

تأثیر ۲۴-اپی براسینولید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژی و عملکرد گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در شرایط تنش خشکی

ندا امیری^۱، نجمه زینلی^{۲*} و ایرج توسلیان^۲

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۳)

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی و کاربرد ۲۴-اپی براسینولید بر ویژگی‌های فیزیولوژی و پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) گیاه دارویی گشنیز، به صورت کرت‌های خردشده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شهرستان جیرفت اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح تنش خشکی به صورت آبیاری با تنش ملایم (در پتانسیل ماتریک ۲- بار)، آبیاری با تنش متوسط (در پتانسیل ماتریک ۳/۵- بار) و آبیاری با تنش شدید (در پتانسیل ماتریک ۴/۵- بار) به عنوان عامل اصلی و غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میکرومولار ۲۴-اپی براسینولید به صورت محلول‌پاشی برگی به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج بررسی‌ها نشان داد، با توجه به معنی‌دار شدن تأثیر سطوح تنش خشکی، بیشترین درصد رطوبت نسبی، میزان سبزینه (کلروفیل)ها، کاروتنوئیدها و محتوای پروتئین‌های محلول برگ‌ها در تیمار سطح خشکی ملایم (۲- بار) و بیشترین درصد نشت یونی و میزان قندهای احیا در سطح شدید تنش خشکی (۴/۵- بار) به دست آمد. همچنین تأثیر محلول‌پاشی با ۲۴-اپی براسینولید بر درصد نشت یونی و میزان پروتئین‌های محلول معنی‌دار شد. کمترین درصد نشت یونی و بیشترین میزان پروتئین‌های محلول در گیاهان تحت تیمار ۱ میکرومولار براسینولید به دست آمده است. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی نیز بر عملکرد رویشی گشنیز معنی‌دار است. بیشترین میانگین عملکرد رویشی در گیاهان تحت تیمار خشکی خفیف ۲- بار و در هر سه غلظت براسینولید به دست آمده که البته تفاوت معنی‌داری با میانگین به دست آمده در گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۵ میکرومولار براسینولید در شرایط تنش متوسط (۳/۵- بار) نداشت.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های محلول، کاروتنوئیدها، قندهای احیاء، محلول‌پاشی برگی، نشت یونی.

Influence of 24-epibrassinolide on some physiological characteristics and the yield of *Coriandrum sativum* L. under drought stress

Neda Amiri¹, Najme Zeinali^{2*} and Iraj Tavassolian²

1, 2. Former M. Sc. Student and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

(Received: Sep. 7, 2016 - Accepted: Dec. 3, 2016)

ABSTRACT

This experiment was conducted in order to investigate effects of drought stress and 24-epibrassinolide effects on some physiological and antioxidant enzyme activity of medicinal *Coriandrum sativum* L. as split plot based on randomized complete block design with three replications in Jiroft, south of Kerman. The treatments consisted of three levels of irrigation at -2 bar (moderate drought), irrigation at -3.5 bar (mediate drought) of matric potential, mediate drought and -4.5 bar of matric potential (severe drought) as the main factor and three concentrations of 24-epibrassinolide as foliar spraying (0, 0.5 and 1 μ M) as the sub factor. Results showed that according to significant effects of drought levels, the most values of RWC, total chlorophyll, carotenoid content and soluble protein and also, the most values of ion leakage percentage and reduced sugars were obtained in plants treated under moderate drought level (-2 bar). The effect of foliar spraying with 24-epibrassinolide was significant on ion leakage percentage and soluble proteins. The least values of ion leakage percent and the most value of soluble protein were obtained in plants treated with 1 μ M of brassinolide. The mutual effects between drought levels and spraying with brassinolide were significant on vegetative yield of coriander. The most average of vegetative yield was obtained in plants under moderate drought at all three concentrations of brassinolide that they had not significant difference with yield average of plants treated by mediate level of drought and 0.5 μ M of brassinolide.

Keywords: Carotenoid, foliar spraying, ion leakage, reduced sugar, soluble protein.

* Corresponding author E-mail: nzeinali@uk.ac.ir

مقدمه

بیش از ۴۵ درصد از زمین‌های کشاورزی به‌طور پیوسته در معرض خشکی قرار دارند و ۳۸ درصد جمعیت جهان، در آن مکان‌ها ساکن هستند (Ashraf & Foolad, 2007). لذا در آینده، بیشترین تلاش‌ها در جهت تولید بیشتر عملکرد محصول در شرایط کم‌آبی و خشکی خواهد بود (Sinaki et al., 2007). تنش خشکی از طریق کاهش توسعه برگ و کاهش شاخص سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش در آبیگری کلروپلاست‌ها و دیگر بخش‌های پروتوپلاسم، کاهش ساخت (سنتر) پروتئین‌ها و سبزینه (کلروفیل)‌ها، سبب کاهش نورساخت (فتوسنتز) می‌شود، انتقال مواد نورساختی تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و موجب اشباع برگ‌ها از مواد نورساختی می‌شود که ممکن است نورساخت را محدود کند. با محدود شدن فرآورده‌های نورساختی در شرایط تنش خشکی، رشد گیاه و در نهایت عملکرد آن نیز کاهش می‌یابد و از سویی غشاهای زیستی (بیولوژیک) به‌عنوان نخستین هدف تنش‌های غیرزنده در گیاهان در اولویت آسیب قرار می‌گیرند (Bajji et al., 2002). در ادامه آسیب به غشاء یاخته‌ای، تراوایی افزایش یافته و منجر به نشت الکترولیتی یاخته شده که باعث پژمردگی گیاه می‌شود (Blume & Ebercon, 1981). کاهش رشد و فعالیت ریشه و افزایش تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی را از عامل‌های دخیل در کاهش رطوبت نسبی برگ‌ها برشمرده‌اند (Tarumingkeng & Coto, 2003). آسیب به رنگیزه‌های سبزینه‌ای (کلروفیلی) و کاروتنوئیدها در گیاهان در شرایط تنش و کاهش محتوای آن‌ها در نتیجه تولید انواع اکسیژن فعال روی می‌دهد (Slama et al., 2007). نقش حفاظتی کاروتنوئیدها در گیاه به این صورت است که انرژی زیادی را از نظام نوری (فتوسیستم) I به II به‌صورت گرما یا واکنش‌های بدون آسیب دفع کرده و به این طریق می‌توانند غشاهای کلروپلاستی را از آسیب‌های تنش‌ها محفوظ نگه دارند (Juan et al., 2005). در کل، گیاهان از سازوکارهای مختلفی برای رویارویی و یا تحمل در برابر تنش‌ها استفاده می‌کنند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها تنظیم اسمزی است. زیرا با برقراری تنظیم اسمزی

ادامه جذب آب از محیط ریشه و حفظ آماس یاخته‌ای تا حدودی امکان‌پذیر می‌شود (Good & Zaplachinski, 1994). افزایش در میزان قندهای احیاء، پروتئین‌های محلول و اسیدهای آمینه، از جمله واکنش‌هایی است که گیاهان در شرایط تنش برای کاهش پتانسیل اسمزی خود نشان می‌دهند (Sanchez et al., 1998). در واقع عمل فیزیولوژیکی قندها، جلوگیری از متصل شدن غشاهای مجاور هم در فرآیند دوره تنش از طریق نگهداری چربی (لیپید)‌ها و پایداری پروتئین‌ها، به‌واسطه ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها، تنظیم بیان ژن و تنظیم اسمزی است (Ho et al., 2001). قندهای احیاء و پروتئین‌های محلول از اجزای فعال در پدیده تنظیم اسمزی هستند که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارند (Sanchez et al., 1998). براسینواستروئیدها تأثیرهای فیزیولوژیکی مختلفی در رشد و نمو گیاهان دارند. آن‌ها موجب تحریک رشد و تقسیم یاخته‌ای شده بر ویژگی‌های الکتریکی، نفوذپذیری ساختمان، پایداری و فعالیت آنزیم‌های غشاء اثر می‌گذارند. همچنین در سطح مولکولی براسینواستروئیدها موجب تغییر بیان ژن و سوخت‌وساز (متابولیسم) و زیست‌ساخت (بیوسنتز) اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌شوند (Clous & Sasse, 1998). در این پژوهش ترکیب ۲۴- اپی براسینولید به‌صورت برون‌زا بر گیاه گشنیز تحت تنش خشکی در سه سطح مختلف تنش خشکی (آبیاری) استفاده شد و برای مشخص شدن نقش حفاظتی این ترکیب در شرایط خشکی، فراسنجه (پارامتر)‌هایی مانند میزان سبزینه‌های برگ‌ها، کاروتنوئیدها، پروتئین‌های محلول، قندهای احیاء، نش‌یونی، رطوبت نسبی برگ‌ها و در نهایت عملکرد اندام‌های رویشی گشنیز سنجش شد.

مواد و روش‌ها

شهرستان جیرفت با ارتفاع ۶۸۵ متر از سطح دریا و به فاصله ۲۴۵ کیلومتری از شهر کرمان قرار گرفته است که آب‌وهوای گرم و مرطوب با میانگین بارندگی حدود ۱۹۰ میلی‌متر در سال دارد، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

Table 1. Physical and chemical properties of experimental field soil

Texture	SAR	HCO ₃ ⁻	Ca ⁺⁺ +Mg ⁺⁺	NA ⁺	pH	Ec*10 ³	depth	Soil properties
Sandy-loam	0.81	3.6	8.4	1.67	8	0.491	0-30	

اندازه‌گیری نشت یونی

برای تعیین این ویژگی از روش Kumar (2011) و از رابطه زیر برای محاسبه استفاده شد:

$$Ec\% = (Ec_1/Ec_2) \times 100$$

اندازه‌گیری سبزینه‌ها و کاروتنوئیدها

برای این منظور شدت جذب عصاره‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر به کمک طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) UV-VIS مدل Cary50 خوانده شد. مقادیر سبزینه کل و کاروتنوئید با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

$$Ct = Ca + Cb$$

$$Car = (1000A_{470} - 1.82Ca - 85.02Cb) / 198$$

سنجش میزان پروتئین‌های کل

برای سنجش میزان پروتئین به لوله‌های آزمایش میزان ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و بی‌درنگ تکان (ورتکس) داده شدند. پس از دو دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده و غلظت پروتئین‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری میزان قندهای احیا

بدین منظور از روش Somogyi (1950) بهره گرفته شد. همچنین اندازه‌گیری عملکرد اندام‌های رویشی از توزین اندام‌های رویشی برداشت‌شده محاسبه و با واحد کیلوگرم بر هکتار بیان شد. تجزیه آماری داده‌ها و اطلاعات به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای MSTATC و SAS انجام شد و میانگین داده‌ها از طریق آزمون LSD طبقه‌بندی و مقایسه شدند.

نتایج و بحث

درصد رطوبت نسبی برگ‌ها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تنها اثر ساده تنش

این تحقیق در قالب طرح کرت‌های خردشده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه سبزی کاری واقع در شهرستان جیرفت اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح آبیاری مختلف، یک سطح به‌عنوان سطح تنش خشکی ملایم (۲- بار) به‌عنوان دور آبیاری معمول این گیاه در منطقه جیرفت و دو سطح در راستای اعمال تنش خشکی متوسط و شدید به‌صورت (۳/۵- و ۴/۵- بار) به‌عنوان عامل اصلی و تیمارهای محلول‌پاشی برگی با ۲۴- اپی براسینولید شامل غلظت‌های (۰، ۰/۵ و ۱ میکرومولار) بود این ترکیب به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. ابعاد کرت‌ها به‌صورت ۳×۳ متر در نظر گرفته شد و در هر کرت چهار ردیف کشت به‌صورت جوی و پشته‌های کم‌عمق مشخص شد. بذرهای گشنیز خریداری‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان در محل داغاب هر دو طرف پشته‌ها و به فاصله تقریبی ۱۲ سانتی‌متر بین بوته‌ها از یکدیگر کشت شدند. به‌منظور جلوگیری از تأثیر رطوبت ناشی از زهکش و ایجاد تداخل در سطوح تنش متفاوت، فاصله کرت‌های اصلی از یکدیگر ۳ متر در نظر گرفته شد و نمونه‌برداری از خطوط وسط هر کرت انجام شد. عملیات کاشت بذرهای گشنیز در ۵ آبان ۱۳۹۴ انجام شد. برای تقویت گیاهان گشنیز از کود NPK کندرها شونده استفاده شد. تنظیم دور آبیاری بر پایه پتانسیل ماتریک خاک با کاربرد سه دستگاه مکش‌سنج (تانسیومتر مدل Irrometere company, Inc. P.O. U.S.A) و قرار دادن آن‌ها در چاهک‌هایی به عمق ۳۵ سانتی‌متری خاک و با فاصله‌های معین صورت گرفت. ویژگی‌های مورد نظر در مرحله پایانی رشد رویشی گیاه و پیش از گلدهی اندازه‌گیری و محاسبه عملکرد بر پایه یک‌بار برداشت صورت گرفت.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ‌ها

بدین منظور از روش Wheutherley (1950) و از رابطه زیر برای محاسبه استفاده شد.

$$\%RWC = ((FW-DW)/(SW-DW)) \times 100$$

با پتانسیل ماتریک ۴/۵- بار شد، درحالی‌که محلول پاشی با ۲۴- اپی براسینولید باعث کاهش معنی‌دار درصد نشت یونی شد. یکی از آسیب‌های جدی تنش خشکی مربوط به آسیب‌رسانی به غشاء و رهاسازی یون‌ها از یاخته به فضای بین یاخته‌ای است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به پر اکسیداسیون چربی‌ها، نفوذپذیری غشای یاخته‌ای و آسیب‌رسانی به یاخته می‌شود (Sairam et al., 2002). در شرایط تنش، گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند. این گونه‌های فعال اکسیژن تأثیر زیانباری بر غشای یاخته‌ای دارند و سبب پراکسیداسیون اسیدهای چرب شده و نشت یونی را افزایش می‌دهند (Foyer et al., 1994). میزان هدایت الکتریکی در محیط آبی، شدت آسیب‌رسانی تنش خشکی را به غشاء یاخته‌ای نشان می‌دهد و میزان پایداری غشاء یاخته به‌خوبی با تحمل دیگر فرایندهای گیاهی به تنش از جمله نورساخت در ارتباط است (Masoumi et al., 2013). تغییرپذیری‌های بیوشیمیایی که در غشاهای یاخته‌ای پس از به‌کار بردن براسینواستروئید به‌صورت خارجی (اگزوزن) رخ می‌دهد نقش کلیدی در رشد گیاهان دارد. به‌احتمال براسینواستروئید بر ویژگی‌های الکتریکی، نفوذپذیری، پایداری غشای یاخته‌ای و فعالیت آنزیم‌های غشاء تأثیر می‌گذارد (Khrpach et al., 1998). کاهش نشت یونی در میوه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با براسینولید را می‌توان به تأثیر آن در حفظ انسجام غشاء یاخته‌ای مربوط دانست (Wang & Zeng, 1993). یاخته‌های گیاه در پاسخ به براسینواستروئیدها بعضی از عامل‌های نرم‌کننده دیواره را خارج می‌کنند که انبساط پذیری دیواره را افزایش می‌دهند و منجر به کاهش آسیب به غشاء و به کمترین رسیدن میزان نشت یونی می‌شوند (Khrpach et al., 1998).

محتوای سبزینه برگ‌ها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تنها اثر ساده تنش خشکی در سطح احتمال ۱ درصد برای این صفت معنی‌دار است (جدول ۲). گیاهان تحت تیمار سطح خشکی ملایم (پتانسیل ماتریک ۲- بار) بیشترین میزان سبزینه‌ها (a+b) در مقایسه با گیاهان رشد

خشکی در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد، گیاهان رشد کرده در شرایط خشکی ملایم (پتانسیل ماتریک ۲- بار) بیشترین رطوبت نسبی در مقایسه با گیاهان رشد یافته در شرایط تنش‌های خشکی متوسط و شدید (آبیاری در پتانسیل‌های ماتریک ۳/۵- و ۴/۵-) داشتند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود (جدول ۳). رطوبت نسبی بالاتر برگ‌ها از طریق قابلیت تنظیم اسمزی و توانایی ریشه در جذب آب به دست می‌آید (Johnson et al., 1984). از سویی، برخی پژوهشگران در نتایج بررسی‌های خود بیان داشته‌اند، در شرایط تنش با افزایش میزان تعرق برگ‌ها، حجم آب یاخته و میزان رطوبت نسبی برگ‌ها به‌طور کامل و محسوس کاهش می‌یابد و رطوبت نسبی برگ تعادل نیز بین آب تأمین‌شده و سرعت تعرق را بهتر از دیگر اجزای رابطه‌های آبی منعکس می‌کند، لذا آن را شاخص مناسبی برای وضعیت آب برگ دانسته‌اند (Sinclair & Ludlow, 1985). در این پژوهش اعمال سطوح تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار رطوبت نسبی برگ‌ها شدند، درحالی‌که غلظت‌های ۲۴- اپی براسینولید به‌کاررفته هم نتوانستند تأثیری در جلوگیری از کاهش رطوبت نسبی برگ‌های در شرایط تنش کم‌آبیاری در پتانسیل‌های ماتریک ۳/۵- و ۴/۵- بار بگذارند.

درصد نشت یونی برگ‌ها

با توجه به نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمار تنش خشکی برای این صفت در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین بین سطوح تنش خشکی از لحاظ درصد نشت یونی در گشینه‌ها نشان داد، بیشترین میانگین مربوط به پتانسیل ماتریک ۴/۵- بار است (جدول ۳). اثر ساده تیمار براسینولید (غلظت ۱ میکرومولار) بر این صفت در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). کمترین میزان نشت یونی مربوط به تیمار هورمونی با غلظت ۱ میکرومولار ۲۴- اپی براسینولید است که نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار از لحاظ آماری دارد (جدول ۴). در این پژوهش تنش کم‌آبیاری منجر به افزایش درصد نشت یونی به‌ویژه در تنش شدید

خشکی در سطح احتمال ۱ درصد برای این صفت معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئیدها به ترتیب با میانگین‌های ۵۵/۰ و ۶۹/۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مربوط به پتانسیل ماتریک ۲- بار و ۵/۴- بار است (جدول ۳). کاروتنوئیدها در بافت‌های نورساختی به‌عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند، اما نقش پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) و جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز است، همچنین به‌احتمال زیاد کاهش میزان کاروتنوئیدها در تنش شدید به علت نداشتن مقاومت دانه‌ها به این سطح تنش است. کاروتنوئیدها تتراترپن‌هایی هستند که در بافت‌های نورساختی به‌عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند اما نقش پاداکسندگی آن‌ها نیز در گوجه‌فرنگی و پیازچه گزارش شده است (Egert & Tevini, 2002). گزارش شده است که ۲۴- اپی براسینولید با افزایش فعالیت آنزیم رویسکو موجب افزایش کارایی تثبیت کربن یا افزایش فعالیت دیگر آنزیم‌های چرخه کلوین باعث افزایش سرعت بازسازی ریبولوز بیس فسفات شده است و نیز با افزایش محتوای سبزینه‌ها و کاروتنوئیدها بر فعالیت نورساخت می‌افزاید (Zhang et al., 2008).

یافته در شرایط تنش‌های ۳/۵- و ۴/۵- بار را داشتند (جدول ۳). تأثیر تیمار محلول‌پاشی از لحاظ آماری معنی‌دار نشد. کاهش معنی‌دار میزان سبزینه‌های در شرایط تنش‌های متوسط و شدید اعمال‌شده در این آزمایش می‌تواند به دلیل کم بودن رطوبت نسبی برگ‌ها و در نتیجه کاهش عامل‌های لازم برای ساخت سبزینه‌ها و تخریب ساختمان آن‌ها باشد. خشکی همچنین باعث شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان سبزینه‌ها می‌شود. گیاهانی که حساسیت بیشتری به خشکی دارند، کمپلکس سبزینه پروتئین‌ها و چربی‌های آن‌ها ناپایدارتر است. در نتیجه تنش خشکی، تشکیل پلاستیدها، سبزینه‌های a ، سبزینه‌های b ، کاروتن‌ها و نئوگزانتین‌ها کاهش می‌یابد و نسبت سبزینه‌های a به سبزینه‌های b تغییر می‌کند (Lawlor, & Cornic, 2002). احتمال دارد کاهش معنی‌دار میزان سبزینه مشاهده‌شده در این تحقیق به دلیل کاهش عامل‌های لازم برای ساخت سبزینه‌ها و تخریب ساختمان آن‌ها است.

محتوای کاروتنوئیدهای برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تنها اثر ساده تنش

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر خشکی و براسینولید بر صفات مورد ارزیابی در گشنیز

Table 2. Mean squares of drought and brassinolide on measured characteristics of coriander

Source of variation	df	RWC	Ion leakage	Chlorophyll a+b	Carotenoide	Protein	Reduced sugars	Yield
Block	2	48.35 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.085 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.313 ^{ns}	2.59 ^{ns}	103427.5 ^{ns}
Drought	2	1678.2 ^{**}	0.242 ^{**}	3.1 ^{**}	0.044 ^{**}	51.84 ^{**}	93.60 ^{**}	18320.23 [*]
Error a	2	21.241 ^{ns}	0.0006 ^{ns}	0.044 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.058 ^{ns}	1.586 ^{ns}	13.04 ^{ns}
Brassinolide	2	63.51 ^{ns}	0.028 ^{**}	0.155 ^{ns}	0.003 ^{ns}	4.29 [*]	2.1 ^{ns}	3427.51 ^{**}
Drought × Brassinolide	4	22.56 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.001 ^{ns}	1.02 ^{ns}	0.23 ^{ns}	38460.71 ^{**}
Error	12	13.57	0.003	0.059	0.002	1.04	2.17	7.23
Coefficient of variance	-	7.57	9.45	9.47	7.3	11.44	10.77	20.8

ns, **, *: Non-significantly differences and significantly differences at 1 and 5% of probability levels, respectively.

جدول ۳. مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های گشنیز در شرایط تنش خشکی

Table 3. Means comparison of some characteristics of coriander under drought

Drought based on matric potential (Bar)	RWC (%)	Ion leakage (%)	Chlorophyll a+b (mg/g FW)	Carotenoide (mg/g FW)	Protein (mg/g FW)	Reduced sugars (mg/g FW)
-2	87.44 ^a	0.47 ^c	3.21 ^a	0.68 ^a	11.61 ^a	10.45 ^c
-3.5	70.98 ^b	0.68 ^b	2.47 ^b	0.61 ^b	8.30 ^b	13.69 ^b
-4.5	60.53 ^b	0.79 ^a	2.05 ^c	0.54 ^c	6.94 ^c	16.90 ^a

میانگین‌های هر ستون دارای حرف‌های مشترک تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means within the same column, followed by the same letter are not significantly difference (P<0.05).

جدول ۴. مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های گشنیز تحت تأثیر محلول پاشی با ۲۴- اپی براسینولید
 Table 4. Means comparison of some characteristics of coriander under 24-epibrassinolide

24-epibrassinolide (M μ)	RWC (%)	Ion leakage (%)	Chlorophyll a+b (mg/g FW)	Carotenoids (mg/g FW)	Protein (mg/g FW)	Reduced sugars (mg/g FW)
0	71.41 ^a	0.68 ^a	2.49 ^a	0.59 ^a	8.35 ^b	13.23 ^a
0.5	70.92 ^a	0.68 ^a	2.51 ^a	0.60 ^a	8.79 ^b	13.66 ^a
1	75.745 ^a	0.58 ^b	2.49 ^a	0.63 ^a	9.71 ^a	14.19 ^a

میانگین‌های هر ستون دارای حرف‌های مشترک تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means within the same column, followed by the same letter are not significantly difference (P<0.05).

محتوای پروتئین‌های برگ‌ها

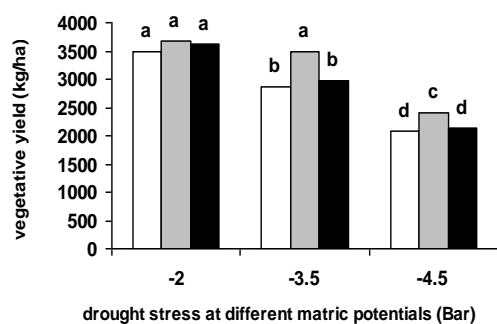
نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر ساده تنش خشکی و اثر ساده محلول پاشی با براسینولید به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد برای محتوای پروتئین‌ها معنی‌دار شد (جدول ۲). گیاهان رشد یافته در شرایط خشکی ملایم (پتانسیل ماتریک ۲- بار) میزان پروتئین محلول برگ بیشتری در مقایسه با گیاهان رشد یافته در شرایط سطوح شدیدتر تنش بودند (جدول ۳). همچنین بیشترین محتوای پروتئین‌ها مربوط به کاربرد غلظت یک میکرومولار براسینولید است (جدول ۴). در شرایط تنش خشکی پروتئین‌های استرومای کلروپلاست‌ها با رادیکال‌های فعال اکسیژن به صورت غیر آنزیمی تخریب می‌شوند (Parry *et al.*, 2002). کاهش غلظت پروتئین‌ها در دو رقم گوجه‌فرنگی در شرایط تنش که با کاهش آنزیم روبیسکو و کاهش نورساخت همراه است، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین است، افزون بر این در فرآیند تنش درازمدت تولید سوپراکسید می‌تواند تولید اکسیژن واکنشگر کند که به مولکول‌های زیستی مهم مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و سبزینه‌ها آسیب جدی وارد کرده و منجر به مرگ یاخته‌ای شوند (Huang & Fu, 2001; Mittler, 2002). تنش آبی سطوح پروتئینی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و نتایج ضدونقیضی را به همراه داشته است، برخی کاهش و گروهی افزایش در سطوح پروتئین‌ها را تحت تنش آبی گزارش کرده‌اند (Marian *et al.*, 2004). تنش خشکی بر محتوای پروتئین‌های دانه نخودفرنگی تأثیری معنی‌دار داشته و با افزایش شدت خشکی، پروتئین‌های محصول کاهش یافته است (Mansourifar *et al.*, 2011). در این پژوهش در طی افزایش سطح تنش خشکی میزان پروتئین‌های

محلول برگ کاهش یافته است. این می‌تواند به دلیل طولانی بودن مدت‌زمان تنش بوده باشد که باعث تجزیه پروتئین‌ها شده است. محلول پاشی با ۲۴- اپی براسینولید در غلظت ۱ میکرومولار در این شرایط توانسته باعث حفظ محتوای پروتئین‌های محلول برگ شود. از سویی دیگر با بررسی روی گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید افزایش زیست‌ساخت (بیوسنتز) DNA، RNA و پروتئین ثابت و مشخص شده است که به احتمال براسینواستروئید در بیان ژن‌ها و سوخت‌وساز پروتئین‌ها اثر دارد (Clouse & Sasse, 1998).

میزان قندهای احیا

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تنها اثر ساده تنش خشکی در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان قندهای احیا به ترتیب با میانگین‌های ۱۶/۹۰ و ۱۰/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مربوط به پتانسیل ماتریک ۲- و ۴/۵- بار بود (جدول ۳). همچنین میزان قندهای محلول در ساقه‌ها و ریشه‌های گیاهان در شرایط تنش افزایش می‌یابد. در برگ‌های اسفناج، تنش کم‌آبی موجب افزایش تجزیه نشاسته و تجمع قندهای محلول می‌شود. بنابراین هنگامی که پتانسیل آب برگ کاهش می‌یابد، تجمع قندها احتمال دارد در تنظیم اسمزی نقش اصلی را ایفا کند. تجمع قندهای احیا می‌تواند به‌عنوان محافظت‌کننده اسمزی در شرایط تنش، جایگزین آب شده و برای نگهداری فسفوجربیه‌های غشا در مرحله مایع کریستال و جلوگیری از تغییرپذیری ساختاری پروتئین‌ها و حفظ نورساخت در گندم نقش داشته باشد. افزایش در میزان قندها در شرایط تنش کم‌آبی، در گیاهان تیمار شده با ۲۴- اپی براسینولید کمتر قابل توجه بود. حال آنکه تیمار گیاهان با ۲۴- اپی براسینولید آسیب اکسایشی

تنظیم‌کننده اسمزی از جمله پرولین، گلیسین - بتائین و ترکیب‌های قندی همانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان می‌کند که بتواند شرایط لازم برای ادامه حیات خود در این شرایط را فراهم کند. این ترکیب‌ها برای گیاه هزینه‌بر بوده و گیاه این هزینه را گاهی به بهای کاهش عملکرد جبران می‌کند و نیز بسته شدن روزنه‌ها در نتیجه تنش خشکی تبادل دی اکسیدکربن را در برگ‌ها کاهش می‌دهد که در نتیجه کاهش نورساخت، اندازه برگ، سطح برگ و تولید زیست‌توده را در پی دارد (Bajji *et al.*, 2002). به نظر می‌رسد در شرایط تنش، کاربرد غلظت ۰/۵ میکرومولار براسینولید بهتر از غلظت ۱ میکرومولار عملکرد گیاه را حفظ نماید.



شکل ۱. مقایسه میانگین‌های عملکرد رویشی گشنیز تحت اثر متقابل تنش خشکی * محلول‌پاشی (ستون‌های سفید: غلظت صفر، ستون‌های خاکستری: غلظت ۰/۵ و ستون‌های سیاه معرف: غلظت ۱ میکرومولار براسینولید هستند)
Figure 1. Means comparison of coriander yield under interaction effect between drought * brassinolide (white columns: 0, gray columns: 0.5 μM of brassinolide and black columns: 1 μM of brassinolide)

نتیجه‌گیری

در مجموع براسینواستروئیدها با اثرگذاری‌هایی که بر تجمع مواد محلول، تنظیم اسمزی و افزایش کاروتنوئیدها بر جای گذاشته‌اند باعث حفظ تورم و حجم سیتوزولی شده، ساختمان ماکرومولکول‌ها و غشاهای یاخته‌ای را محافظت می‌کنند، در نتیجه مانع قرار گرفتن گیاهان در شرایط سخت ایجاد شده به وسیله تنش می‌شوند، بنابراین نقش حفاظتی برای آن‌ها ایفا می‌کنند. در نتیجه در شرایط این آزمایش براسینولید به‌ویژه در غلظت ۰/۵ میکرومولار از افت عملکرد معنی‌دار جلوگیری کرده است.

(اکسیداتیو) ناشی از تنش کم‌آبی را کاهش داد (Khripach *et al.*, 1998). در این تحقیق تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در محتوای قندها در سطح احتمال ۱ درصد شد و با افزایش سطح تنش میزان این قندها هم افزایش یافته است، درحالی‌که براسینواستروئید برخلاف آنچه در منابع پیشین باعث تغییر میزان قندها شده است، نتوانسته تأثیر معنی‌داری در محتوای قندهای محلول در سطوح تنش اعمال‌شده در این آزمایش داشته باشد. در مورد برنج (Mostajeran & Rahimi-Eichi, 2009) و گندم (Johari-Pireivatlou, 2010) اعمال تنش خشکی موجب افزایش میزان قندهای احیا در گیاهان تحت تیمار شده است. قندهای محلول به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی، ثابت‌دهنده غشاهای یاخته‌ای و حفظ‌کننده آماس (تورژانس) یاخته‌ها، عمل می‌کنند. در حقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می‌یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می‌گیرد (Slama *et al.*, 2007).

عملکرد کل

بنابر نتایج جدول تجزیه واریانس اثر ساده تنش خشکی، اثر ساده محلول‌پاشی با براسینولید و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد برای این صفت معنی‌دار شده است (جدول ۲). بیشترین میزان عملکرد مربوط به گیاهان تحت پتانسیل ماتریک ۲- بار (تنش ملایم) و با غلظت ۱ میکرومولار ۲۴- اپی براسینولید به‌دست‌آمده است که البته میانگین‌های به‌دست‌آمده تفاوت معنی‌داری با میانگین عملکرد به‌دست‌آمده از گیاهان تحت همین سطح تنش و با محلول‌پاشی ۰/۵ و ۰/۱ میکرومولار و نیز با میانگین‌های به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری این صفت در گیاهان تحت تنش سطح متوسط (۳/۵- بار) و با غلظت ۰/۵ میکرومولار ۲۴- اپی براسینولید نداشتند (شکل ۱). در سطح تنش متوسط یعنی آبیاری در پتانسیل ماتریک ۳/۵- بار، کاربرد غلظت ۰/۵ میکرومولار براسینولید در مقایسه با غلظت ۱ میکرومولار و ۰ (بدون کاربرد براسینولید) توانسته منجر به حفظ عملکرد رویشی گشنیز شود. نکته قابل بیان این است که همیشه با بالا رفتن میزان تنش، گیاه بیشتر مواد نورساختی خود را صرف تولید ترکیب‌های

REFERENCES

1. Masoumi, A., Kafi, M., Nabati, J., Khazaei, R. & Davari, K. (2013). Effect of drought stress on water status and leaf electrolyte leakage, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in different growth stages of two *Kochia scoparia* massifs in saline conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(3), 476-484. (in Farsi)
2. Ashraf, M. & Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
3. Bajji, M., Kinet, J. & Lutts, S. (2002). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, 36, 61-70.
4. Bradford, M. 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.
5. Blume, A. & Ebercon, A. (1981). Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*, 27(1), 43-47.
6. Clouse, S. D. & Sasse, J. M. (1998). Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth and Development. Annual Review. *Plant Physiology*, 49, 427-451.
7. Egert, M. & Tevini, M. (2002). Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany*, 48, 43-49.
8. Foyer, C.H., Descourvieres, P. & Kunert, K.J. (1994). Photooxidative stress in plants. *Plant Physiology*, 92, 696-717.
9. Good, A., & Zaplachinski, S. (1994). The effect of drought stress on free amino acids accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Plant Physiology*, 90, 9-14.
10. Ho, S., Chao, Y., Tong, W. & Yu, S. (2001). Sugar coordinately and differentially regulates growth and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. *Plant Physiology*, 46, 281-285.
11. Huang, B. & Fu, J. (2001). Growth and physiological responses of tall fescue to surface soil drying. *International Turfgrass Society Research Journal*, 9, 291-296.
12. Johari-Pireivatlou, M. (2010). Effect of soil water stress on yeild and proline content of four wheat lines. *African Journal of Biotechnology*, 9, 36-40.
13. Juan, M., Rivero, R. M., Romero, L. & Ruiz, J. M. (2005). Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. Environmental Experiment Botany seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164, 317-322.
14. Khripach, V., Zhabinskii, V. N. & Groot, A. E. (1998). *Brassinosteroids: A New Class of Plant Hormones*. Academic press. United States of America, 460 pages.
15. Kumar, S. P. (2011). Effect of different mulches and irrigation method on root growth nutrient uptake, water-use efficiency and yield of strawberry. *Horticultural Science*, 127, 318-324.
16. Lawlor, D. W. & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 275-294.
17. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Metallo Biochemistry*, 148, 350-382.
18. Mansourifar, C., Shaban, M., Ghobadi, M. & Ajirlu, A. R. (2011). Effect of drought stress and N fertilizer on yield, yield components and grain storage proteins in chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *African Journal of Plant Science*, 5(11), 634-642.
19. Marian, C. O., Krebs, S. L. & Arora, R. (2004). Dehydrin variability among rhododendron species: a 25, kDa dehydrin is conserved and associated with cold acclimation across diverse species. *New Phytologist*, 161(3), 773-780.
20. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7, 405-410.
21. Mostajeran, A. & Rahimi-Eichi, V. (2009). Effects of drought stress on growth and yeild of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves. *American-Eurasian journal of agricultural and environmental sciences*, 5, 264-272.
22. Parry, M. A. J., Andralojc, P. J., Khan, S., Lea, P. J. & Keys, A. J. (2002). Rubisco activity: effects of drought stress. *Annal Botany*, 89, 833-839.
23. Sairam, R. K., Rao, K. V. & Srivastava, G. C. (2002). Diferential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163, 1037-1046.
24. Sanches, F. J., Manzanares, M., Andres, E. F., Ternorio, J. L., Ayerbe, L. & De Andres, E. F. (1998). Turger maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and praline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop Research*, 59, 225-235.
25. Sinaki, J. M., Heravan, E. M., Shirani Rad, A. H., Noormohammadi, G. & Zarei, G. (2007). The effects of water deficit during growth stages of canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 2(4), 417-422.

26. Sinclair, T. R. & Ludlow, M. M. (1985). Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Functional Plant Biology*, 12(3), 213-217.
27. Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savoure, A. & Abdelly, C. (2007). Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 10-17.
28. Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195 (1), 19-23.
29. Svensson, J., Ismail, A. M., Palva, E. T. & Close, T. J. (2002). Dehydrins. In: K. B. Storey and J. M. Storey (Eds.), *Sensing signaling and cell adaptation*. Elsevier Science, 155-171.
30. Tarumingkeng, R. C. & Coto Z. (2003). Effects of drought stress on growth and yield of soybean. *Kisman, Science Philosophy*, 702-711.
31. Wheutherley, P. E. (1950). Studies in water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. *New Phytology*, 49, 81-87.
32. Wang, B. K. & Zeng, G. W. (1993). Effect of epibrassinolide on the resistance of rice seedlings to chilling injury. *Acta Phytophysiology Sinica*, 19, 38-42
33. Zhang, M., Zhai, Z., Tian, X., Duan, L. & Li, Z. (2008). Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). *Plant Growth*, 56, 257-264.