

نقش 24-اپی براسینولید در افزایش تحمل به سرما در گیاه بادمجانشیوا شریعت زاده¹، فریبا امینی²، مهتری عسکری²

1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، اراک. 2- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک.

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: F-Amini@araku.ac.ir**چکیده**

نقش براسینواستروئیدها در حفاظت گیاه در مقابل تنش های محیطی، کاربرد وسیع آنها را در کشاورزی به وضوح آشکار می سازد. در این تحقیق اثر اصلی سرما و برهم کنش متقابل سرما و 24-اپی براسینولید بر رنگیزه های فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی، میزان پرولین و محتوای پروتئین محلول در گیاه بادمجان بررسی شد. گیاهان بادمجان در مرحله ی 2 تا 3 برگگی با غلظت های مورد نظر 24-اپی براسینولید (0، 0/5، 1 و 2 میکرومولار) تیمار شدند (اسپری برگگی) و در دو گروه شاهد و تنش سرما مورد بررسی قرار گرفتند. دمای مورد نظر جهت اعمال تنش سرما در این آزمایش دمای 4 درجه سانتی گراد بود. نتایج نشان داد محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها و پروتئین در تیمار گیاهان با اپی براسینولید افزایش آنتوسیانین و پرولین که تحت تنش سرما مشهود بودند در تیمار با اپی براسینولید کاهش تنش و شاهد نشان دادند. همچنین افزایش آنتوسیانین و پرولین که تحت تنش سرما مشهود بودند در تیمار با اپی براسینولید کاهش معنی داری را نشان دادند. در کل، کاربرد 24-اپی براسینولید به صورت اسپری کردن روی برگ ها در گیاه سبب بهبود تحمل به تنش سرما در گیاه بادمجان شد.

کلمات کلیدی: تنش سرما، 24-اپی براسینولید، کلروفیل، پرولین و پروتئین، بادمجان.

مقدمه

تغییرات محیطی مخصوصاً آنهایی که بر میزان دسترسی به آب و دما تاثیر می گذارند، عمده ترین تغییرات تعیین کننده رشد و نمو گیاهان هستند. از طرفی با توجه به در دسترس بودن محدود زمین های زراعی و تقاضای بالا برای سبزیجات از جمله محصولات تیره solanaceous مانند بادمجان، و از طرف دیگر بخاطر شرایط نامساعد محیطی و تنش ها از جمله تنش سرما غالباً این سبزیجات در معرض اختلالات فیزیولوژیک و پاتولوژیک منجر به کاهش رشد و از دست دادن کیفیت در میوه می گردند (Schwarza et al. 2010) لذا از آنجا که بادمجان به لحاظ اقتصادی یک محصول مهم کشاورزی در آسیا و اروپا محسوب شده و دارای خواص دارویی و غذایی فراوان نیز می باشد در صورت بهبود مقاومت نسبت به تنش سرما در این گیاه می توان میزان محصول در فصول نامناسب دمایی را افزایش داد. براسینواستروئیدها باعث افزایش مقاومت در شرایط محیطی نامطلوب، تنش ها و بیماری ها، فعال سازی پروتئین و سنتز آمینواسیدها، اثر بر ترکیب اسید چرب و ویژگی های غشاها، افزایش ظرفیت فتوسنتزی می شوند (Khripach et al 2000).

این تحقیق با هدف کلی افزایش مقاومت نسبت به تنش سرما در گیاه بادمجان با کمک ترکیب 24-epibrassinolide طراحی و انجام گرفت.

مواد و روش ها

کشت بذور در گلدان های پلاستیکی با خاکی دارای مخلوطی از رس، ماسه آبرفتی و کود طبیعی حیوانی انجام گرفت. محلول 24-اپی براسینولید در چهار سطح (صفر، 0/5، 1، 2 میکرومولار) تهیه شد و در مرحله ی 2 تا 3 برگگی بر روی برگ گیاه اسپری شد این کار به مدت 3 بار به صورت دو روز یکبار انجام گرفت سپس بعد از 2 روز، گلدان ها به صورت تصادفی به 2 گروه تقسیم شدند، یک گروه به انکوباتور با 16 ساعت روشنایی (دمای 22 ± 1 درجه سانتیگراد) و 8 ساعت تاریکی (دمای 22 ± 1 درجه سانتیگراد) منتقل شدند و گروه دیگر برای اعمال تنش سرما به دمای 4 درجه انتقال یافتند. پس از گذشت 4 روز که نمونه ها در این دما قرار

گرفتند به انکوباتور منتقل شدند. پس از گذشت چهار روز، ارزیابی اثرات تنش در غلظتهای مختلف 24- اپی براسینولید آغاز شد. میزان کلروفیل a, b و کلروفیل کل بر اساس روش آرنون (1949)، کاروتنوئیدها بر اساس روش (Lichtenthaler and wellbum, 1983)، آنتوسیانین بر اساس روش میتا و همکاران (1997)، پرولین بر اساس روش (bates et al., 1973) و پروتئین بر اساس روش برادفورد (1976) بررسی شد.

آزمایش ها بصورت طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل و با سه تکرار انجام شد. نتایج آزمایشات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در صورت معنی دار بودن داده ها، میانگین شاخص های اندازه گیری با استفاده از آزمون دانکن گروه بندی شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش سرما، 24- اپی براسینولید اثر متقابل سرما و 24- اپی براسینولید اثر معنی داری روی محتوای رنگیزه ها دارد. (جدول 1) تخریب فتوسنتزی رنگدانه ها یکی از نشانه هایی است که در تنش سرما مشاهده می شود (Haldimann, 1998). (Naylor و Wise) در سال 1987 گزارش دادند که در تنش سرما میزان کلروفیل a و b در گیاهان کاهش می یابد. در نتایج ما کاهش در کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل دیده شد که گزارشات بالا نتایج ما را اثبات می کند. همچنین نتایج نشان داد که میزان کاروتنوئیدها در تنش سرما کاهش یافت. دمای پایین مانع از تشکیل زآگزانتین (از کاروتنوئیدها) می شود. زآگزانتین انرژی برانگیخته شده در آنتن فتوسیستم II را بصورت حرارت آزاد می کند (Bilger and Bjorkman, 1991). بیوسنتز زآگزانتین از ویولا گزانتین در شرایط طبیعی در نور بالا و PH پایین لومن تیلاکوئید ها القا می شود ولی دماهای پایین از انجام این فرآیند ممانعت می کند (زینالی یادگاری و همکاران، 1389). بیشترین میزان آنتوسیانین تحت تنش سرما دیده شد که 24- اپی براسینولید سبب کاهش معنی داری در میزان آنتوسیانین برگ گیاهان شد. میزان پرولین برگ گیاهان تحت تنش سرما در مقایسه با شاهد، بطور معنی داری افزایش یافت. ($P \leq 0,05$) 24- اپی براسینولید در تمام غلظت های (0/5، 1، 2 میکرومولار) باعث کاهش پرولین شد که در غلظت 1 به مقدار قابل توجهی این کاهش قابل مشاهده بود. این کاهش از لحاظ آماری معنی دار بود ($P \leq 0,05$) (نمودار 1 الف) دمای پایین باعث القاء تغییرات زیادی در ترکیبات سلولی مانند تغییر در ترکیبات پروتئینی، پرولین و کربوهیدرات ها می شود مولکول های پیک که در سیستم انتقال سیگنال نقش دارند، آنزیم های ویژه ای را برای فعال کردن مسیر تولید پرولین ایجاد می کنند تا باعث تشکیل یا تنظیم فعالیت ترکیبات دفاعی مانند پرولین شوند. (ashrad & foolad, 2007) بر طبق نتایج بدست آمده مقدار پروتئین برگ گیاهان در معرض تنش سرما، در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد (نمودار 1 ب). همچنین اثر متقابل سرما و 24- اپی براسینولید بر مقدار پروتئین معنی دار بود، زیرا تیمار گیاهان با 24- اپی براسینولید در شرایط تنش سرما مقدار پروتئین را در کلیه غلظت های بکار رفته این هورمون افزایش داد که غلظت 1 به میزان قابل توجهی باعث افزایش مقدار پروتئین شد. در سطح مولکولی براسینواستروئیدها موجب تغییر بیان ژن و تغییر متابولیسم و بیوسنتز نوکلئیک اسیدها و پروتئینها می گردند (Bajgaz, 2000)

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس اثر 24- اپی براسینولید بر خصوصیات رشد گیاه بادمجان تحت تنش سرما و شاهد

منابع تغییرات	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	پروتئین	پرولین
24- اپی براسینولید	**113/27	**88/55	**28/86	**56/55	**63/42	**350/26	**7/57
سرما	**117/30	**246/84	**46/56	**85/13	**758/14	**834/75	**59/59
24- اپی	**14/49	**5/23	**5/54	*4/23	**31/48	**19/73	*3/37

براسینولید×سرما						
-----------------	--	--	--	--	--	--

***،* به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح یک درصد، پنج درصد می باشد.

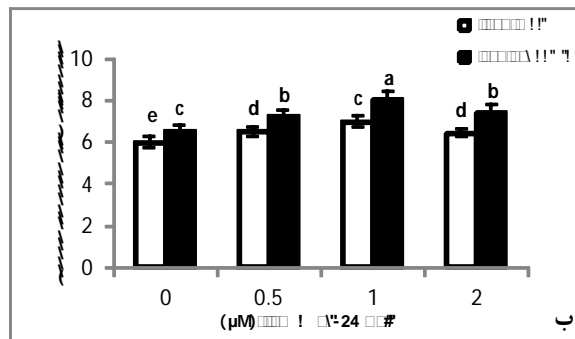
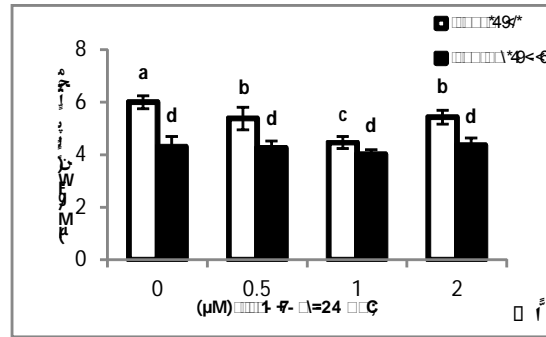
جدول 2. اثر غلظت های متفاوت 24- اپی براسینولید بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین در گیاه بادمجان تحت تنش سرما و شاهد

غلظت 24-اپی براسینولید	محتوای کلروفیل a Mg/ g (FW)	محتوای کلروفیل b (Mg/ g FW)	محتوای کلروفیل کل Mg/ g (FW)	محتوای کاروتنوئید Mg/ g (FW)	میزان آنتوسیانین Mg/ g (FW)
شاهد	0	3/26b ± 0/37	± 0/13	± 0/010	± 0/015
	0/5	3/51b ± 0/32	7/47b	1/46c	3/46d
	1	4/62a ± 0/34	± 0/31	± 0/026	± 0/035
	2	3/21b ± 0/42	8/94a	1/76b	3/15ef
		± 0/13	± 0/14	± 0/016	± 0/040
		5/86a	9/69a	2/68a	3/04f
		± 0/18	± 0/51	± 0/013	± 0/24
تنش سرما	0	1/76d ± 0/16	± 0/22	± 0/020	± 0/085
	0/5	2/53c ± 0/12	4/08c	1/03e	6/22a
	1	3/45b ± 0/20	± 0/38	± 0/031	± 0/020
	2	2/47c ± 0/28	6/62b	1/20de	5/10b
		± 0/39	± 0/41	± 0/017	± 0/030
		5/16b	8/84a	1/79b	4/11c
		± 0/44	± 0/34	± 0/007	± 0/017
	4/63c	6/85b	1/34bc	4/82b	

مقادیر موجود در جداول خطای استاندارد ± میانگین می باشد. در هر ستون میانگین های با حروف مشابه از نظر آماری ($p < 0.05$) اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.

حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

نتیجه گیری: در مطالعه حاضر نقش 24-اپی براسینولید در کاهش صدمات ناشی از تنش سرما در گیاه بادمجان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل بهبود علائم و آسیب های ناشی از تنش را در گیاه بادمجان تیمار شده با 24-اپی براسینولید نشان داد. در شرایط تنش غلظت 1 میکرو مولار اثر بهتری را در محتوای رنگیزه ها و همچنین محتوای پروتئین داشت.



منابع

- زینالی یادگاری، ل.، ر. حیدری و ژ. کاراپتیان. 1389. اثر پیش تیمار سرما بر میزان تنفس و مقادیر پرولین و رنگیزه های فتوسنتزی در دانه رسته های گیاه سویا. مجله زیست شناسی ایران. 23(3): 409-417.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Betavulgaris*. *Plant Physiology*. 24:1-15
- Ashraf, M., and M.R. Foolad. 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. *Environment Experimental Botany*. 59: 206-216.
- Bates, L.S., R.P. Waldron, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studied. *Plant and soil*. 39:205-207.
- Bilger, W., and O. Bjorkman. 1991. Temperature dependence of violaxanthin de-epoxidation and non-photochemical fluorescence quenching in intact leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Malva parviflora* L. *Planta*, 184:226-234.
- Bajgaz, A. 2000. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chorella vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 38:209-215.
- 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*. 74 :248-254.

- Haldimann, P. 1998. Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in Zea mays genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant Cell Environ.* 200–208.
- Kripach, VA., VN. Zhabinskii, and AD. Groot. 2000. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. - *Ann. Bot.* 86: 441-447.
- Lichtenthaler, H.K., and A.R. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions.* 11: 591-592.
- Mita, S., N. Murano, M. Akaike, and K. Nakamura. 1997. Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin those are inducible by sugars. *Plant J.* 11: 841-851.
- Schwarz, D., Y. Roufhael, G. Colla, and J.H. Yenema. 2010. *Scientia Horticulturae.* 127:162-171.
- Wise, R.R., and A.W. Naylor. 1987. The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. *Plant Physiol* 83:272–277.

Role of 24-epibrassinolide on Cold tolerance in eggplant (*Solanum melongena* L.)

M. Askari² H. Shariat zade¹ ,F. Amini²

1- M.Sc. in Plant Physiology, Biology Department, Faculty of Science, Arak university 2- Biology Department, Faculty of Science, Arak university, Arak 38156-8-8349, Iran

Abstract

The role of Brassinosteroids in plant protection against the environmental stress, shows the wide application of them in agriculture. In this study, we investigated the effect of cold temperature and mutual interaction of cold temperature and 24- epibrassinolide on photosynthetic and non-photosynthetic pigments, values of proline and content of soluble protein in whole eggplant. Eggplant was treated by 24- epibrassinolide with expected density (0.5 and 2 μM) in stage of 2 to 3 leaf, and were investigated in both group of control and cold stress. The desired temperature was 4°C for applied cold stress in this test. The results show that contents of chlorophyll, carotenoids and protein has a significant increase than don't use of treatments in both situation of control and stress in treatments of plants with 24- epibrassinolide. Also, increase of anthocyanins and proline was evident under cold stress that show a significant decrease in treatment with 24- epibrassinolide. In general, use of 24- epibrassinolide as spray on leaves in plants lead to improvement of plant in cold stress tolerance in eggplant.

Keywords: cold stress, Exogenous 24-epibrassinolide, chlorophyll, proline and protein, eggplant (*Solanum melongena* L.)