda R and Sadhu SSR (2013) Effect of brassinosteroids on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.) under PEG-6000 induced water stress. American Journal of Plant Sciences. 4: 2305-2313.

18. Krishna P (2003) Brassinosteroid-mediated stress responses. Journal of Plant Growth Regulation. 22: 289-297.

19. Li L and Van Staden J (1998) Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in callus of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Regulation. 24: 55-66.

20. Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomemberanes. Methods in Enzymology. 148: 350-382.

21. Lim CC, Arora R and Townssenal EC (1998) Comparing comports and richards function to estimate freezing injury in *Rhododendron* using electrolyte leakage. Journal of the American Society for Horticultural Science. 123: 246-252.

22. Lise A, Michelle H and Margrethe S (2004) Reduced water availability improves drought tolerane of potted miniature roses: Is the ethylene pathway involved. Department of Agricultural Sciences. Horticultural, The Royal Veterinary and Agricultureal University.

23. Seeta Ram Rao S, Vidya Vardhini B, Sujatha E and Anuradha S (2002) Brassinosteroids – a new class of phytohormones. Current Science. 82: 10-25.

24. Somogyi M (1952) Note on sugar determination. Journal of Biochemistry. 195: 19-29.

25. Swamy KN and Seeta Ram Rao S (2009) Effect of 24-epibrassinolide on growth, photosynthesis, and essential oil content of *Pelargonium graveolens* L. Herit. Russian Journal of Plant Physiology. 52: 612-620.

26. Swamy KN and Seeta Ram Rao S (2006) Influence of brassinosteroids on rooting and growth of geranium (*Plargonium* sp.) stem cutting. Asian Journal of Plant Sciences. 5: 619-622.

27. Vandhiai BV and Seeta Ram Rao SSR (2003) Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on germination and seedling growth of three varieties of surgom. Plant Growth Regulation. 41: 25-30.

28. Wu DR and Zhao YJ (1993) Effects of epibrassinolid on endogenous IAA and its oxidase in epicotyls of mung bean seedling. Acta Phytophysiologica Sinica. 19: 49-52.

29. Yu JQ, Huang LF, Hu WH, Zhou YH, Mao WH and Ye S (2004) A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. Journal of Experimental Botany. 55: 1135-1143.