ارزیابی کاربرد ۲۴-اپی براسینولید بر برخی شاخص های جوانه زنی، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا سلولی در گیاهچه بادمجان تحت تنش سرما

شیوا شریعت زاده [۱]، فریبا امینی [۲*]، مهری عسکری [۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، اراک. ۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، کدپستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶.

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

چکیده

دماهای پایین یکی از مهمترین فاکتورهای محدود کننده رشد و نمو و توزیع گیاهان است .بادمجان یکی از محصولات حساس به سرما است که دمای پایین در مراحل اولیه رشد، بر روی رشد و تولید محصول این گیاه تاثیر می گذارد.براسینواستروئیدها گروهی از هورمون های استروئیدی ضروری برای رشد ونمو گیاهان هستندکه می توانند تحمل گیاه را به انواع تنش ها، از جمله سرما افزایش دهند.به منظور بررسی تاثیر ۲۴-اپی براسینولید بر بهبود جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه بادمجان تحت تنش سرما و شاهد، آزمایشی با چهار سطح ۲۴-اپی براسینولید(صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میکرومولار)در هر دو گروه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. بذرهای بادمجان به مدت ۴۸ ساعت در غلظت های مذکور ۲۴- اپی براسینولید خیسانده شده،سپس بذور در پتریدیش قرار داده شدند ودر دو گروه شاهد و سرما مورد بررسی قرار گرفتند.گروه شاهد به انکوباتور با دمای(۱±۲۲درجه سانتیگراد) منتقل شدند و گروه دوم برای اعمال تنش سرما به مدت ۴ روز در دمای چهار درجه سانتی گراد قرار گرفتند .بعد از اتمام اعمال تنش سرمایی، بذور به انکوباتور منتقل شدند. نتایج نشان داد که ۲۴-اپی براسینولید اثرقابل توجهی درافزایش پارامتر های جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تروخشک ریشه چه و ساقه چه در هر دو شرایط تنش و شاهد داشت.افزایش پراکسیداسیون لیپید ونشت پذیری غشا که تحت تنش سرما مشهود بود در تیمار با ۲۴-اپی براسینولید کاهش معنی داری را نشان داد.غلظت ۱میکرومولار ۲۴-اپی براسینولیدنسبت به سایر غلظت ها اثر بهتری داشت.

کلمات کلیدی:تنش سرما، ۲۴-اپی براسینولید، پارامترهای جوانه زنی، پراکسیداسیون لیپید، نشت پذیری غشاء، بادمجان.

مقدمه

دمای پایین یکی از تنش های مضر تاثیر گذار بر گیاهان می باشدکه باعث محدود کردن رشد، نمو، توزیع و توسعه ی گیاهان می شود(۷). بادمجان محصول فصل گرم وبسیار حساس به دماهای سرد است معمولا سرما باعث کاهش در رشد گیاه، عملکرد آن و رشد ریشه می شود(۹). کاربرد براسینواستروئیدها در کشاورزی وباغبانی نه تنها بر اساس توانایی آنها در افزایش بازده محصول است، بلکه به عنوان یک هورمون ضد تنشی در گیاه و دیگر فرایند های فیزیولوژیکی بکار می رود. (۱۰).پیشرفت های اخیر نشان داده اند که براسینواستروئیدها می توانند تحمل گیاه را به انواع تنش ها مثل تنش سرما (۶)، تنش شوری(۸) یا عفونت پاتوژن(۱۳) افزایش دهند.مطالعات نشان می دهند که براسینواستروئیدها به صورت بیرونی (اسپری کردن بر روی برگ ها) زمانیکه در دوز مناسب ودر مرحله ی درستی از رشد ونمو گیاه به کار رود می تواند به طور موثری مقاومت گیاه را بالا ببرد (۵). 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(۱۱). در صورت بهبود مقاومت نسبت به تنش سرما در این گیاه می توان میزان محصول در فصول نامناسب دمایی را افزایش داد.

هدف از این تحقیق، بررسی تاثیر کاربرد ۲۴-اپی براسینولید در کاهش آسیب تنش سرما می باشد.

مواد و روش :

بذرهای گیاه بادمجان با الکل ٪۷۰ و هیپوکلریت سدیم ٪۲۰ استریل و با آب مقطر شستشو داده شدند و در غلظتهای تهیه شدهٔ ۲۴-اپی براسینولید در چهار سطح (صفر، ۰/۵، ۱، ۲ میکرو مولار)به مدت ۴۸ ساعت تیمار گردیدند و در پتریدیش های حاوی دو لایه کاغذ صافی کشت گردیدند وپتری دیش ها به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه به انکوباتور با ۱۶ ساعت روشنایی(دمای۱±۲۲ درجه سانتیگراد) و۸ ساعت تاریکی(دمای۱±۲۲درجه سانتیگراد)منتقل شدندوگروه دیگر به مدت ۴روز در دمای چهاردرجه سانتیگراد قرار گرفتند. سپس به انکوباتور انتقال یافتند. یادداشت برداری ها با توجه به تاریخ اولین جوانه زنی از روز اول آغاز و تا روز ۲۲ ادامه یافت .پس از ۲۲ روزگیاهچه ها برداشت شدند و پارامترهای جوانه زنی(۱) ، طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا(۲) اندازه گیری 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 وبحث

تجزیه واریانس داده ها نشان داد اثرات تنش سرما و ۲۴-اپی براسینولید و اثرات متقابل بین آنها بر پارامترهای جوانه زنی معنی دار بود. (جدول۱). محققان اظهار داشتند که تنش سرمایی پایین تر از ۱۵ درجه ی سانتی گراد در مرحله ی جوانه زنی منجر به استقرار ضعیف گیاهچه ها و مرگ و میر آنها می شود و درجه حرارت مطلوب برای جوانه زنی بذور معمولا دمای بالاتر از ۲۰ درجه سانتیگراد می باشد(۳).نتایج نشان داد که تنش سرما سبب کاهش درصد جوانه زنی و پارامترهای مربوط به جوانه زنی شد. جدول(۲) کاربرد ۲۴-اپی براسینولید سبب افزایش پارامترهای جوانه زنی در هر دو شرایط شاهد و سرما شد که از بین غلظت های بکار رفته غلظت ۱ میکرو مولار بهترین اثر را داشت. همچنین اثرات تنش سرما و۲۴-اپی براسینولید و اثرات متقابل آنها برطول ریشه چه و ساقه چه، وزن ترو خشک ریشه چه و ساقه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا معنی دار بود.(جدول ۳ و۱). رادیکال های فعال اکسیژن در تنش سرما افزایش می یابند(۱۱)که این رادیکال ها از طریق پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه تخریب غشاءمنجر به خسارات جدی به ساختارهای سلولی وگیاه می شوند(۳). افزایش مقاومت در برابر تنش سرما در گیاه بیشتر به اثرات براسینواستروئیدها روی پایداری غشا وتنظیم اسمزی نسبت داده شده است.(۱۲)نتایج نشان که بیشترین میزان نشت مواد در غلظت صفراپی براسینولید باتنش سرما بود و کمترین میزان آن در غلظت ۱ میکرو مولار۲۴-اپی براسینولید وجود داشته، به نظر می رسد۲۴-اپی براسینولید بکاربرده شده موجب حفظ و ثبات غشا در برابر نشت مواد داخل سلولی به خارج شده است (نمودار۱.الف). همچنین افزایش مقدار ما لون دی آلدئید درگیاهچه های تیمار شده با سرما در مقایسه با تیمار بدون سرما مشاهده شد،که کاربرد ۲۴- اپی براسینولید سبب کاهش آن در تنش سرما شد. (نمودار۱.ب)

جدول۱-نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر ۲۴-اپی براسینولید بر خصوصیات جوانه زنی و رشد گیاهچه بادمجان تحت تنش سرما وشاهد

منابع تغییر	جوانه زنی (٪)	سرعت جوانه زنی(GS)	میانگین مدت جوانه زنی(MET)	شاخص جوانه زنی(GI)	شاخص بنیه بذر (VI)	پراکسیداسیون لیپید (نانو مول بر گرم وزن گیاهچه)	نشت پذیری غشای سلولی (٪)
۲۴-اپی براسینولید	۳۸/۲۲**	۳۸/۱۵**	۲۳/۰۰۷**	۳۸/۲۲**	۱۰۲/۷۸**	۳۴۹/۷۳**	۱۲/۸۲**
سرما	۱۸۰/۲۶**	۱۸۱/۱۹**	۷۰/۷۲**	۱۸۰/۲۶**	۵۴۲/۲۶**	۷۲۳/۱۹**	۱۱۸/۵۴**
۲۴-اپی براسینولید × سرما	۲۰/۰۸**	۲۰/۵۴**	۱۲/۵۸**	۲۰/۰۸**	۱۳/۰۱**	۳/۰۸*	۴/۱۴*

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

جدول ۲- جدول مقایسه میانگین اثر غلظت های متفاوت هورمون ۲۴-اپی براسینولید بر روی شاخص های جوانه زنی گیاه بادمجان تحت سرما وشاهد

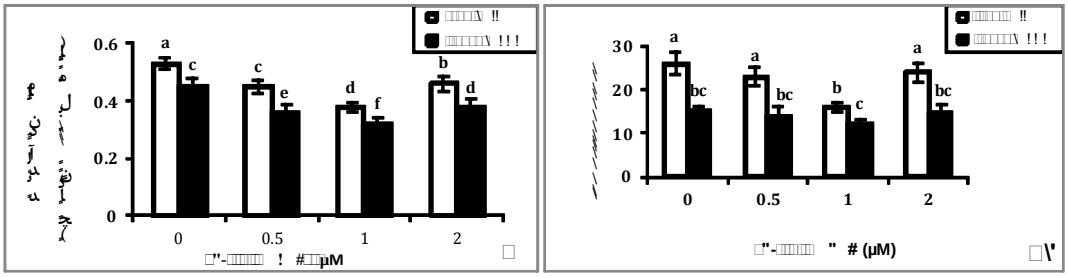
غلظت ۲۴-اپی براسینولیدμM		جوانه زنی (٪)	سرعت جوانه زنی(GS)	میانگین مدت جوانه زنی(MET)	شاخص جوانه زنی(GI)	شاخص بنیه بذر(VI)
شاهد	۰	۹۱/۶^{b} ± ۲/۸۸	۰/۸۱^{bc} ± ۰/۰۴۵	۱/۱۶^{bcd} ± ۰/۰۶۵	۲/۰۰^{bc} ± ۰/۰۵۰	۸/۱۵^{c} ± ۰/۷۹
	۰/۵	۹۳/۳^{ab} ± ۲/۸۸	۰/۸۴^{ab} ± ۰/۰۲۸	۱/۱۲^{cd} ± ۰/۰۳۴	۲/۰۳^{ab} ± ۰/۰۲۸	۹/۰۳^{b} ± ۰/۲۶
	۱	۹۸/۳^{a} ± ۲/۸۸	۰/۸۸^{a} ± ۰/۰۲۳	۱/۰۶^{d} ± ۰/۰۲۸	۲/۰۸^{a} ± ۰/۰۲۸	۱۲/۵۵^{a} ± ۰/۴۰
	۲	۹۳/۳^{ab} ± ۲/۸۸	۰/۸۲^{abc} ± ۰/۰۲۸	۱/۱۴^{cd} ± ۰/۰۳۴	۲/۰۱^{abc} ± ۰/۰۲۸	۸/۵۳^{bc} ± ۰/۴۶
تنش سرما	۰	۴۶/۶^{f} ± ۲/۸۸	۰/۴۱^{f} ± ۰/۰۲۸	۱/۶۶^{a} ± ۰/۰۵۷	۱/۵۶^{f} ± ۰/۰۲۸	۲/۵۵^{f} ± ۰/۲۷
	۰/۵	۷۸/۳^{d} ± ۲/۸۸	۰/۷۰^{de} ± ۰/۰۲۳	۱/۲۳^{bc} ± ۰/۰۹۸	۱/۸۸^{de} ± ۰/۰۲۸	۵/۶۴^{e} ± ۰/۵۳
	۱	۸۶/۶^{c} ± ۲/۸۸	۰/۷۶^{cd} ± ۰/۰۴۵	۱/۱۹^{bc} ± ۰/۱۰۲	۱/۹۵^{cd} ± ۰/۰۵۰	۷/۲۴^{d} ± ۰/۲۳
	۲	۶۳/۳^{e} ± ۲/۸۸	۰/۶۹^{e} ± ۰/۰۵۱	۱/۲۷^{b} ± ۰/۰۴۶	۱/۸۶^{e} ± ۰/۰۵۷	۵/۵۸^{e} ± ۰/۳۷

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.

جدول۳- جدول مقایسه میانگین اثر غلظت های متفاوت هورمون ۲۴-اپی براسینولید بر روی پارامترهای رشد گیاه بادمجان تحت سرما وشاهد

۲۴-اپی براسینولید μM		طول ریشه چه (cm)	طول ساقه چه (cm)	وزن تر ریشه چه (g)	وزن ترساقه چه (g)	وزن خشک ریشه چه (g)	وزن خشک ساقه چه (g)
شاهد	۰	۵/۱۰^{ab} ±۰/۳۹	۴/۱۴^{b} ± ۰/۳۳	۰/۱۱^{d} ± ۰/۰۲	۰/۲۰^{c} ± ۰/۰۳	۰/۰۱۰^{c} ± ۰/۰۰۸	۰/۰۱۹^{c} ± ۰/۰۰۳
	۰/۵	۵/۲۸^{ab} ± ۰/۱۶	۴/۶۷^{a} ± ۰/۲۵	۰/۱۳^{b} ± ۰/۰۴	۰/۲۳^{b} ± ۰/۰۲	۰/۰۱۲^{ab} ± ۰/۰۰۹	۰/۰۲۱۰^{bc} ± ۰/۰۰۲
	۱	۵/۸۰^{a} ± ۰/۳۸	۴/۷۶^{a} ± ۰/۲۰	۰/۱۴^{a} ± ۰/۰۱	۰/۲۸^{a} ± ۰/۰۵	۰/۰۱۳^{a} ± ۰/۰۰۵	۰/۰۲۶^{a} ± ۰/۰۰۲
	۲	۵/۲۲^{ab} ± ۰/۲۴	۴/۱۶^{b} ± ۰/۲۷	۰/۱۲^{c} ± ۰/۰۶	۰/۲۱^{c} ± ۰/۰۹	۰/۰۱۱^{bc} ± ۰/۰۰۹	۰/۰۲۰^{bc} ± ۰/۰۰۱
تنش سرما	۰	۲/۷۰^{d} ± ۰/۱۴	۲/۶۵^{d} ± ۰/۱۶	۰/۰۸^{e} ± ۰/۰۱	۰/۱۱^{e} ± ۰/۰۸	۰/۰۰۷^{d} ± ۰/۰۰۳	۰/۰۱۰^{e} ± ۰/۰۰۲
	۰/۵	۳/۷۵^{c} ± ۰/۶۹	۳/۴۷^{c} ± ۰/۱۵	۰/۰۹^{e} ± ۰/۰۹	۰/۱۸^{d} ± ۰/۰۸	۰/۰۰۸^{d} ± ۰/۰۰۶	۰/۰۱۷^{d} ± ۰/۰۰۱
	۱	۴/۸۰^{b} ± ۰/۱۸	۴/۱۳^{b} ± ۰/۳۷	۰/۱۱^{d} ± ۰/۰۳	۰/۲۳^{b} ± ۰/۰۳	۰/۰۱۰^{c} ± ۰/۰۰۵	۰/۰۲۱۶^{b} ± ۰/۰۰۴
	۲	۳/۷۳^{c} ± ۰/۵۷	۳/۵۵^{c} ± ۰/۱۵	۰/۰۹^{e} ± ۰/۰۲	۰/۱۷^{d} ± ۰/۰۱	۰/۰۰۸^{d} ± ۰/۰۰۹	۰/۰۱۵^{d} ± ۰/۰۰۱

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



نمودار۱.اثر ۲۴-اپی براسینولید بر نشت الکترولیت (الف)،مقدار مالون دآلدئید (ب)به عنوان شاخص پراکسیداسیون غشاء در گیاهچه بادمجان تحت شرایط شاهد و تنش سرما داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتندومیانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شد.$P< 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد .حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

نتیجه گیری کلی: نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد ۲۴- اپی براسینولید درغلظت های (۰، ۰/۵، ۱ و۲)در تیمارسرما بر گیاهچه ی بادمجان موثر بوده است.که در این میان غلظت ۱میکرومولار۲۴ -اپی براسینولید نقش برجسته تری را نسبت به سایر غلظت ها داشت .بنابراین می توان از اپی براسینولید به عنوان یک ترکیب امیدوار کننده برای استفاده از کاهش آثار تنش سرما در بادمجان استفاده کرد که البته با توجه به اینکه این تحقیق در مرحله ی اولیه رشد انجام شد،ارزیابی اثرات ۲۴-اپی براسینولید در مراحل بعدی رشد در گیاه کامل نیز پیشنهاد می شود.

منابع

۱. شریعت، آ.، م. ح. عصاره و ع. قمری زارع. ۱۳۸۹. اثر کادمیم بر برخی پارامترهای فیزیولوژی در *Eucalyptus occidentalis*. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک.۱۴(۵۳): ۱۵۳_۱۴۵.

۲. فرهودی، ر. ۱۳۹۱. اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز،نشت پذیری غشا سلولی و رشد گیاهچه ارقام کلزا. فرایند و کارکرد گیاهی. ۱(۱): ۲۴_۱۳.

3. Fu, J., and B. Huang.2001.Involvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adaptation of two cool season grasses to localized drought stress.Env.Exp.Bot.45:105-114.
4. Jiang, L., M.M. Xun, J.L. Wang and J.M. Wan. 2008. QTL analysis of cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) using recombination inbred lines. CerealScience. 48: 173-179.
5. 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.
6. Liu, Y., Z. Zhao, J. Si, C. Di, J. Han, and L.An.2009. Brassinosteriodsalleviate chilling induced oxidative damage by enhancingantioxidant defense system in suspension culturedcells of *Chorispora bungeana*. Plant Growth Regul. 59: 207-214.
7. Nguyen, H., J. Leipner, p. Stamp, and O. Guerra-peraza.2009. Low temperature stress in maize (Zea mays L.) induces genes involved in photosynthesis and signal transduction as studied by suppression subtractive phybridization.Plant physiology and Biochemistry.47:116-112.
8. Ozdemir, F., M. Bor, T. Demiral, and I. Turkan.2004. Effects of 24-pibrassinolideonseedgermination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidant system of rice(*Oryza sativa* L.) under salinity stress. Plant Growth Regul. 42: 203-211.
9. Perez, A. 1996.Eggplant:An economic assessment of the feasibility of providing multiple-peril crop insurance.Economic Research Service.202:501-6779.
10. Prusakova, LD., and SI. Chizhova.1996. The role of brassinosteroids in growth, tolerance and productivity of plants. Agrokhimiya:137±150.
11. Seppanen, M.M. 2000.Characterize of freezing tolerance in solanum commersonii(dun) with oxidative stress.University of Helsinki department of production section of crop husbandry.56:4-44.
12. Schwarz, D., Y. Roufhael, G. Colla, and J.H. Yenema.2010.Scientia Horticulturae.127:162-171
13. Wang, B., and G. Zeng.1993. Effect of epibrassinolide on the resistance of rice seedlings to chilling injury. Zhiwa Shengli Xuebal.19:53–60
14. .Xia, X.J., Y. Zhang, J.X. Wu, JT. Wang, YH. Zhou, K. Shi, Y.L. Yu, and J.Q. Yu.2009. Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber. J. Agr. Food Chem. **57**: 8406-8413.

In Fluence of 24-epibrassinolide on Germination Factors, Lipid Peroxidation and Cell Membrane Leakage in *eggplant(Solanum melongena L.)* Under cold stress

SH. Shariat zade[1] ,F. Amini[2] ,M. Askari[2]

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:

Low temperature is one of the most important abiotic factors limiting growth, development and distribution of plants. Eggplant(*Solanum melongena* L.) is chilling sensitive crop and low temperature during early period of growth can be detrimental to subsequent crop growth and productivity. Brassinosteroids (BRs) are a group of steroid hormones that are essential for plant growth ,and can increase plant tolerance to various stresses, such as cold temperature.In order to evaluate the effect of 24-epibrassinolide on improve the germination and eggplant seedling under cold stress and control trials with 24-epibrassinolide levels in both groups in a factorial

randomized complete block design with three replications.Eggplant seeds soaked for 48 h at concentrations (0,0.5,1and 2 μM) mentioned above, then seeds were placed in petridishes and in both group control and cold were investigated.control group were put for applied cold stress for 4 days in 4C.After the end of applied cold stress, seeds,were transferred to incubator.The results shows that 24-epibrassinolid has a great effects in increasing the germination parameters,length of root and shoot,fresh and dry weights of root and shoot in both situation of control and stress.Increasing of peroxidation of lipid and membrane penetration that observed in applied cold stress, has a significant decrease in treatment with 24-epibrassinolide.one micromolar density of 24-epibrassinolide has abetter effect than the other densities.

Keywords: cold stress, 24-epibrassinolide , Germination parameters, lipid peroxidation and cell membrane leakage, *eggplant(Solanum melongena L.)*.