علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هشتم/ شماره اول/ ۱۴۰۰ (۷۶ - ۶۳)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2021.5203

اثر برازینواستروئید بر صفات مرفولوژیک و فیزیولوژیک آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش شوری

علی‌رضا نوروزی‌شرف*[۱]، مریم کاویانی[۲]، مهرداد رسولی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۱۹

چکیده

پژوهش حاضر با هدف کاهش اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی و مراحل اولیه رشد گیاه دارویی آویشن باغی با استفاده از کاربرد برازینواستروئید در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای انجام شد. بذرهای آویشن باغی در معرض تیمار شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) و برازینواستروئید (۰/۵، ۱ و ۳ میکرومولار) قرار گرفتند، و سپس شاخص‌های گوناگون جوانه‌زنی و رشد و نیز برخی ویژگی‌های فیتوشیمیایی در گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که در شرایط شوری، بیش‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی (۹۵ درصد) در پایین‌ترین غلظت نمک (۵۰ میلی‌مولار) و بالاترین غلظت برازینواستروئید (۳ میکرومولار) مشاهده شد. کاربرد غلظت‌های مختلف برازینواستروئید باعث بهبود ارتفاع ریشه و ساقه و نیز افزایش میزان وزن خشک و تر گیاهچه‌های آویشن باغی شد، به‌طوری‌که در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، میزان طول ریشه و ساقه در نمونه‌های تیمارشده با ۳ میکرومولار برازینواستروئید نسبت به نمونه‌های تیمارشده با ۰/۵ میکرومولار برازینواستروئید به‌ترتیب حدود ۳۰/۵ و ۴۲/۹ درصد افزایش یافتند. میزان پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز (POD) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در گیاهچه‌های تیمارشده با غلظت بالاتر برازینواستروئید نسبت به غلظت‌های پایین‌تر به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند و این گیاهچه‌ها نفوذپذیری غشای (پراکسیده‌شدن لیپید) کم‌تری داشتند. نتایج ضریب همبستگی نشان داد که بین نفوذپذیری غشای یاخته (پراکسیده‌شدن لیپید) و همه صفات بیوشیمیایی و مرفولوژیک اندازه‌گیری‌شده مربوط به رشد گیاهچه همبستگی منفی وجود دارد. بر اساس نتایج این پژوهش، کاربرد برازینواستروئید با غلظت ۳ میکرومولار در مرحله حساس جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه‌های آویشن باغی تحت تنش شوری پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، تنش شوری، نفوذپذیری غشا، کشت درون‌شیشه‌ای

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران noroozi@sjau.sc.ir
۲- مربی، گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران maryamkaviani@yahoo.com
۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران mehrdadrasoli1@yahoo.com
*نویسنده مسئول: noroozi@sjau.sc.ir

مقدمه

کشت گیاهان دارویی با ارزش تولیدی و صادراتی بالا در شرایط آب و هوایی کنونی حاکم بر کشور از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. آویشن باغی به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم با نام علمی *Thymus vulgaris* L. از خانواده نعنائیان (Laminacea) می‌باشد. از میان ۲۵۰ گونه موجود در جهان این جنس، ۱۸ گونه در ایران گزارش شده است (Mozaffarian, 2008; Nickavar *et al.,* 2005). از این گیاه دارویی در طب سنتی به‌عنوان هضم‌کننده غذا، خلط‌آور، ضد نفخ، رفع‌کننده التهابات حنجره، ضداسپاسم و ضد برونشیت استفاده می‌شود (Miraj and Kiani, 2016) و اسانس آن خاصیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانت دارد و در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربرد دارد (Hamdy Robya *et al.,* 2013; JabriKaroui *et al.,* 2016; Manconi *et al.,* 2018). آویشن باغی دارای بوته‌های پرشاخه و متراکم است و تکثیر آن از طریق بذر، تقسیم بوته و قلمه صورت می‌پذیرد. تولید نشای بذری در بستر گلخانه و انتقال آن‌ها به زمین اصلی همواره به‌منظور غلبه بر عدم یکنواختی رشد گیاه در نظر گرفته می‌شود. لیکن، بذور و گیاهچه-های تازه بیرون‌آمده از آن‌ها در معرض خطر شرایط نامساعد محیطی از جمله شوری قرار دارند (Zia *et al.,* 2010).

بخش گسترده‌ای از مناطق کشور با مشکل شوری خاک و یا آب روبرو است، به گونه‌ای که از کل ۱۶/۵ میلیون هکتار زمین‌های کشت‌پذیر، حدود ۲/۴ میلیون هکتار را زمین‌های شور تشکیل می‌دهد (Zehtabsalmasi, 2008). نخستین تأثیر شوری بر گیاهان اختلال در جوانه‌زنی بذرها و عدم یکنواختی در پدیدارشدن گیاهچه‌ها از طریق اختلال در هورمون‌ها و مواد تنظیم‌کننده درونی رشد است (Silva *et al.,* 2018). جوانه‌زنی ضعیف بذور و کاهش چشمگیر رشد نخستین گیاه و در نتیجه از میان‌رفتن گیاهچه‌ها در شرایط شوری در گیاهان مختلف گزارش شده است (Piovan *et al.,* 2014; Qu *et al.,* 2008). تنش شوری به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر از آستانه تحمل، باعث تأخیر و یا جلوگیری از جوانه‌زنی بذر از طریق تغییر در شرایط اسمزی، سمیت یونی و به‌دنبال آن تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن از قبیل پراکسیدهیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل می‌شود (Croser *et al.,* 2001). علاوه بر این تنش شوری در غلظت‌های بالا بر غشای یاخته اثر می‌گذارد و منجر به پراکسیده‌شدن لیپیدها و تولید ماده مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. در مقابله با این نوع اختلالات، گیاهان از طریق سازوکارهای محافظتی ویژه‌ای از قبیل متابولیت‌های غیر آنزیمی و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث کاهش اثرات ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Lokhande *et al.,* 2011). افزایش تولید و آزادشدن گونه‌های فعال اکسیژن موجب پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های غشاهای سلولی می‌شود و به این ترتیب غشاها سلامت خود را از دست می‌دهند، در نتیجه میزان نشت الکترولیت‌ها از سلول افزایش می‌یابد (Goel *et al*., 2003). سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در طی زوال بذر جلوگیری می‌کنند (Yao *et al*., 2012).

یکی از راهکارهایی که در دهه اخیر برای مبارزه با این تنش پیشنهاد شده است، استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌باشد. بنابراین، در این پژوهش از برازینواستروئید برای کاهش اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر گیاه ارزشمند آویشن باغی استفاده شد. برازینواستروئیدها یک دسته از پلی‌هیدروکسی استروئیدهای گیاهی هستند که به‌عنوان گونه‌ای از هورمون‌های گیاهی شناخته می‌شوند و نقش ویژه‌ای در نمو گیاه بازی می‌کنند (Sharma and Dietz, 2009). نقش‌های متعدد برازینواستروئیدها در رشد و نمو گیاه از جمله اثرات آن بر استحکام ساقه و برگ، عدم تاخوردگی برگ، رشد لوله گرده و تحریک بیوسنتز اتیلن، نمو شکوفه‌ها و میوه، آغازش فرایندهای گلدهی، فعالسازی پمپ پروتون و نیز فعالسازی فتوسنتز (Bajguz and Hayat, 2009) به اثبات رسیده است لذا قادرند سیستم-های دفاعی گیاه را در برابر تنش‌های محیطی نظیر شوری فعال کنند (Ali *et al*., 2017). برازینواستروئیدها نقش مهمی در مقابله با انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی ایفا می‌کنند (Krishna, 2003). کاربرد بیرونی برازینواستروئیدها باعث افزایش تحمل به دماهای بالا و پایین، تنش خشکی و رطوبتی و همچنین سبب مقابله با تنش شوری ناشی از NaCl (Sasse, 2003) و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانت (Antioxidant system) در

گیاهان مواجه‌شده با شوری شده است (Nunez *et al.,* 2003). همچنین، برازینواستروئید باعث افزایش تثبیت نیتروژن و تولید گره و نیز بهبود محتوای متابولیت در گیاه نخود (Ali *et al.,* 2007) و افزایش رشد، فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه خردل (Hayat *et al.,* 2006) تحت تنش شوری شده است. بررسی مقاومت به شوری در مراحل مختلف رشد آویشن باغی در مطالعات پیشین گزارش شده است (Najafian *et al*., 20142009 ;Cordovilla *et al*.,). در مطالعه اخیر، اثر تنش شوری در رشد اولیه گیاه آویشن باغی، ویژگی‌های فیتوشیمیایی، کیفیت و کمّیت اسانس آن گزارش شده است (Bistgani *et al.,* 2019). با این همه، تا کنون اثر محافظتی برازینواستروئید بر جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه آویشن باغی تحت تنش شوری مورد بررسی قرار نگرفته است. در این پژوهش، جدا از بررسی اثر غلظت‌های مختلف شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و برخی ویژگی‌های رشدی و مواد بیوشیمیایی گیاهچه‌های آویشن باغی، تأثیر کاربرد برازینواستروئید برای مقابله با اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای این گیاه بررسی و ارزیابی شد. این پژوهش می‌تواند راهکاری به‌منظور افزایش تحمل این گیاه در مراحل حساس جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها در شرایط شوری آب و یا خاک ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو عامل شوری و برازینواستروئید با سه تکرار انجام شد. بذورآویشن باغی از شرکت پاکان بذر (اصفهان) خریداری شد و در سال ۹۷ و در آزمایشگاه کشاورزی دانشگاه سید جمال الدین اسدآبادی شهر اسدآباد تحت آزمایش قرار گرفت. پس از پاک‌سازی اولیه، بذور ابتدا با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم (یک درصد) به‌مدت ۱۵ دقیقه و سپس با قارچ‌کش بنلیت (دو در هزار) به‌مدت پنج دقیقه گندزدایی و در نهایت با آب مقطر سه بار شستشو داده شدند.

برازینواستروئید از شرکت مرک آلمان خریداری شد. به‌منظور ارزیابی جوانه‌زنی، در هر ظرف آزمایشگاهی (پتری‌دیش ۱۵ سانتی‌متری) ۳۰ عدد بذر ضدعفونی‌شده با هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفت. ظروف حاوی محیط کشت موراشیگ-اسکوگ با غلظت‌های مختلف NaCl (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) و برازینواستروئید به‌صورت محلول (۰/۵، ۱ و ۳ میکرومولار) بود. ظروف حاوی بذور به اتاقک رشد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۲/۱۲ ساعت (روز/شب) و شدت روشنایی برابر با ۲۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه منتقل شدند، و به‌مدت دو هفته به‌طور روزانه شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مورد بررسی قرار گرفت. درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب از روابط (۱) و (۲) به دست آمد (Nadjafi *et al.,* 2006).

$$GP=(Gi/N)\times 100 \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آن GP، درصد جوانه‌زنی، Gi، تعداد بذرهای جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای مورد آزمایش

$$GR=\sum(\frac{n}{t}) \quad \text{(رابطه ۲)}$$

n شمار بذرهایی است که جدیداً در زمان t جوانه زده‌اند و t شامل روزهای پس از کشت است. اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها از نمونه‌های رشدکرده دارای ریشه‌چه و ساقه‌چه انجام پذیرفت. نخست وزن تر نمونه‌ها به دست آمد و سپس با قراردادن نمونه‌ها در آون به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سلسیوس، وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، و گیاهچه با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ بر حسب میلی‌متر انجام گرفت.

معیارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی

پرولین

برای اندازه‌گیری میزان پرولین، نخست ۰/۵ گرم نمونه را پس از ساییدن در هاون با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد مخلوط کرده و پس از سانتریفیوژکردن در ۱۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه، عصاره شناور برداشته شد. سپس این عصاره با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق و به آن پنج میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و بعد پنج میلی‌لیتر استیک-اسید گلاسیال افزوده شد. پس از بهم‌زدن کامل مخلوط و قرارگیری آن در حمام آب جوش به‌مدت ۴۵ دقیقه، به نمونه‌ها پنج میلی‌لیتر بنزن اضافه و به‌مدت نیم ساعت به حالت سکون رها شدند. پس از تهیه استانداردهایی از غلظت‌های پرولین (صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر)، میزان جذب محلول و استانداردها در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری و در واحد میکرومول در گرم وزن تر محاسبه شد (Irigoyen *et al.,* 1992).

پراکسیده‌شدن لیپید

میزان پراکسیده‌شدن لیپید از طریق اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌دست می‌آید. از این جهت، ۰/۵ گرم نمونه تازه با نیتروژن مایع ساییده و یک میلی‌لیتر بافر فسفات (pH برابر با ۷/۲) به آن افزوده و عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به محلول روشناور،تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربی‌تیوریک‌اسید اضافه گردید و پس از قرار گرفتن در حمام آب جوش بلافاصله در یخ سرد و دوباره سانتریفیوژ شد. جذب مایع با دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments ItdT80+UV/VIS) در طول موج ۵۳۲ نانومتر و نیز طول موج غیراختصاصی ۶۰۰ نانومتر برای حذف جذب دیگر رنگیزه‌ها اندازه‌گیری شد (Heath and Packer, 1968).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (POD) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) نخست استخراج پروتئین صورت‌گرفت. برای این منظور، ۰/۵ گرم از بافت نمونه پس از ساییده‌شدن و نرم‌شدن در هاون، در میکروتیوب قرار گرفت و بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار به آن افزوده و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن، از محلول روشناور جهت سنجش این آنزیم‌ها استفاده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از عصاره‌ی آنزیمی سنجش، گایاکول ۲۲۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۴۵ میلی‌مولار، و بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار انجام و میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه در دقیقه (µMol/g FW.min) به‌دست آمد (Salehi *et al.*, 2012). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، عصاره آنزیمی، و محلول واکنش حاوی متیونین ۱۳ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۲ میکرومولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار و EDTA ۰/۱ میلی‌مولار استفاده شد. سپس، اجزای بالا در دستگاه شیکر در معرض دو لامپ فلورسنت ۴۰ وات به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و بعد میزان جذب آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت SOD نیز بر حسب µMol/g FW به‌دست آمد (Gong *et al.*, 2005).

مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد برآورده شد و از نرم‌افزار SAS برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

اثر برهمکنش شوری و برازینواستروئید در همه صفات اندازه‌گیری‌شده به‌جز سرعت جوانه‌زنی، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت شوری از میزان درصد جوانه‌زنی کاسته شد. افزایش غلظت برازینواستروئید در همه تیمارهای شوری باعث افزایش معنی‌دار در مقدار درصد جوانه‌زنی شد، به‌طوری‌که در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، میزان درصد جوانه‌زنی در بذرهای تیمارشده با ۳ میکرومولار برازینواستروئید نسبت به بذرهای تیمارشده با ۰/۵ میکرومولار برازینواستروئید، ۵۰ درصد افزایش یافت. در شرایط شوری، بیش‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی (۹۵ درصد) در پایین‌ترین غلظت نمک (۵۰ میلی‌مولار) و بالاترین غلظت برازینواستروئید (۳ میکرومولار) مشاهده شد. نتایج نشان داد که سرعت جوانه‌زنی در این آزمایش تحت تاثیر غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید قرار نگرفت.

میزان رشد گیاهچه‌های آویشن باغی که با پارامترهای طول ریشه و ساقه و نیز وزن تر و خشک توده گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد، به‌طور معنی‌داری تحت غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید قرار گرفت. در همه غلظت‌های مختلف برازینواستروئید، با افزایش شوری میزان طول ساقه (به‌جز در غلظت ۰/۵ میکرومولار برازینواستروئید) و طول ریشه گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). با این حال، کاربرد غلظت‌های مختلف برازینواستروئید باعث بهبود ارتفاع ریشه و ساقه شد، به‌طوری‌که در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، میزان طول ریشه و ساقه در گیاهچه‌های آویشن باغی تیمارشده با سه میکرومولار برازینواستروئید نسبت به بذرهای تیمارشده با ۰/۵ میکرومولار برازینواستروئید به‌ترتیب حدود ۳۰/۵ و ۴۲/۹ درصد افزایش یافتند. میزان وزن خشک گیاهچه‌های آویشن باغی نیز با کاربرد برازینواستروئید در شرایط تنش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیش‌ترین میزان وزن خشک در تیمارهای سه میکرومولار برازینواستروئید بدون تنش شوری مشاهده شد. با این همه، هنگام مواجه گیاهچه‌ها در بالاترین شدت تنش

(۲۰۰ میلی‌مولار)، به‌کارگیری سه میلی‌مولار برازینواستروئید نسبت به ۱ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌مولار به‌ترتیب باعث افزایش ۸ و ۲۳/۵ در وزن خشک شد. اثر کاربرد برازینواستروئید بر میزان برخی مواد بیوشیمیایی و سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های آویشن باغی در غلظت‌های مختلف شوری معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که میزان پرولین به عنوان یک ماده تنظیم‌کننده شرایط اسمزی یاخته در گیاهچه‌ها، در پی افزایش غلظت شوری در همه سطوح برازینواستروئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۱). با این حال، بالاترین غظت برازینواستروئید (سه میکرومولار) به‌ترتیب باعث افزایش ۲۸/۵ و ۱۲/۵ درصدی میزان پرولین نسبت به غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میکرومولار آن در شرایط شوری شدید (۲۰۰ میلی‌مولار) شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورد بررسی

Table 1. Analysis of variance for studied traits

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means squares								
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه زنی Germination rate	طول ریشه Root length	طول ساقه Shoot length	وزن خشک Dry weight	پرولین Prolin	مالون‌دی‌آلدهید MDA	پراکسیداز Peroxidase	سوپراکسیددیسموتاز SOD
برازینو استروئید Brassinosteroid	2	729.75**	0.0459*	790.77**	1763.01**	0.30**	582709.75**	13652500.00**	178071.28**	1.84**
شوری Salinity	3	1126.00**	0.0075ns	356.17**	413.01**	1.14**	730675.00**	5131041.67**	82153.20**	2.26**
Brassinosteroid × Salinity	6	124.75**	0.0001ns	17.05**	23.20**	0.03**	43744.75**	117916.67**	9842.18*	0.70**
خطا Error	24	1.01	0.01	4.01	5.06	0.003	3469.00	11117.00	3704.09	0.02
ضریب تغییرات CV%	-	1.16	24.91	3.36	3.51	3.33	6.78	3.79	6.65	26.69

Ns، * و ** به ترتیب بیان‌گر غیرمعنی‌داری، معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد هستند

Ns, * and ** are not significant, significant at 5% and 1%, respectively

جدول ۲- اثر غلظت‌های برازینواستروئید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های آویشن باغی تحت تنش شوری

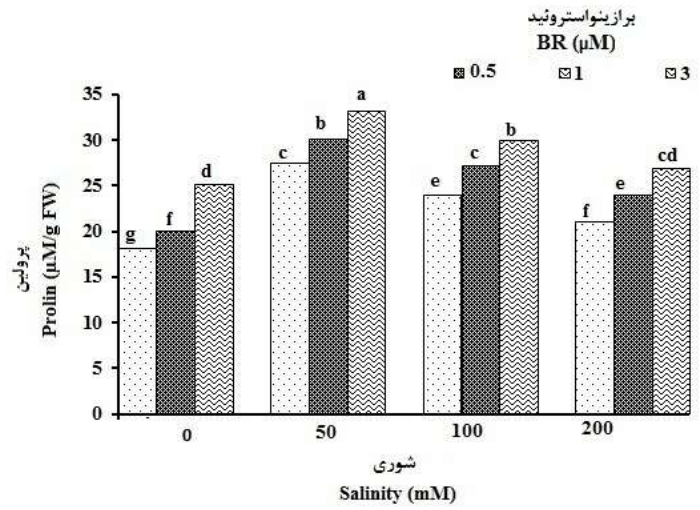
Table 2. Effect of various concentrations of brassinosteroid on germination and incipient growth indices of garden thyme seedlings under different salt stress conditions

تیمارها Treatments		درصد جوانه‌زنی (درصد) Germination percentage (%)	سرعت جوانه زنی Germination rate	طول ریشه (میلی-متر) Root length (mm)	طول ساقه (میلی-متر) Shoot length (mm)	وزن خشک (میلی‌گرم) Dry weight (mg)
برازینواستروئید (میکرومول) Brassinosteroid (µM)	شوری (میلی‌مول) Salinity (mM)					
0.5	0	100^{a}	0.38^{a}	29.0^{de}	26.0^{gh}	1.80^{c}
	50	80^{e}	0.36^{a}	27.2^{ef}	24.1^{i}	1.66^{d}
	100	75^{f}	0.34^{a}	25.0^{g}	22.0^{j}	1.45^{f}
	200	60^{h}	0.32^{a}	23.0^{h}	21.0^{j}	1.19^{h}
1	0	100^{a}	0.42^{a}	32.1^{c}	31.0^{cd}	2.23^{b}
	50	90^{d}	0.40^{a}	30.0^{d}	29.0^{e}	1.74^{cd}
	100	80^{e}	0.38^{a}	28.0^{e}	27.0^{fg}	1.57^{e}
	200	70^{g}	0.33^{a}	26.0^{fg}	25.1^{hi}	1.36^{g}
3	0	100^{a}	0.50^{a}	40.1^{a}	40.02^{a}	2.91^{a}
	50	95^{b}	0.48^{a}	34.2^{b}	34.0^{b}	1.79^{cd}
	100	92^{c}	0.46^{a}	32.0^{c}	32.1^{c}	1.68^{d}
	200	90^{d}	0.44^{a}	30.0^{d}	30.0^{de}	1.47^{f}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی ندارند

Mean in each column followed by same letters are not significantly different at 5% level using Tukey's test

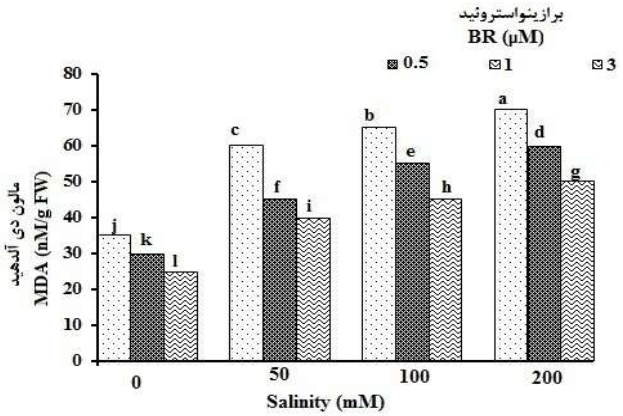
Ns, * and ** are not significant, significant at 5% and 1%, respectively



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید بر میزان پرولین گیاهچه‌های آویشن باغی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی ندارند.

Figure 1. Effect of different salt and brassinosteroid concentrations on the proline content of garden thyme seedlings. Mean in each column followed by different letters are significantly different at 5% level using Tukey's test.

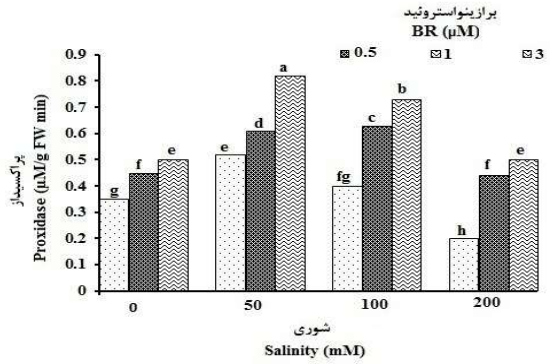
میزان پراکسیده‌شدن لیپید از طریق اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی برای استحکام غشای یاخته ارزیابی شد. نتایج نشان داد که در پی افزایش غلظت شوری در تمام تیمارهای برازینواستروئید، افزایش معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدئید رخ داد (شکل ۲). از سوی دیگر، در سطوح مختلف شوری، افزایش غلظت تیمار برازینواستروئید باعث کاهش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدئید نسبت به غلظت‌های پایین‌تر آن شد. کاربرد سه میکرومولار برازینواستروئید نسبت به کاربرد ۱ و ۰/۵ میکرومولار، توانست به‌ترتیب منجر به کاهش ۲۰ و ۴۰ درصدی محتوای مالون‌دی‌آلدئید در غلظت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و نیز کاهش ۲۲/۷ و ۴۴/۵ درصدی مالون‌دی‌آلدئید در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار شود.



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید گیاهچه‌های آویشن باغی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی ندارند.

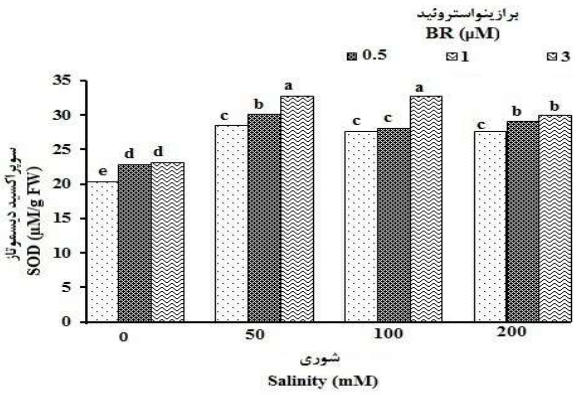
Figure 2. Effect of different salt and brassinosteroid concentrations on the malondialdehyde content of garden thyme seedlings. Mean in each column followed by same letters are not significantly different at 5% level using Tukey's test.

همچنین نتایج نشان داد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت POD و SOD در گیاهچه‌های آویشن باغی به‌طور معنی-داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید قرار گرفتند.کاربرد شوری نسبت به شاهد (شوری صفر) در همه سطوح برازینواستروئید باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های POD و SOD شد، ولی فعالیت این دو آنزیم در پی افزایش غلظت شوری کاهش یافت. نتایج نشان داد که (شکل ۳ و ۴) بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم SOD (۳۳ میکرومول بر گرم وزن تر) و POD (۰/۸۵ میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه) در تیمار سه میکرومولار برازینواستروئید در شرایط تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. با این وجود، در بالاترین غلظت شوری (۲۰۰ میلی‌مولار)، فعالیت آنزیم POD در تیمار سه میکرومولار برازینواستروئید نسبت به کاربرد ۱ و ۰/۵ میکرومولار به‌ترتیب ۱۳/۶ و ۱۵۰ درصد افزایش داشت، درحالی‌که افزایش فعالیت آنزیم SOD در چنین شرایطی ۲/۷ و ۸/۵ درصد بود.



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) گیاهچه‌های آویشن باغی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی ندارند.

Figure 3. Effect of different salt and brassinosteroid concentrations on the peroxidase (POD) activity of garden thyme seedlings. Mean in each column followed by same letters are not significantly different at 5% level using Tukey's test.



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف شوری و برازینواستروئید بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) گیاهچه‌های آویشن باغی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی ندارند.

Figure 4. Effect of different salt and brassinosteroid concentrations on the superoxide dismutase (SOD) activity of garden thyme seedlings. Mean in each column followed by same letters are not significantly different at 5% level using Tukey's test.

جدول ۳ ضرایب همبستگی ساده بین نه صفت مورد بررسی را در گیاهان آویشن باغی نشان می‌دهد. بیش‌ترین همبستگی ساده بین صفات مربوط به صفت طول ریشه با طول ساقه به‌دست آمد. کم‌ترین همبستگی بین سرعت جوانه‌زنی با وزن خشک به‌دست آمد. از بین صفات اندازه-گیری‌شده تنها بین نفوذپذیری غشای یاخته (محتوای

مالون‌دی‌آلدئید) و صفات بیوشیمیایی و مرفولوژیک اندازه-گیری‌شده مربوط به رشد گیاهچه‌های آویشن باغی همبستگی منفی وجود داشت و بقیه صفات باهم همبستگی مثبت داشتند.

جدول ۳- ضرایب ساده همبستگی صفات بیوشیمیایی و مرفولوژیک آویشن باغی پس از تیمار با برازینواستروئید در شرایط تنش شوری

Table 3. Pearson correlation between various biochemical and morphological traits in garden thyme seedlings as affected by brassinosteroid and salt stress conditions.

Variables متغیرها	1	2	3	4	5	6	7	8	9
درصد جوانه‌زنی 1. Germination percentage	1	0.508**	0.814**	0.765**	0.816**	0.841**	- 0.855**	0.784**	0.743**
سرعت جوانه‌زنی 2. Germination rate		1	0.677**	0.604**	0.399**	0.414**	- 0.460**	0.764**	0.536**
طول ریشه 3. Root length			1	0.971**	0.846**	0.924**	- 0.905**	0.911**	0.924**
طول ساقه 4. Shoot length				1	0.797**	0.909**	- 0/909**	0.879**	0.891**
وزن خشک 5. Dry weight					1	0.961**	- 0.821**	0.757**	0.907**
پرولین 6. Prolin						1	- 0.909**	0.802**	0.946**
مالون‌دی‌آلدهید 7. MDA							1	- 0.839**	- 0.784**
سوپراکسیددیسموتاز 8. Superoxide dismutase								1	0.793**
پراکسیداز 9. Proxidase									1

* و ** به‌ترتیب بیان‌گر معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد هستند

Ns, * and ** are not significant, significant at 5% and 1%, respectively.

بحث

بذرهای آویشن باغی تحت تیمارهای شوری با غلظت اندک برازینواستروئید، کم‌ترین میزان جوانه‌زنی را داشتند. با افزایش غلظت شوری از درصد جوانه‌زنی بذرها و نیز از رشد اولیه گیاهچه‌ها بیش‌تر کاسته شد. هو و همکاران (Hu *et al.,* 2018) در پژوهشی گزارش کردند که میزان کاهش رشد و وزن خشک گیاهچه در گیاه شاهدانه تحت تنش شوری بستگی به نوع رقم، نوع و غلظت به‌کار رفته نمک دارد. غلظت بالای نمک با تغییر در شرایط اسمزی مانع جذب آب توسط بذر می‌شود و یا از طریق سمیت یونی منجر به اختلال در متابولیسم جنین و به‌دنبال آن تأخیر و یا جلوگیری از جوانه‌زنی بذر می‌گردد (Khalid *et al.,* 2015). در مطالعه حاضر، کاربرد برازینواستروئید (صرف نظر از غلظت اعمال‌شده) در همه سطوح شوری باعث افزایش بهبود درصد جوانه‌زنی، و نیز بهبود رشد گیاهچه و میزان وزن خشک آویشن باغی شد. کوکر و همکاران (Cukor *et al.,* 2018) نشان دادند که غلظت اندک برازینواستروئید (۰/۰۰۴میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای کاج نقره‌ای (*Pinussilvestris*) در شرایط تنش گرمایی شدند. افزون بر این، در پژوهشی که توسط ظفری و همکاران (Zafari *et al.,* 2017) بر روی مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر گیاه گلرنگ تحت تنش خشکی انجام شد، کاربرد برازینواستروئید منجر به افزایش وزن خشک گیاهچه‌ها شد. استفاده از برازینواستروئید نیز باعث افزایش جوانه‌زنی در نخود، خردل هندی و تنباکو شده است (Leubner-Metzger, 2001; Ali *et al.,* 2007). افزایش تقسیم یاخته‌ای، طویل‌شدن ساقه‌چه و ریشه‌چه در پی کاربرد برازینواستروئید در گیاهان مختلف باغبانی نیز گزارش شده است (Ali, 2017). بنابراین برازینواستروئید نقش کلیدی در کاهش رادیکال‌های آزاد تولیدشده توسط تنش

شوری را دارد. همچنین در مطالعه حاضر برازینواستروئید با جلوگیری از صدمه بافت بذر و جنین از تنش اکسیداتیو، شاخص‌های جوانه‌زنی را افزایش داده است.

در مطالعه حاضر بذرهای تحت تنش شوری، پرولین بالاتری نسبت به شاهد داشتند (شکل ۱). ولی حداکثر پرولین دربذرهای جوانه‌زده تحت تیمار ۳ میکرومولار برازینواستروئید مشاهده شد. افزایش پرولین در پی تیمار برازینواستروئید ممکن است در ارتباط باکاهش مصرف پرولین در پی تشکیل حداقلی پروتئین (Sharma *et al*., 2013) یا افزایش پرولین در پی هیدرولیز پروتئین باشد (Verma *et al*., 2018). میزان نفوذپذیری غشای که از طریق میزان مالون‌دی‌آلدئید برآورد شد، در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تحت تنش شوری به‌طور چشمگیری بیش‌تر از شاهد (شوری صفر) بود، لذا همبستگی منفی بین پراکسیداسیون لیپید و سایر صفات دیده می‌شود (جدول ۳). تنش شوری در غلظت‌های بالا بر غشای یاخته اثر می‌گذارد و منجر به پراکسیده‌شدن لیپید و تولید ماده مالون‌دی‌آلدئید می‌شود (Lokhande *et al.,* 2011). در مطالعه حاضر، آن دسته از گیاهچه‌های آویشن که با غلظت‌های بالای برازینواستروئید تیمارشده بودند از استحکام غشایی بالاتری نسبت به نمونه‌های تحت تنش شوری تیمارشده با غلظت اندک (۰/۵ میکرومولار) برازینواستروئید برخوردار بودند، به گونه‌ای که میزان پراکسیده‌شدن لیپید در نمونه‌های تیمارشده با برازینواستروئید ۱ و ۳ میکرومولار به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود. یکی از مسیرهای متابولیک تأثیر شوری بر کاهش و یا بازداری کامل رشد گیاه، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و در پی آن افزایش نفوذپذیری غشا و فروپاشی دیواره یاخته از طریق تجزیه لیپید موجود در دیواره است (Zia *et al.,* 2010). بنابر نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر، یکی از سازوکارهای برازینواستروئید در بهبود رشد اولیه گیاهچه‌های آویشن باغی در شرایط تنش شوری را احتمالاً می‌توان به اثر این ماده بر محتوای پرولین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتازو در پی آن استحکام دیواره یاخته‌ای و جلوگیری از پراکسیده‌شدن لیپید نسبت داد.

همان‌طور که در نتایج گفته شد، میزان فعالیت این دو آنزیم‌آنتی‌اکسیدانت در نمونه‌های مواجه‌شده با تنش شوری که با غلظت‌های بالاتر برازینواستروئید تیمارشده بودند به‌مراتب بیش‌تر از نمونه‌های تیمارشده با غلظت پایین این ماده بودند (شکل ۳ و ۴). برازینواستروئید باعث بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانت آنزیمی از قبیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز تحت تنش شوری حتی در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl شد (Çoban and Baydar, 2016). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در پی تیمار برازینواستروئید به‌دلیل اکسیداسیون مواد مضر و افزایش رونویسی ژن‌های پراکسیداز است (Mahesh *et al*., 2013). آنزیم سوپراکسیددیسموتازخط مقدم دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد است. این آنزیم با تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن، اثر مخرب آنیون سوپراکسید را از بین می‌برد (Alscher *et al*., 2002). در مطالعه حاضر با افزایش غلظت برازینواستروئید فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت که در نتیجه عمل حذف آنیون سوپراکسید افزایش یافته و در پی آن مقاومت به تنش شوری را به‌دنبال داشت. همبستگی منفی بین مالون‌دی‌آلدئید با صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک، پرولین و آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز وجود دارد، به‌طوری که با کم‌شدن مقدار مالون‌دی‌آلدئید فعالیت آنزیم‌های مذکور افزایش یافته است که احتمالا این افزایش در پاسخ به تولید اکسیژن‌های رادیکال‌های آزاد ناشی از شوری بوده است. احتمالا این نتیجه نشان-دهنده این مطلب است که برازینواستروئید اثر تنش شوری را از طریق سازوکار دفاعی خود کاهش می‌دهد و باعث بالا رفتن آنزیم SOD و POD نیز شده است (Zhong *et al*., 2020). از آن جایی‌که فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت تنها سازوکار دفاعی گیاه در کاهش خسارت‌های اکسیداتیو نیست تولید پرولین نیز می‌تواند عامل دیگری در کاهش خسارت‌های اکسیداتیو باشد. گزارش شده است که اسمولیت‌ها مانند پرولین نقش مهمی را در تنظیم اسمزی ایفا می‌کنند و همچنین از طریق جاروب‌کردن ROSها از سلول حفاظت می‌کنند. کاهش مقادیر مالون-دی‌آلدئید میزان آسیب به غشاها و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشای را کاهش می‌دهد و از تخریب بافت‌ها ممانعت می‌کند (Farzana *et al*., 2019). به‌همین دلیل همبستگی منفی بین آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدانت و پرولین با MDA وجود دارد. با توجه به همبستگی مثبت بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پرولین با صفات رشدی شامل طول ریشه، طول ساقه و وزن خشک می‌توان بیان کرد افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و POD سبب جلوگیری از کاهش وزن خشک و افزایش طول ریشه و طول ساقه گردید. وجود همبستگی مثبت بین طول ساقه و طول ریشه در نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که رشد بیش‌تر ریشه سبب جذب بیش‌تر آب می‌گردد و این نیز منجر به انجام بهتر مراحل متابولیک و استفاده بیش‌تر از مواد غذایی می‌شود، در نتیجه رشد ساقه افزایش می‌یابد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که افزایش جلوگیری از تخریب غشاهای سلولی و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید نشانگر تاثیر مثبت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بر سلامت غشاهای سلولی است که منجر به همبستگی منفی بین افزایش عملکرد صفات رشدی با کاهش مالون‌دی‌آلدئید می‌باشد. جدول ۳ نشان داد که همبستگی منفی و معنی‌داری میان درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی با غلظت مالون‌دی‌آلدئید وجود دارد که بیانگر اثر مخرب تخریب غشای سلولی بر رشد گیاهچه است. گزارش شده است که بین رشد اجزای گیاهچه و فعالیت آلفاآمیلاز با غلظت مالون‌دی‌آلدئید و نشت‌پذیری غشای سلولی همبستگی منفی وجود دارد (Dkhil and Denden, 2010). بنابراین می‌توان گفت تخریب غشای سلولی و افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید منجر به کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز شده و کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز تحت تاثیر تنش شوری سبب کاهش متابولیسم ذخایر غذایی بذر و در نتیجه کاهش رشد و طول گیاهچه گیاهان می‌شود، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. محققین تخریب غشاهای سلولی تحت تاثیر تنش شوری را در گیاه ذرت گزارش نمودند. ایشان افزایش تجمع یون سدیم در بافت گیاه و تاثیر منفی آن بر ساختار غشای سلولی را عامل تخریب غشای سلولی و کاهش رشد گیاهچه بیان نمودند (Rasouli *et al*., 2017; Gunes *et al*., 2007). در کل برازینواستروئید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط تنش شوری و میزان کم‌تر پراکسیداسیون چربی‌ها (به‌صورت محتوای کم‌تری از مالون‌دی‌آلدئید)، دارای ظرفیت بالایی جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن بوده و ثبات جوانه‌زنی در گیاهچه‌های آویشن باغی را موجب می‌شود.

نتیجه‌گیری

سالانه بخش عمده‌ای از محصولات کشاورزی بر اثر تنش‌های محیطی از بین می‌روند. استفاده از تنظیم‌کننده رشد گیاهی همچون برازینواستروئیدها یکی از راهکارهای عملی برای کاهش این خسارت می‌باشد. برازینواستروئیدها گروهی از ترکیب‌های استروئیدی گیاهی بوده که به‌طور طبیعی سنتز شده و رنج وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیک را در بر می‌گیرند. برازینواستروئیدها چندین ویژگی کشاورزی مهم مانند ریشه‌دهی، زمان گلدهی و عملکرد دانه و تحمل به تنش‌ها را کنترل می‌کند. بنابر نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش در شرایط تنش شوری از میان تیمارهای تنظیم‌کننده رشد برازینواستروئید، غلظت سه میکرومولار بیش‌ترین تاثیر را بر بهبود میزان درصد جوانه‌زنی بذر، ارتفاع ریشه و ساقه و نیز افزایش میزان وزن خشک و تر گیاهچه‌های آویشن باغی داشت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز) در گیاهان تحت تنش شوری که با غلظت سه میکرومولار تیمار شده بودند، افزایش یافت که نشان‌دهنده فعال‌شدن سامانه حفاظتی گیاه به‌وسیله برازینواستروئید می‌باشد. همچنین برازینواستروئید به‌طور قابل توجهی اثرهای منفی ناشی از شوری بر ساختارهای سلولی را کاهش داد و موجب بازیافت ساختارهای آسیب‌دیده و کاهش آسیب‌های غشای سلولی شد. در مجموع بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان بیان کرد در شرایط تنش شوری با کاربرد غلظت‌های مناسب برازینواستروئید اثرات منفی شوری تعدیل گردید و استفاده از غلظت سه میکرومولار برازینواستروئید در مرحله جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه‌های آویشن باغی می‌تواند با افزایش شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی مقاومت به تنش شوری را زیاد کند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه کشاورزی دانشگاه سید جمال الدین اسدآبادی شهر اسدآباد قدردانی می‌گردد.

منابع

Ali, B. 2017. Practical applications of brassinosteroids in horticulturesome field perspectives. Scientia Horticulturae, 225: 15-21. **(Journal)**

Ali, B., Hayat, S. and Ahmad, A. 2007. 28-Homobrassinolide ameliorates the saline stress in chickpea (*Cicerarietinum*L.). Environtal and Experimental Botany, 59: 33-41. **(Journal)**

Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany, 53: 1331-1341. **(Journal)**

Bajguz, A. and Hayat, S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 1-8. **(Journal)**

Bistgani, Z.E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F. and Morshedloo, M.R. 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis*Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320. **(Journal)**

Çoban, Ö. and Baydar, N.G. 2016. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. Industrial Crops and Products, 86: 251-258. **(Journal)**

Cordovilla, M.P., Bueno, M., Aparicio, C. and Urrestarazu, M. 2014. Effects of salinity and theinteraction between *Thymus vulgaris* and *Lavandulaangustifolia* on growth, ethyleneproduction and essential oil contents. Journal of Plant Nutrition, 37(6): 875-888. **(Journal)**

Croser, C., Renault, S., Franklin, J. and Zwiazek, J. 2001. The effect of salinity on theemergence and seedling growth of *Piceamariana*, *Piceaglauca*, and *Pinusbanksiana*. Environmental Pollution, 115: 9-16. **(Journal)**

Cukor, J., Rasakova, N.M., Linda, R., Linhart, L., Gutsch, M.R. and Kuneð, I. 2018. Effects ofbrassinosteroid application on seed germination of scots pine under standard and heat stressconditions. Baltic Forestry, 24(1): 60-67.**(Journal)**

Dkhil, BB. and Denden, M. 2010. Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschusesculentus* (L.) Moench seeds. African Journal of Agricultural Research, 5: 1412-1418. **(Journal)**

Farzana, S., Cheung, S.G., Zhou, H.C. and Tam, N.F.Y. 2019. Growth and antioxidative response of two mangrove plants to interaction between aquaculture effluent and bde-99. Science of The Total Environment, 662: 796-804. **(Journal)**

Goel, A., Goel, A.K. and Sheoran, I.S. 2003. Changes in oxidative stressenzymesduring artificial aging in cotton (*Gossypiumhirsutum* L.) seeds. Journal of Plant Physiology, 160:1093–1100. **(Journal)**

Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S. and Zhang, C. 2005. Silicon alleviates oxidativedamageof wheat plants in pots under drought. Plant Science, 169: 313-321. **(Journal)**

Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E.G. and Cicek, N. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity, Journal of Plant Physiology, 164(6): 728-736. **(Journal)**

HamdyRobya, M.H., Sarhana, M.A., Selima, K.A.H. and Khalela, K.I. 2013. Evaluation ofantioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanummajorana* L.) extracts. Industrial CropsandProducts, 43: 827-831. **(Journal)**

Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. 2006. Response of *Brassica juncea*to 28- homobrassinolidegrown from the seeds exposed to salt stress. Jounal of Plant Biology, 33: 169-174.**(Journal)**

Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1): 189-198. **(Journal)**

Hu, H., Liu, H. and Liu, F. 2018. Seed germination of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivarsresponds differently to the stress of salt type and concentration. Industrial Crops andProducts, 123: 254-261. **(Journal)**

Irigoyen J.J., Emerich D.W. and Sanchez-Dias, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago Sativa*) plants. Plant Physiology, 84: 55-60. **(Journal)**

Khalid, H., Kumari, M., Grover, A. and Nasim, M. 2015. Salinity stress tolerance of Camelina investigated in vitro. Scientia Agriculturae Bohemica, 46(4):137-144. **(Journal)**

Krishna, P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress resistance. Journal of Plant Growth Regulation, 22: 265–275. **(Journal)**

Leubner-Metzger, G. 2001. Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathway. Planta, 213: 758–763. **(Journal)**

Lokhande, V.H., Srivastava, S., Patade, V.Y., Dwivedi, S., Tripathi, R.D., Nikam, T.D. and Suprasanna, P. 2011. Investigation of arsenic accumulation and tolerance potential of *Sesuvium portulacastrum* (L.) L. Chemosphere, 82(4): 529-534. **(Journal)**

Mahesh, K., Balaraju, P., Ramakrishna, B. and Rao, S.S.R. 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. **(Journal)**

Manconi, M., Petretto, G., D'hallewin, G., Escribano, E., Milia, E., Pinna, R., Palmieri, A., Firoznezhad, M., Peris, J.E., Usach, I. and Fadda, A.M. 2018. Thymus essential oil extraction, characterization and incorporation in phospholipid vesicles for the antioxidant/antibacterial treatment of oral cavity diseases. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 171: 115-122. **(Journal)**

Miraj, S. and Kiani, S. 2016. Study of pharmacological effect of Thymus vulgaris: A review. Der Pharmacia Lettre, 8: 315-320. **(Journal)**

Mozaffarian, V. 2008. A Pictorial Dictionary of Botany Botanical Taxon-omy Latin–English–French–Germany–Persian/Complied.FarahangMoaser, Tehran, pp. 522. **(Book)**

Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L. and Rastgoo, M. 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environments, 64: 542-547. **(Journal)**

Najafian, S., Khoshkhui, M., Tavallali, V. and Saharkhiz, M.J. 2009. Effect of salicylic acid and salinity in thyme (*Thymus vulgaris* L.): Investigation on changes in gas exchange, water relations, and membrane stabilization and biomass accumulation. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(3): 2620-2626. **(Journal)**

Nickavar, B., Mojab, F. and Dolat-Abadi, R. 2005. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. Food Chemistry, 90:609-611. **(Journal)**

Nunez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L., Siqueira W. and Zullo, M. 2003. Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. Biologia Plantarum, 47: 67-70. **(Journal)**

Piovan, M.J., Zapperi, G.M. and Pratolongo, P.D. 2014. Seed germination of *Atriplexundulata* under saline and alkaline conditions. Seed Science and Technology, 42: 286-292. **(Journal)**

Qu, X.X., Huang, Z.Y., Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2008. Effect of temperature, light and salinity on seed germination and radicle growth of the geographically-widespread halophyte shrub *Halocnemumstrobilaceum*. Annals of Botany, 101: 293-299. **(Journal)**

Rasouli, M., Hatamzadeh, A., Ghasemnezhad, M. and SamizadehLahiji, H. 2017. The increase of salinity tolerance in three turf grass species using trinexapac-ethyl. Nova Biologica Reperta, 4(1): 29-38. (In Persian)**(Journal)**

Salehi, M., Fotouhi-Ghazvini, R. and Jafarian, V. 2012. Evaluation of exogenous ascorbic acid application as a protective agent against simulated acid rain in Persian maple (*Acervelutinum* Boiss). Environmental and Experimental Botany, 7: 413-420. **(Journal)**

Sasse, J.M. 2003. Physiological actions of brassinosteroids: an update. Journal of Plant Growth Regulation, 22: 276-288. **(Journal)**

Sharma, I., Ching, E., Saini, S., Bhardwaj, R. and Pati, P.K. 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. **(Journal)**

Sharma, S.S. and Dietz, K.J. 2009. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. Trends Plant Science, 14:43–50. **(Journal)**

Silva, N.C., De Souza G.A., Pimenta T.M., Brito FA., Picoli E.A., Zsogon, A. and Ribeiro, D.M. 2018. Salt stress inhibits germination of Stylosanthes humilis seeds through abscisic acid accumulation and associated changes in ethylene production. Plant Physiology and Biochemistry, 130: 399-407. **(Journal)**

Verma, S., Verma, R., Verma, S., Yadav, A. and Verma, A. 2018. Impact of salt stress on plant establishment, chlorophyll and total free amino acid content of ber (*Zizyphusmauritiana*Lamk.) cultivars. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7:556-559. **(Journal)**

Yao, Z., Liu, L., Gao, F. and Rampitschi, C. 2012. Development and seed aging mediated regulation of antioxidative genes and differential expression of proteins during pre and post-germinative phases in pea. Journal of Plant Physiology, 169: 1477-1488. **(Journal)**

Zafari, M., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S. and Sedghi, M. 2017. The effect of brassinosteroide on germination parameters of mother seeds of safflower under drought tension. Crop Physiology Journal, 9(33): 5-17. (In Persian)**(Journal)**

Zehtabsalmasi, S. 2008. The effect of salinity on seed germination and pre-treatment of Germanchamomile. Research and Agriculture, 2(2): 28-30. (In Persian)**(Journal)**

Zhong, W., Xie, C., Hu, D., Pu, S., Xiong, X., Ma, J., Sun, L., Huang, Z., Jiang, M. and Li, X. 2020. Effect of 24-epibrassinolide on reactive oxygen species and antioxidative defense systems in tall fescue plants under lead stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 187: 109831. **(Journal)**

Zia, A., Rezanejad, F. and Safarnejad, A. 2010. In vitro selection for NaCl tolerance in *Thymus vulgaris* L. Journal of Cell and Molecular Research, 2(2):86-92. **(Journal)**

Effect of brasinosteroid on morphological and physiological traits of garden thyme (*Thymus vulgaris*) in salinity stress

Alireza Noroozisharaf[*1], Maryam Kaviai[2], Mehrdad Rasouli[3]

Received: February 29, 2020 Accepted: August 9, 2020

Abstract

The present study was conducted to reduce the effects of salinity stress on germination and initial growth stages of *Thymus vulgaris* as a medicinal plant using brassinosteroid (BR) under *in vitro* culture. Thyme seeds were exposed to different concentrations of salinity (0, 50, 100 and 200 mM) and BR (0.5, 1 and 3 µM), and then different germination and growth indices as well as some phytochemical properties of seedlings were measured. Results indicated that under salinity conditions, the highest germination percentage (95%) was observed at the lowest salt concentration (50 mM) and the highest BR concentration (3 µM). Applying differentBR concentrations improved root and shoot height.It also increased dry and fresh biomass of thyme seedlings in a way that at the same salinity conditions of 200 mM, root and stem length increased about 30.5% and 42.9%, respectively, in samples treated with 3 µM BR in coparison with the ones treated with 0.5 µM BR. The amount of proline and antioxidant enzymes, peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) significantly increased in the seedlings treated with the highest BR concentration in comparison with those treated with the lower concentrations, and the seedlings had lower membrane permeability (lipid peroxidation). The results of correlation coefficient showed that there was a negative correlation between cell membrane permeability (amount of malondialdehyde) and all measured biochemical and morphological traits related to seedling growth. According to the results of this study, it is suggested to apply BR during the sensitive stage of seed germination and early growth of garden thyme seedlings under water or soil salinity conditions.

Keywords: Peroxidase; **Saltstress**; **Membrane permeability; Invitro culture**

How to cite this article
Noroozisharaf, A., Kaviai, M. and Rasouli, M. 2021 Effect of brasinosteroid on morphological and physiological traits of garden thyme (*Thymusvulgaris*) in salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 8(1): 63-76. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms. 2021.3584

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Assistant Professor, Department of Horticulture and Green Space Science and Engineering Seyyed Jamaleddin Asadabadi University, Asadabad, Iran. noroozi@sjau.sc.ir
2. Lecturer, Department of Horticulture and Green Space Science and Engineering Seyyed Jamaleddin Asadabadi University, Asadabad, Iran. maryamkaviani@yahoo.com
3. Assistant Professor, Department of Horticulture and Green Space Science and Engineering Seyyed Jamaleddin Asadabadi University, Asadabad, Iran. mehrdadrasoli1@yahoo.com
*Corresponding author: noroozi@sjau.sc.ir