مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۴ ، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱

مجله پژوهش‌های به زراعی

اثر محلول پاشی براسینواستروئید (BR) و نیتروپروسایدسدیم (SNP) بر محتوی رنگیزه ای گیاه دارویی گاوزبان (*Borago officinalis* L.) در شرایط تنش شوری

سیدمجتبی مهدئی[۱]، علیرضا پازکی[۲*]، رضا منعم[۲]

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی و دارویی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۳

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی براسینواستروئید و نیتروپروسایدسدیم (SNP) بر صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رویشی گیاه دارویی گاوزبان (*Borago officinalis* L.) در شرایط تنش شوری در سال ۹۶-۱۳۹۵ بر اساس یک آزمایش گلخانه‌ای در منطقه شهرری به مدت یک سال انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید که در آن تنش شوری از منبع نمک طعام (Nacl) در سه سطح (۰، ۴۵ و۹۰ میلی‌مولار)، محلول پاشی نیتروپروسایدسدیم در سه سطح (۰، ۷۵ و ۱۵۰میکرو مولار) و براسینواستروئید در دو سطح (۰ و ۱/۵ میکرومولار) در نظر گرفته شد. نتایج تحقیق نشالن داد، اثر ساده براسینواستروئید و نیترو پروساید سدیم بر تمامی صفات مورد آزمون و اثر متقابل عوامل عوامل آزمایشی بر میزان کاروتنوئید و گزانتوفیل معنی‌دار گردید. در این شرایط به دنبال افزایش میزان تنش شوری محتوی رنگیزه‌ای کاهش یافته و با کاربرد ترکیبات ضد تنش این صفات بهبود پیدا کرد. در این شرایط بیشترین میزان کاروتنوئید و گزانتوفیل به ترتیب با ۱/۶۶۶۷ و ۰/۳۳۴۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در شرایط مصرف ۱۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و ۱/۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم حاصل گردید.

واژه های کلیدی: گاوزبان، تنش شوری، براسینواستروئید، نیتروپروساید سدیم، رنگیزه

* نگارنده مسئول (alireza.pazoki@ut.ac.ir)

مقدمه

گاوزبان با نام علمی (*Borago officinalis* L.) گیاهی علفی و یک ساله با شاخه‌های متعدد و برگ‌های متناوب و بیضی شکل است. ارتفاع آن تا ۶۰ سانتی‌متر می‌رسد و از تارهای خشن جهت مقابله با نور خورشید و تشنگی پوشیده شده است. برگ‌های آن بین ۳-۱۱ سانتی‌متر طول و تا ۲/۵ سانتی‌متر عرض دارند. برگ‌ها در هر دو سطح پوشیده از کرک هستند. خوشه‌های گل به رنگ بنفش مایل به قرمز در انتهای شاخه‌ها قرار دارد. گل‌های آن معمولا معلق، به شکل خوشه‌های کم گل در نوک ساقه است (زارع زاده، ۱۳۸۳).

شوری برتمام فرایندهای اصلی مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپید و انرژی موثر بوده، درنتیجه تمام مراحل زندگی گیاه ازجوانه زنی تا تولید بیوماس و تولید دانه راتحت تأثیرقرارمی‌دهد (Parida *et al*, 2004). با افزایش شوری بازده گیاهان کم شده و پروسه‌هایی مثل فتوسنتز، تنفس، کارایی آب، غشای پلاسمایی تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Botella *et al*, 1994). تغییر در کروموزوم و ساختار کروماتین ، متیلاسیونDNA ، پلی پلوئیدی و چند برابر شدن یا حذف رشته‌های DNA نیز از عوارض مهم شوری اند (Walbot & Cullis, 1985). افزایش شوری همچنین می‌تواند باعث ایجاد تنش هیپراسموتیک و هیپرتونیک شده ،منجربه مرگ گیاه شود (Mahajan *et al*, 2005). نتایج تحقیقات نشان داد، کاروتنوئیدهای نخود در تنش شوری کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده است ولی آنتوسیانین در این شرایط افزایش پیدا کرده زیرا آنتوسیانین در تنش نقش محافظتی دارد (Parida *et al.*, 2004).

یکی از ترکیباتی که خواص آنتی‌اکسیدانی دارد براسینواستروئید است (Haubrick & Assmann, 2006). براسینو استروئیدها ترکیبات رایج تولید شده در گیاه هستند که می‌توانند به عنوان تنظیم کننده‌های رشد عمل کنند (Bishop *et al.*, 2006). به علاوه پیشنهاد شده که براسینواستروئیدها می‌توانند در گروه هورمون‌های گیاهی قرار گیرند

(Haubrick & Assmann, 2006). کاربرد بیرونی براسینواستروئید می‌تواند بر پروسه‌های مختلفی از رشد و نمو در گیاهان اثر گذار باشد (Ozdemir *et al.*, 2004؛ Cao *et al.*, 2005). در حال حاضر مشخص شده که براسینواستروئیدها باعث ایجاد محافظت در برابر تعدادی از تنش‌های غیر زنده می‌شوند (Vardhini & Rao, 2003). طول دوره‌ای که گیاه در معرض براسینواستروئید است، فواصل کاربرد، نحوه کاربرد و نوع و دز براسینواستروئید نیز می‌تواند به طور قابل توجهی رشد، عملکرد و افزایش فعالیت این ترکیبات را تحت تأثیر قرار دهد (Hola *et al.*, 2010).

نیتریک اکسید یکی از مولکول‌هایی است که اخیرا توسط محققان گیاهی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (Fan *et al.*, 2012). نیتریک اکسید یک رادیکال گازی و قابل انتشار است که بصورت درون زا در گیاهان تولید می‌شود. این ترکیب نه تنها در مناطق آب‌دوست سلول مانند سیتوپلاسم حرکت می‌کند، بلکه آزادانه از داخل فاز لیپیدی غشاءها نیز انتشار می‌یابد (Arasimowicz-Jelonek *et al.*, 2009). گزارش‌های زیادی مبنی بر نقش‌های متنوع نیتریک اکسید مانند القاء جوانه زنی بذر، تنظیم متابولیسم در پیری و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی وجود دارد (Kopyra & Gwozdz, 2004).

Sheokand *et al* (2008) در بررسی تاثیر کاربرد نیتروپروساید سدیم در شرایط تنش شوری گزارش نمودند که سدیم نیتروپروساید میزان کلروفیل را در گیاه نخود تحت تنش افزایش داده است. در تحقیق دیگر نیز محققان گزارش کردند که کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب افزایش کلروفیل b در گیاه پنبه شده است (Magdy *et al.*, 2012). محمدی و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثر نیتریک اکساید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل تحت تنش شوری بیان نمودند که کاربرد ۰/۴ میلی مولار SNP سبب افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید تحت تنش شوری و شرایط نرمال گردید و با افزایش شوری از میزان کلروفیل و کارتنوئید کاسته شد ایشان در بیان نتیجه

گیری از این تحقیق توصیه نمودند که استفاده از SNP می‌تواند بعنوان دهنده NO برای بهبود آثار منفی شوری در گیاهان بکار رود.

مواد و روش ها

به منظور بررسی اثر محلول پاشی براسینواستروئید و نیتروپروسایدسدیم (SNP) بر صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رویشی گیاه دارویی گاوزبان (*Borago officinalis* L.) در شرایط تنش شوری آزمایشی در سال ۹۶-۱۳۹۵ بر اساس یک آزمایش گلخانه ای در منطقه شهرری به مدت یک سال انجام شد. شهرستان ری در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۲ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۵ دقیقه قرار گرفته است و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۰۶۰ متر می‌باشد. آب و هوای شهر ری گرم و خشک تر از شهر تهران بوده و حداکثر مطلق دما ۴۱/۸ درجه سانتی گراد، حداقل مطلق دما ۳/۴- درجه سانتی گراد، میانگین حداقل دما ۱۳/۷ درجه سانتی گراد و میانگین حداکثر دما ۳۲/۲ درجه سانتی گراد می‌باشد. فصل گرما از خرداد تا مهر ماه و مطلوب ترین دما در فروردین و اردیبهشت ماه است.

جهت تعیین خصوصیات خاک (بافت خاک و خصوصیات شیمیایی خاک) قبل از اجرای آزمایش اقدام به نمونه برداری از خاک مورد استفاده برای گلدانها گردید. یک نمونه که نماینده کاملی از خاک مورد استفاده برای گلدانها بود جهت تعیین بافت خاک و میزان ترکیبات شیمیایی موجود در خاک به آزمایشگاه ارسال گردید.

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک مورد استفاده در آزمایش

EC ds/m	PH	TNV %	OC %	Total N %	P(ava) Mg/kg	K(ava) Mg/kg	Cly %	Silt %	Sand %	Texture
شوری گل اشباع	اسیدیته	آهک	کربن آلی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	رس	لای	ماسه	بافت
۳/۲۳	۷/۲۶	۱۶	۲/۱۶	۰/۱۳	۱۱۲	۲۲۴	۱۴	۱۳	۴۴	شنی لوم

جدول ۲- عناصر ریزمغذی موجود در خاک مورد آزمایش بر اساس نتایج آزمایش خاک

Fe Mg/kg	Zn Mg/kg	Cu Mg/kg	Mn Mg/kg
آهن	روی	مس	منگنز
۶/۳۴	۱/۱۱	۰/۸۷	۱۱/۴۷

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید که در آن تنش شوری از منبع نمک طعام (Nacl) در سه سطح (۰، ۴۵ و ۹۰ میلی مولار) و محلول پاشی نیتروپروسایدسدیم در سه سطح (۰ ،۷۵ و ۱۵۰میکرومولار) و براسینواستروئید در دو سطح (۰ و ۱/۵ میکرومولار) در نظر گرفته شد. محلول پاشی برازینواستروئید و نیتروپروساید سدیم با غلظت‌های ذکر شده بر حسب نوع تیمار به فاصله ۱۰ روز یکبار انجام گرفت. تعداد دفعات محلول پاشی ۴ بار بود که اولین محلول پاشی ۷روز قبل از اعمال تنش شوری انجام شد. گیاهان بعد از گذشت ۱۲ هفته از زمان کاشت جهت اندازه گیری صفات نمونه برداری شدند.

به منظور تهیه محیط رویش تعداد ۷۲ گلدان با اندازه‌های ۳۰ سانتی متر قطر دهانه گلدان و ۳۵ سانتی متر ارتفاع گلدان انتخاب گردید. از کف گلدان تا ارتفاع ۴ سانتی متر شن درشت برای زهکشی مناسب و به میزان ۷ کیلوگرم از خاک مورد نظر پر شد. وزن

گلدان خالی (میانگین وزن ۱۰ گلدان به صورت تصادفی اندازه گیری شد) ۱۰۰ گرم تعیین شد. پس از آماده سازی خاک و پر نمودن گلدان‌ها و پس از کاشت بر اساس طرح آزمایش چیده شدند. بذور مورد نیاز تهیه گردید و در هر گلدان با تعداد زیاد کشت شد تا در نهایت پس از جوانه زنی و سبز شدن با تنک کردن، تعداد بوته‌ها در هر گلدان به ۵ عدد با فاصله ۵ سانتی متر رسید. در زیر گلدان‌ها از زیر گلدانی استفاده شد تا در صورت هر گونه شستشوی بر اثر آبیاری، آب جمع شده در زیر گلدانی مجددا به گلدان برگردانده شود. کاشت گلدانی گیاه دارویی گاوزبان با استفاده از خاک کشاورزی سنجش شده از نظر عناصر ضروری خاک، قبل از استفاده و اصلاح آن و افزودن مواد لازم به آن انجام شد.

اندازه‌گیری کلروفیل a، b، a+b

برای سنجش غلظت کلروفیل ۰/۲ گرم نمونه‌ی برگی (نمونه‌ی تازه یا منجمد شده) در استون ۸۰٪ عصاره گیری شد (در هاون چینی به وسیله‌ی استون ۸۰٪ ساییده می‌شود). سپس در روی یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتر قیف قرار داده و درون قیف، کاغذ صافی (لزومی ندارد واتمن باشد) گذاشته و عصاره‌ی حاصل را در آن ریخته و با استون اطراف کاغذ صافی را شستشو داده و این کار تا رسیدن به حجم ۲۵ میلی‌لیتر و استخراج کامل کلروفیل ادامه داده می‌شود. توصیه می‌شود در زمان عصاره گیری، عصاره‌های تهیه‌ی شده در بالن، در تاریکی نگهداری شوند. جذب نوری کلروفیل a و b به ترتیب در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده می‌شوند. با استفاده از رابطه‌ی زیر غلظت کلروفیل a و b و کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم برگ تازه (تر) به دست آورده شد. برای صفر کردن دستگاه از استون ۸۰٪ استفاده شد (Arnon, 1948).

$$\text{کلروفیل a} = [12.7 \times (A663) - 2.69 \times (A645)] \times \frac{V}{1000W}$$

$$\text{کلروفیل b} = [22.9 \times (A645) - 4.68 \times (A663)] \times \frac{V}{1000W}$$

$$\text{کلروفیل a+b} = [20.2 \times (A645) + 8.02 \times (A663)] \times \frac{V}{1000W}$$

A= میزان جذب نوری هر نمونه که در اسپکتروفتومتری خوانده‌شده و بر حسب نانومتر است.

V= میزان استونی است که عصاره به وسیله‌ی آن به حجم رسانده شده است و بر حسب میلی‌لیتر می‌باشد که ۲۵ میلی‌لیتر است.

W= مقدار نمونه‌ی برگی که به منظور تهیه‌ی عصاره استفاده می‌شود و بر حسب گرم است که ۰/۲ گرم می‌باشد.

برای تعیین غلظت کاروتنوئید جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۸۰ نانومتر قرائت می‌شود و برای محاسبه‌ی آن از رابطه‌ی زیر استفاده گرفت.

غلظت کاروتنوئید =

$$\left(\frac{1000\,(A480)-\frac{1}{85}\text{Chlorophyll a}-95.02\,\text{Chlorophyll b}}{198}\right)\times\frac{v}{(w\times1000)}$$

اندازه‌گیری گزانتوفیل

مقدار گزانتوفیل با استفاده از روش Neogy *et al* (2001) انجام شد. در این شرایط حدود ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ جهت آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. بافت برگی با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ در دمای ۴ درجه سانتی گراد با استفاده از هاون پودر و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. باقیمانده انتهای ویال نیز دوباره مورد عصاره گیری قرار گرفت. این عمل تا جایی که باقیمانده کاملاً بی رنگ شد، ادامه یافت. سپس فاز مایع عصاره استونی حاصل سه بار همراه با حجم برابر هگزان در قیف‌های مجزا هم زده شد و بعد از آن بخش ترکیب شده با هگزان با استفاده از یک حجم برابر از آب حذف گردید. جهت جدانمودن گزانتوفیل از سایر کاروتن‌ها، بخش‌های حاوی هگزان چند بار از متانول ۹۰٪ استفاده گردید. میزان جذب بخش حاوی گزانتوفیل در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. داده‌های حاصل نیز به صورت میلی گرم برگرم وزن تر ارائه شد.

سنجش میزان آنتوسیانین

برای اندازه گیری غلظت آنتوسیانین موجود در برگ‌ها از روش Wagner (1979) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم برگ وزن و در هاونی که حاوی ۵ میلی لیتر متانول اسیدی بود، ساییده و مجدداً ۵ میلی لیتر متانول اسیدی به ان اضافه گردید. عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای آزمایشگاه قرار گرفت و بعد به مدت

۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. ۳ میلی لیتر از محلول رویی در کووت ریخته شد و شدت جذب آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد و برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی معادل ۳۳۰۰۰ $mM^{-1}\ cm^{-1}$ استفاده گردید.

اندازه‌گیری کارتنوئید

مقدار کارتنوئید با استفاده از روش Neogy *et al* (2001) انجام شد. حدود ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ جهت آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. بافت برگی با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ در دمای ۴ درجه سانتی گراد با استفاده از هاون پودر و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. باقیمانده انتهای ویال نیز دوباره مورد عصاره گیری قرار گرفت. این عمل تا جایی که باقیمانده کاملاً بی رنگ شد، ادامه یافت. سپس فاز مایع عصاره استونی حاصل سه بار همراه با حجم برابر هگزان در قیف‌های مجزا هم زده شد و بعد از آن بخش ترکیب شده با هگزان با استفاده از یک حجم برابر از آب حذف گردید. جهت جدا نمودن کارتنوئید از سایر کاروتن‌ها، بخش‌های حاوی هگزان چند بار از متانول ۹۰٪ استفاده گردید. میزان جذب بخش حاوی کارتنوئید در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. داده‌های حاصل نیز به صورت میلی گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

در این تحقیق تجزیه‌های آماری و همچنین رسم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای SAS و Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز به کمک آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

کلروفیل **a+b،b ،a**

نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۳ بیان داشت که از بین فاکتورهای مورد بررسی تنها اثرات اصلی کاربرد براسینواستروئید، نیتروپروساید سدیم و تنش شوری بر میزان کلروفیل‌های a, b, a+b معنی‌دار بود و اثرات متقابل آنها

معنی‌دار نشد. نتایج مقایسات میانگین اثر اصلی تنش شوری نیز نشان داد که بالاتری میزان کلروفیل a، b و a+b به ترتیب با میانگین ۸/۶۴، ۳/۵۴ و ۱۲/۱۷ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار عدم تنش شوری بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۴/۸۶، ۱/۸۵ و ۶/۷۱ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار اعمال تنش شوری با کلرید سدیم ۹۰ میلی مولار حاصل شد (جدول ۴). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های اثر اصلی براسینواستروئید در جدول ۴ نشان داد که بیشترین مقادیر کلروفیل a، b و a+b به ترتیب با میانگین ۷/۲۵، ۲/۹۴و ۱۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار کاربرد ۱/۵ میکرومولار بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۶/۳۷، ۲/۴۲ و ۸/۷۹ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار عدم کاربرد براسینواستروئید حاصل شد (جدول ۴). افزایش کلروفیل ب‌وسیله براسینواستروئید در گیاه کلزا (عبادی، ۱۳۹۳) و گل گازانیا (پارسیار، ۱۳۹۳) گزارش شده است. مطالعات انجام شده توسط مسلم (۱۳۹۴) نشان داد که براسینواستروئید می‌تواند باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل در گیاه ذرت شود.

در خصوص نتایج مقایسات میانگین اثر کاربرد نیتروپروساید سدیم بر صفات کلروفیل a، b و a+b نیز بالاترین میزان با میانگین ۷/۳۴، ۳/۰۶ و ۱۰/۴۰ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار کاربرد ۱۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم بدست آمدو کمترین میزان نیز به ترتیب با میانگین ۶/۴۲، ۲/۴۰ و ۸/۸۱ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار عدم کاربرد نیتروپروساید حاصل گردید (جدول ۴). Neill *et al* (2008) گزارش نمودند که کاربرد خارجی سدیم نیتروپروساید، بسته شدن روزنه را تحریک و سلول‌ها را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند. محلول‌پاشی این ترکیب نفوذپذیری غشاء، نشت الکترولیت‌ها و همچنین میزان پراکسید هیدروژن موجود در برگ را کاهش داده و از این طریق مانع تخریب کلروفیل‌ها در اثر کاربرد این ترکیب

می‌گردد که نتایج حاصل از این تحقیق نیز موید این امر می‌باشد.

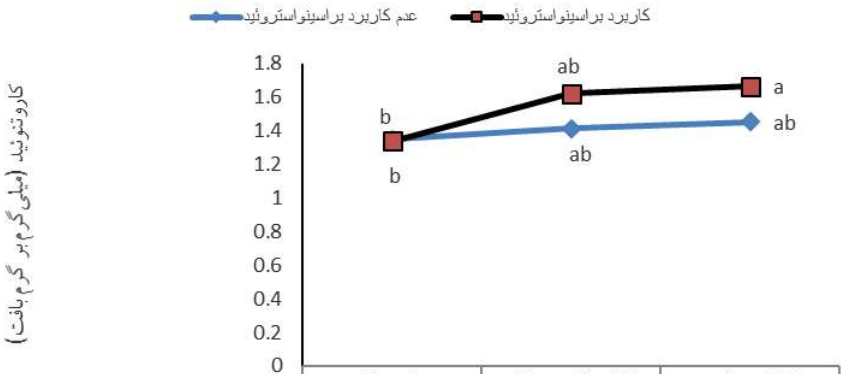
گزارش شده است که در شوری مقدار اتیلن افزایش یافته در نتیجه کلروفیل گیاه به دلیل فعالیت آنزیم کلروفیلاز کاهش چشمگیری پیدا کرده است (Prasad, 1996). همچنین نشان داده شده است که ROS در تنش شوری ازطریق اتیلن باعث تجزیه کلروفیل و کلروپلاست می‌گردد. نیزاز دلایل دیگر کاهش کلروفیل در تنش شوری را تأثیر در جذب یونهایی مثل Fe, Mg می‌داند که در ساختار کلروپلاست نقش اساسی دارند و بنابراین با کاهش جذب این یونها سنتز کلروفیل کاهش یافته در نتیجه فتوسنتز گیاه هم کاهش پیدا می‌کند (Sairam *et al;* 1998). همچنین گزارش شده که تنش شوری باعث باز شدن حلقه‌های پورفیرینی شده و مواد سمی‌حاصل از این تجزیه به واکوئل منتقل شده، وجود این ترکیبات باعث از بین رفتن رنگ سبز برگ شده است (Parida *et al.*, 2004). کلروفیل‌ها مهمترین رنگدانه‌های جذب کننده نور در غشای تیلاکوئیدی کلروپلاست می‌باشند. این رنگدانه‌های سبز، دارای ساختمان چند حلقه‌ای مشابه پروتوپورفیرین موجود در هموگلوبین هستند. با این تفاوت که در مرکز آنها Mg^{2+} به جای Fe^{2+} قرار گرفته است. کلروپلاست‌ها همیشه هر دو کلروفیل a و b را دارند. هر دوی این کلروفیل‌ها سبز می‌باشند تا دامنه جذب نوری یکدیگر را در ناحیه مرئی تکمیل کنند (Lyengar & Reddy, 1996).

کاروتنوئید و گزانتوفیل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که هر سه اثر اصلی کاربرد براسینواستروئید، نیتروپروساید و تنش شوری و همچنین اثر متقابل براسینواستروئید در نیتروپروساید بر محتوای کارتنوئید و گزانتوفیل در گیاه گاوزبان معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسات میانگین اثر اصلی تنش شوری نشان داد که بیشترین میزان کارتنوئید و گزانتوفیل به ترتیب با میانگین ۱/۷۷ و ۰/۳۵ میلی‌گرم بر

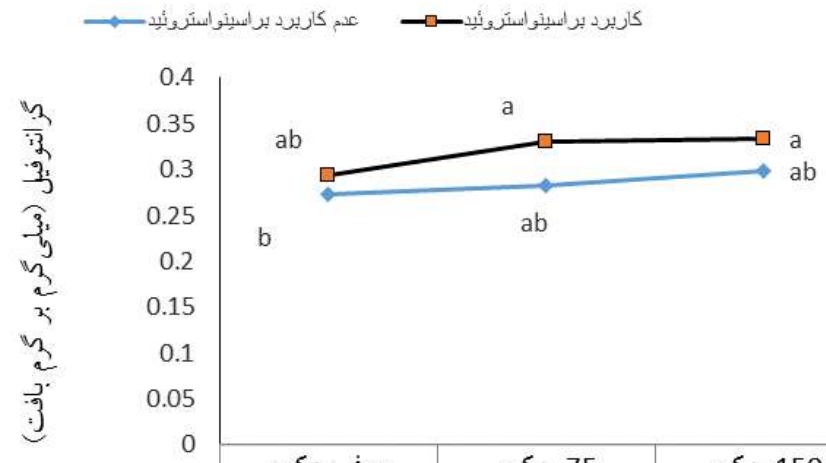
گرم وزن تر از تیمار عدم تنش شوری بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین‌های ۱/۲۴ و ۰/۲۶ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار اعمال تنش شوری با کلرید سدیم ۹۰ میلی مولار بدست آمد (جدول ۴). نتایج اثرات متقابل کاربرد براسینواستروئید و نیترو پروساید سدیم نیز نشان داد که بالاترین میزان با میانگین ۱/۶۶ و ۰/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار کاربرد ۱/۵ میکرومولار براسینواستروئید و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۱/۲۳ و ۰/۲۷ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار عدم کاربرد براسینواستروئید و نیترو پروساید بدست آمد (شکل ۱ و ۲). گزارش شده که تنش شوری باعث باز شدن حلقه‌های پورفیرینی شده و موادسمی‌حاصل از این تجزیه به واکوئل منتقل شده و در عین حال وجود این ترکیبات باعث از بین رفتن رنگ سبز برگ شده است (Parida *et al.*, 2004). اما از اثر شوری برکاروتنوئیدها و سایر رنگیزه‌های غیرفتوسنتزی می‌توان به گزارشاتی نظیر (Gadallah ,1999) اشاره کرد که کاروتنوئیدهای نخود درتنش شوری کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده است. محققان گزارش نمودند که تنش موجب کاهش رنگیزه‌ها به واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسون و در نتیجه تجزیه رنگیزه‌ها می‌شود (Sharma *et al.*, 2013). در تحقیق حاضر کاربرد سدیم نیتروپروساید و براسینواستروئید تاثیر مثبتی بر این صفات داشتند. در این مورد به نظر می‌رسد که اثر کاربرد همزمان این دو ماده به گونه‌های آزاد اکسیژن فعال بر می‌گردد، زیرا رادیکال‌های آزاد اکسیزن اصلی‌ترین عامل هستند که در شرایط تنش موجب خسارات و شکستن رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های ساختاری دستگاه فتوسنتزی می‌شوند، لذا استفاده همزمان از این دو ماده توانسته است از کاهش میزان کارتنوئید بر اثر

رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری کند.



	صفر میکرو مولار SNP	75 میکرو مولار SNP	150 میکرو مولار SNP
عدم کاربرد براسینواستروئید	1.3478	1.4133	1.4544
کاربرد براسینواستروئید	1.34	1.6233	1.6667

شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات کاربرد نیتروپروساید سدیم و براسینواستروئید بر کارتنوئید برگ گیاه دارویی گاو زبان

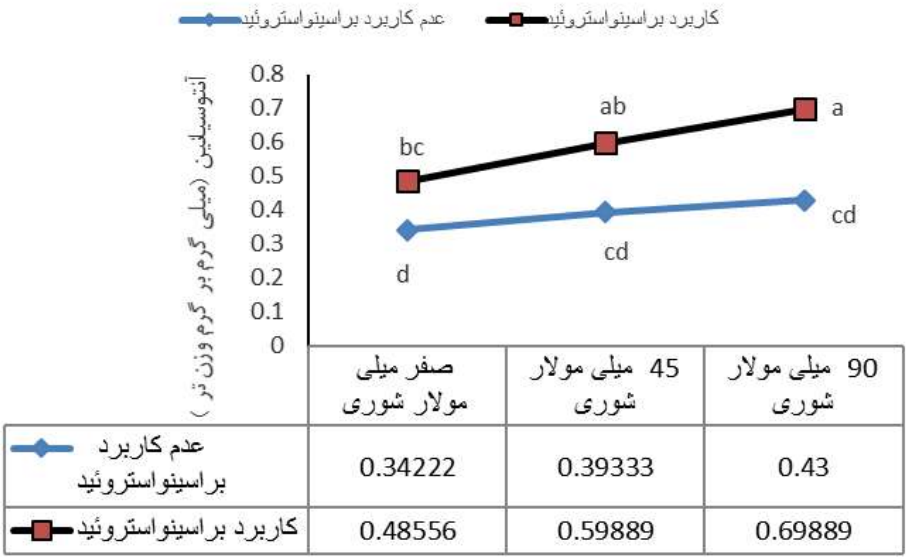


	صفر میکرو مولار SNP	75 میکرو مولار SNP	150 میکرو مولار SNP
عدم کاربرد براسینواستروئید	0.27333	0.28333	0.29889
کاربرد براسینواستروئید	0.29333	0.33111	0.33444

شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات کاربرد نیتروپروساید سدیم و براسینواستروئید بر گزانتوفیل برگ گیاه دارویی گاو زبان

آنتوسیانین

بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که از بین فاکتورهای مورد بررسی هر سه اثر اصلی کاربرد براسینواستروئید، نیتروپروساید سدیم و تنش شوری و همچنین اثرات متقابل دوگانه براسینواستروئید در تنش شوری بر میزان آنتوسیانین معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسات میانگین اثرات متقابل دو گانه حاکی از آن بود که بالاترین میزان آنتوسیانین با میانگین ۰/۶۹ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار کاربرد ۱/۵ میکرومولار براسینواستروئید و اعمال تنش شوری با ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۰/۳۴ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار عدم کاربرد براسینواستروئید و عدم تنش شوری بدست آمد (شکل ۳). به نظر می‌رسد کاربرد براسینواستروئید می‌تواند بعنوان عامل دفاعی در گیاه عمل کرده و ترکیباتی نظیر آنتوسیانین و پرولین را افزایش داده و از این طریق با تنش‌های محیطی مقابله نماید. نتایج مقایسات میانگین مربوط به کاربرد نیتروپروساید سدیم نیز حاکی از افزایش این آنتوسیانین در اثر کاربرد این ترکیب بود که بیشترین میزان با ۰/۶۰ میلی گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان با ۰/۴۱ میلی گرم بر گرم وزن تر به ترتیب از کاربرد ۱۵۰ میکرومولار و عدم کاربرد بدست آمد (جدول ۴). از اثر شوری برکاروتنوئیدها و سایر رنگیزه‌های غیرفتوسنتزی می‌توان به گزارشاتی نظیر (Gadallah, 1999) اشاره کرد که کاروتنوئیدهای نخود درتنش شوری کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده است ولی آنتوسیانین در این شرایط افزایش پیدا کرده زیرا آنتوسیانین در تنش‌ها نقش محافظتی دارد (Parida *et al.*, 2004). آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های محلول در آب و از خانواده فلاونوئیدها هستند (Holton & Cornish., 1995). آنتوسیانین‌ها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند و به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می کنند. (Lin-Wang *et al.*, 2010).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات کاربرد براسینواستروئید و تنش شوری بر آنتوسیانین برگ گیاه دارویی گاو زبان

جدول ۳- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات رنگیزه ای در گیاه گاوزبان تحت تیمارهای مختلف آزمایشی

	میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل a+b	کاروتنوئید	گزانتوفیل	آنتوسیانین
شوری (A)	۲	۶۴/۶۲**	۱۲/۷۸**	۱۳۴/۷۲**	۱/۳۱**	۰/۰۴۱۱**	۰/۰۸۶**
براسینواستروئید (B)	۱	۱۰/۵۰**	۳/۷۰**	۲۶/۶۷**	۰/۲۶*	۰/۰۱۶۰**	۰/۵۷۲**
نیتروپروساید سدیم (C)	۲	۴/۰۸**	۲/۰۷**	۱۱/۹۸**	۰/۱۵*	۰/۰۰۰۶**	۰/۱۷۲**
a×b	۲	۰/۱۱ ns	۰/۰۳ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۳۴**
a×c	۴	۰/۱۴ ns	۰/۱۳ ns	۰/۳۷ ns	۰/۰۶ ns	۰/۰۰۱۹ ns	۰/۰۰۶ ns
b×c	۲	۰/۲۶ ns	۰/۳۷ ns	۱/۲۱ ns	۰/۱۵*	۰/۰۰۵۶**	۰/۰۰۱ ns
a×b×c	۴	۰/۲۲ ns	۰/۱۰ ns	۰/۴۲ ns	۰/۱۰ ns	۰/۰۰۵۹ ns	۰/۰۴۲ ns
خطا	۳۶	۰/۴۳	۰/۱۷	۰/۷۵	۰/۰۵	۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (درصد)		۹/۶۱	۱۵/۳۸	۹/۱۲	۱۵/۸۰	۱۳/۰۵	۱۴/۸۰

*و ** به ترتیب نشانگر معنی‌دار بودن در سطوح احتمال 5 و 1 درصد می‌باشند.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات رنگیزه ای موجود در برگ‌های گاوزبان تحت اثرات اصلی عوامل مختلف آزمایشی

تیمارها	کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل a+b	کاروتنوئید	گزانتوفیل	آنتوسیانین
			(میلی گرم بر گرم وزن تر)			
کلرید سدیم						
صفر میلی مولار	۸/۶۴a	۳/۵۴a	۱۲/۱۷a	۱/۷۷a	۰/۳۵a	۰/۴۱b
۴۵ میلی مولار	۶/۹۳b	۲/۶۷b	۹/۶۱b	۱/۴۲b	۰/۲۹b	۰/۵۱a
۹۰ میلی مولار	۴/۸۶c	۱/۸۵c	۶/۷۱ c	۱/۲۴ c	۰/۲۶b	۰/۵۵a
براسینواستروئید						
صفر میکرومولار	۶/۳۷b	۲/۴۲b	۸/۷۹ b	۱/۴۰b	۰/۲۸b	۰/۵۹a
۱/۵ میکرومولار	۷/۲۵a	۲/۹۴a	۱۰/۱۹a	۱/۵۴a	۰/۳۲a	۰/۳۸b
نیتروپروساید سدیم						
صفر میکرومولار	۶/۴۲b	۲/۴۰b	۸/۸۱b	۱/۳۸b	۰/۲۹b	۰/۴۱c
۷۵ میکرومولار	۶/۶۷b	۲/۶۰b	۹/۲۷ b	۱/۴۹ab	۰/۳۰ab	۰/۴۷b
۱۵۰ میکرومولار	۷/۳۴a	۳/۰۶a	۱۰/۴۰a	۱/۵۶a	۰/۳۲a	۰/۶۰a

در هر ستون و برای هر عامل، حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات سه گانه شوری، براسینواستروئید و نیتروپروساید سدیم بر صفات رنگیزه ای برگ گیاه گاوزبان

عامل‌ها			aکلروفیل	bکلروفیل	a+bکلروفیل	کاروتنوئید	گزانتوفیل	آنتوسیانین
			(میلی گرم بر گرم وزن تر)					(میلی گرم بر گرم وزن تر)
No NaCl	صفر میکرومولار براسینواستروئید	No SNP	۸/۰۱bcd	۲/۸۷c-f	۱۰/۸۸cd	۱/۵۵b-e	۰/۳۳bc	۰/۳۲ef
		75 µM SNP	۷/۹۴b-e	۲/۹۰c-f	۱۰/۸۴cd	۱/۵۴b-f	۰/۳۵b	۰/۴۳de
		150 µM SNP	۸/۹۲ab	۳/۹۱ab	۱۲/۸۳ab	۱/۸۳bc	۰/۳۳bc	۰/۷۱a
	۱/۵ میکرومولار براسینواستروئید	No SNP	۸/۴۴bc	۳/۴۸bc	۱۱/۹۲bc	۱/۵۸b-e	۰/۳۴b	۰/۳۰f
		75 µM SNP	۸/۹۷ab	۳/۷۵ab	۱۲/۷۲ab	۲/۲۲a	۰/۳۵b	۰/۳۳ef
		150 µM SNP	۹/۵۷a	۴/۳۰a	۱۳/۸۶a	۱/۸۸ab	۰/۴۳a	۰/۳۹def
45 mM NaCl	صفر میکرومولار براسینواستروئید	No SNP	۵/۸۹hij	۲/۳۹efg	۸/۲۸gh	۱/۴۵c-g	۰/۳۱bcd	۰/۵۰cd
		75 µM SNP	۶/۳۹fgh	۲/۲۴fgh	۸/۶۳fgh	۱/۳۹d-g	۰/۲۴e	۰/۵۸bc
		150 µM SNP	۷/۱۳d-g	۲/۶۸def	۹/۸۰def	۱/۲۷d-g	۰/۲۷cde	۰/۷۲a
	۱/۵ میکرومولار براسینواستروئید	No SNP	۶/۸۹e-h	۲/۴۴ef	۹/۳۳efg	۱/۲۷d-g	۰/۲۷cde	۰/۳۳ef
		75 µM SNP	۷/۴۲c-f	۳/۰۱cde	۱۰/۴۳de	۱/۴۸c-g	۰/۳۴b	۰/۴۶cd
		150 µM SNP	۷/۹۰b-e	۳/۲۶bcd	۱۳/۸۶a	۱/۶۵bcd	۰/۳۲bc	۰/۴۹cd
90 mM NaCl	صفر میکرومولار براسینواستروئید	No SNP	۴/۴۵k	۱/۶۰hi	۶/۰۵ij	۱/۲۴efg	۰/۲۵de	۰/۷۱a
		75 µM SNP	۴/۱۲k	۱/۴۸i	۵/۶۱j	۱/۱۱g	۰/۲۴e	۰/۶۹ab
		150 µM SNP	۴/۴۸k	۱/۷۴ghi	۶/۲۲ij	۱/۲۶efg	۰/۲۶de	۰/۷۰ab
	۱/۵ میکرومولار براسینواستروئید	No SNP	۴/۸۴jk	۱/۵۹hi	۶/۴۳ij	۱/۱۷fg	۰/۲۷cde	۰/۲۷f
		75 µM SNP	۵/۱۹ijk	۳/۲۶bcd	۷/۴۱hi	۱/۱۷fg	۰/۳۱bcd	۰/۳۲ef
		150 µM SNP	۶/۰۵ghi	۲/۴۸ef	۸/۵۳fgh	۱/۴۷c-g	۰/۲۴e	۰/۵۸bc

کلیه میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل یک حرف مشترک دارند از نظر آماری با آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

منابع

زارع زاده، ع. ۱۳۸۳. دایرزه العمارف گیاهان دارویی. بی تا. انتشارات وصال.

محمدی، س.م.، و. رامئه ، م. گرامی، س. اسدی صنم، و م. خوشروز. ۱۳۹۴. اثر نیتریک اکساید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیا یی گیاه دارویی سرخارگل تحت تنش شوری. نخستین کنفرانس ملی توسعه کشاورزی، زمین سالم. ۳۰ دی ماه ۱۳۹۴.

Arasimowicz-Jelonek M., J. Floryszak-Wieczorek, and J. Kubis. 2009. Interaction between polyamine and nitric oxide signaling in adaptive responses to drought in cucumber. J. Plant Growth Reg. 28: 177-186.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphennoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology. 24(1):1-150.

Botella M.A, A.K. Quesada, Kononowicz, R.A. Bressan, F. Pliego, P.M. Hasegawa, and V. Valpuesta. 1994 Characterization and in-situ localization of a salt – induced tomato peroxidase messenger-RNA . Plant Mol Biol. 25 :105-114.

Cao, S., Q. Xu, Y. Cao, K. Qian, K. An, Y. Zhu, H. Binzeng, H. Zhao, and B. Kuai, 2005. Loss of function mutation in Det2 gene lead to an enhanced resistance to oxidative stress in Arabidopsis. Physiol. Plant. 123: 57-66.

Gadallah M A A, 1999 Effect of proline and glycinebetaine on Vicia faba response to salt stress. Biol Plant. 42 :249-257.

Haubrick, L.L. and S.M. Assmann. 2006. Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles. Plant,Cell and Environ. 29: 446-457.

Hola, D., O. Rothova, M. Koˆcova, L. Kohout, and M. Kvasnica. 2010. The effect of brassinosteroids on the morphology, development and yield of field-grown maize. Plant Growth Regul. 61: 29–43.

Holton, T.A. and E.C. Cornish. 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. Plant Cell. 9: 1071-1083.

2008. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. Journal Exp Bot. 59: 165-176.

Neogy, M., J.K. Datta, S. Mukherji, and A.K. Roy. 2001. Effect of aluminium on pigment content, hill activity and seed yield in mungbeen, Indian J. Plant Physiol. 6: 381–385.

Ozdemir F., M. Bor, T. Demiral, and I. Turkan. 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress, Plant Growth Regul. 42: 203–211.

Prasad, M.N.V. 1996 Plant ecophysiology .John Wiley and Sons, Inc, New York 542 pages: 173-206.

Parida, A.K, A.B. Das, B. Mittra, and P. Mohanty. 2004. Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove, *Bruguiera parviflora* .L .Naturforsch. 59 : 408-414.

Sairam, R.K. 1994. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisturestress conditions

Kopyra, M. and E.A. Gwozdz. 2004. The role of nitric oxide in plant growth regulation and responses to abiotic stress. Acta Physiol. Plant. 26: 459-472.

Lin-Wang, K., K. Bolitho, K. Grafton, A. Kortstee, S. Karunairetnam, T. Mc Ghie, R. Espley, R. Hellens, and A. Allan. 2010. An R2R3 MYB transcription factor

Lyengar E.R.R, and M.P. Reddy. 1996 Photosynthesis in highly salt tolerant plants .In :Pesserkali M, Ed Handbook of photosynthesis .Marshal Dekar, Baten R, USA:897-909.
associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae. Plant

Magdy, A.S., M.M. Hazem, A.M. Alia, and A.I. Alshaima. 2012. Effect of sodium nitroprusside, putrescine and glycine betaine on alleviation of drought stress in cotton plant. American Eurasian. Journal Agric Environ Sci. 12(9): 1252-1265.

Neill, S., R. Barros, J. Bright, R. Desikan, J. Hancock, J. Harrisan, P. Morris, D. Ribeiro, and I. Wilson.

Vardhini, B.V. and S.S.R. Rao. 2006. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum. Plant Growth Regulation. 41(1): 25-31.

Walbot, V. and C.A. Cullis. 1985 Rapid genomic change in higher plants . Annu .Rev .Plant physiol .Plant Mol Biol. 36 :367-396.

Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Journal of Plant Physiology. 64: 88-93.

of two wheat varieties, Plant Growth Regul.14: 173–181.

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

Sheokand, S., A. Kumari, and V. Sawhney, V. 2008. Effect of nitric oxide and putrescence on ant oxidative responses under NaCl stress in chickpea plants. Physiol and Molecular Biol of Plants. 14(4): 355-362.

The effect of foliar application of brassinosteroid (BR) and sodium nitroprusside (SNP) on pigment content of Borago (*Borago officinalis* L.) under salinity stress conditions

S.M. Mahdaei[1], A.R. Pazoki[2*], R. Monem[2]

1- M.Sc Graduated, Department of Agronomy, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2-Ecophysiology Research Center of Agricultural and Medicinal Plants, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

In order to investigate the effect of Effect of brassinosteroids and sodium nitroprusside (SNP) foliar application on physiological, biochemical and morphological traits of Borago (*Borago officinalis* L.) under salt stress conditions, based on a greenhouse experiment was conducted in Shahriar region in 2016-2017. The experiment was conducted as factorial based on completely randomized design with four replications. In which salinity stress from the source of Nacl at three levels (0, 40 and 80 mM), Nitroprosium sodium sulfate was applied at three levels (0, 75 and 150 µM) and brassinosteroids at two levels (0 and 1.5 µm) Were considered. The simple effect of brassinosteroid and sodium nitroprusside on all experimented traits and the interaction effect of experimental factors on carotenoid and xanthophyll content were significant. In these conditions, after increase in salinity stress, the pigment content decreased and these traits improved with anti-stress compounds consumption. So the highest amount of carotenoid and xanthophyll with 1.6667 mg/g and 0.3344 mg/g were obtained with 150 µM sodium nitroprusside and 1.5 µM brassinosteroids consumption.

Keywords: Borago, Brosinosteroids, Pigment, Salinity stress, Sodium nitroprusside

* Corresponding author (alireza.pazoki@ut.ac.ir)