

Effect of boron deficiency on vegetative growth, flowering and seed yield in oilseed rape plants (*Brassica napus*)

Zahra Bahmani¹, Roghieh Hajiboland¹, Zahra Hashemi², Farkhondeh Rezanejad^{2*}

¹ Department of Plant Science, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

² Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Abstract

Boron is an essential micronutrient for plants and boron deficiency is a common nutritional disorder in crop species. In this research work, the effect of boron deficiency on the amount of pigments, phenols, soluble sugars, starch, chlorophyll fluorescence parameters and enzyme activity in oilseed rape (*Brassica napus* L. cv. RGS) plants during vegetative and reproductive period were studied. Boron deficiency caused reduction of plants dry matter production and impaired development of the young leaves. The leaf concentrations of chlorophyll, carotenoids and anthocyanin were decreased and the net assimilation rate was diminished following reduction of stomatal conductance and consequently, non-structural carbohydrates were decreased in the leaves of boron-deficient plants. In contrast, the leaf concentration of cytosolic phenolics compounds increased in boron-deficient plants associated with a rise in the leaf activity of phenylalanine ammonia lyase while polyphenol oxidase was not influenced by boron deficiency. Boron-deficient plants formed distorted inflorescences with higher rate of flower drop. Pollen tube showed apical swelling with lower germination percentage in boron-deficient plants. During the anther development, differentiation of the layers of pollen sac wall impaired by boron deficiency accompanied by an earlier disintegration of the nutritive cell layer. Boron-deficient plants had less fruits with lower growth rates and smaller seeds. Our results demonstrated that during vegetative growth, boron deficiency influences mainly carbon metabolism but during reproductive growth it affects several developmental processes including germination of pollen grains, development of the siliques and filling of the seeds.

Keywords: Boron deficiency, Flowering, Oilseed rape, Phenolic compounds, Photosynthesis

* Corresponding Author: frezanejad@gmail.com

اثر کمبود بور بر رشد رویشی، گل‌دهی و عملکرد دانه در گیاه کلزا

زهرا بهمنی^۱، رقیه حاجی‌بلند^۱، زهرا هاشمی^۲، فرخنده رضائزاد^{۲*}

^۱ گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

چکیده

بور، عنصر کم‌مصرف ضروری برای گیاهان است که کمبود آن، یکی از بیماری‌های تغذیه‌ای شایع در گونه‌های زراعی است. در پژوهش حاضر، اثر کمبود بور روی مقدار رنگیزه‌ها، فنل‌ها، قندهای محلول، نشاسته، شاخص‌های فلونورسانس کلروفیل و فعالیت آنزیم‌ها در گیاه کلزا (*Brassica napus* cv. RGS) طی دورهٔ رویشی و زایشی بررسی شد. کمبود بور سبب کاهش رشد گیاهان و اختلال در نمو برگ‌های جوان شد و کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین برگ را کاهش داد؛ همچنین به‌علت مهار گشودگی روزنه‌ها، تثبیت دی‌اکسید کربن افت کرد و به‌تبع آن، مقدار قندهای غیرساختاری کاهش یافت. غلظت ترکیبات فنلی سیتوسل طی شرایط کمبود بور در برگ افزایش یافت و با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز همراه بود، ولی آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تغییری نشان نداد. گیاهان دچار کمبود بور گل‌آذین‌های بدشکل و خمیده تشکیل دادند و درصد ریزش گل‌ها افزایش یافت. لولهٔ گرده در گیاهان دچار کمبود بور تورم رأسی نشان داد و درصد تندش دانه‌های گرده در این گیاهان کمتر بود. طی مراحل نمو بساک، کمبود بور سبب تمایز نیافتن لایه‌های دیوارهٔ کیسهٔ گرده و تجزیهٔ زودرس لایهٔ مغذی و تغییرات تزینات دیوارهٔ دانهٔ گرده شد. گیاهان دچار کمبود بور میوه‌های کوچک‌تر با سرعت رشد کمتر و دانه‌های کوچک داشتند. نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهندهٔ اثر کمبود بور طی دورهٔ رویشی بر متابولیسم کربن و طی دورهٔ زایشی بر فرایندهای نموی متعدد از تندش دانهٔ گرده تا نمو میوه و پرشدگی دانه بودند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، فتوسنتز، کلزا، کمبود بور، گل‌دهی

* نگارندهٔ مسئول: نشانی پست الکترونیک: frezanejad@gmail.com، شمارهٔ تماس: ۰۳۴۳۳۲۵۷۴۳۲

مقدمه

بور یکی از عناصر کم‌مصرف ضروری برای گیاهان است که مشابه آهن، گیاه بیش از سایر عناصر کم‌مصرف به آن نیاز دارد (Marschner, 2011; Gowhar, 2017). بور کارکردهای فیزیولوژیک متعددی از جمله شرکت در ساختمان دیواره، نقش در حفظ تمامیت غشاها، نقش در تنظیم متابولیسم ترکیبات فنلی، تمایز چوب و متابولیسم هورمون‌ها، اثر مستقیم بر گسترش سلول، نمو دانه گرده و گل‌دهی در گیاهان دارد (Cakmak and Römhled, 1997; Gowhar, 2017).

کمبود بور یکی از بیماری‌های تغذیه‌ای مهم است که در گیاهان رشد یافته روی انواع خاک‌های سراسر جهان دیده می‌شود. کمبود بور سبب افت کمیت و کیفیت تولیدات زراعی می‌شود و می‌توان کود بور را برای حل این مشکل تغذیه‌ای مصرف کرد. گونه‌های گیاهی مختلف حساسیت‌های متفاوتی به کمبود بور نشان می‌دهند. در تعدادی از گیاهان تیره کلم از جمله شلغم، گونه‌های حساس به کمبود بور معرفی شده‌اند و نخستین گزارش‌های کمبود بور در گیاهان زراعی به این گونه‌ها مربوط می‌شوند (Shorrocks, 1997). در بسیاری از گیاهان، نقش عنصر بور طی دوره زایشی مهم‌تر از دوره رویشی است (Iqbal et al., 2017)؛ به طوری که در گیاهان رشد یافته روی خاک‌های دارای کمبود متوسط بور، مرحله رشد رویشی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد، اما گل‌دهی و تشکیل میوه به شدت ممانعت می‌شود (Marschner, 2011).

کلزا (*Brassica napus* L.)، گیاهی از تیره کلم است که در مناطق معتدله بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود. ارقام اصلاح شده این گیاه که به

کانولا معروف هستند، کیفیت بهتری از نظر روغن دانه دارند و در سراسر دنیا از جمله ایران با هدف استحصال روغن از دانه‌ها کشت می‌شوند (Adamska, 2004). بررسی‌های نسبتاً جامعی در زمینه اثر کمبود بور روی عملکرد گیاه کلزا در شرایط مزرعه‌ای و نیز تفاوت‌های بین رقمی از نظر تحمل کمبود بور در این گیاه انجام و منتشر شده‌اند (Xue et al., 1998; Stangoulis et al., 2000).

مطابق آنچه در گندمیان دیده شده است (Marschner, 2011)، بور اثر بیشتری بر نمو زایشی گیاهان دارد و از این رو، می‌توان انتظار داشت گل‌دهی و تشکیل میوه در گیاه کلزا بیش از رشد رویشی تحت تأثیر کمبود بور قرار گیرد؛ همچنین با توجه به اینکه اهمیت اقتصادی گیاه کلزا به دانه آن مربوط است، بررسی گل‌دهی و عملکرد دانه بیش از رشد رویشی در مطالعه فیزیولوژی تغذیه‌ای این گیاه اهمیت دارد. اگرچه اثر کمبود بور بر عملکرد دانه گیاه کلزا در شرایط مزرعه‌ای بررسی شده است (Stangoulis et al., 2000)، تاکنون مطالعه منتشر شده‌ای در زمینه نقش بور در گل‌دهی و تشکیل دانه بسیاری از گیاهان از جمله کلزا در شرایط آزمایشگاهی انجام نشده و همچنین اثر کمبود این عنصر بر فتوسنتز و متابولیسم فنل‌ها در این گیاه بررسی نشده است.

مطالعه حاضر در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی و با هدف بررسی فیزیولوژیک آثار کمبود بور در گیاه کلزا طی دو مرحله رویشی و گل‌دهی انجام شد؛ علاوه بر گل‌دهی و تشکیل دانه، تولید ماده خشک و فتوسنتز از دو دیدگاه فتوشیمی برگ و تبادل گاز، انباشتگی فرآورده‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی نیز طی نمو رویشی مطالعه شدند.

مواد و روش‌ها

کشت گیاهان و اعمال تیمارها: بذر گیاه کلزا (*Brassica napus* L. cv. RGS.) از مرکز تحقیقات دانه‌های روغنی وزارت جهاد کشاورزی تهیه شد. بذرها به مدت ۵ تا ۷ دقیقه با هیپوکلریت سدیم تجاری ۵ درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو شدند. بذرها با ضدعفونی شده بر بستر پرلیت مرطوب و در تاریکی قرار داده شدند تا جوانه بزنند. پس از هفت روز، ۸ عدد دانه‌ریست یکنواخت به تشتک‌های هشت‌لیتری حاوی پرلیت شسته شده منتقل (در چهار تکرار) و با محلول غذایی هوگلند (Johnson *et al.*, 1957) با اسیدیته ۶ یا آب مقطر آبیاری شدند. مجموع حجم محلول غذایی استفاده شده طی یک هفته به ازای هر تشتک برابر ۶۰۰ میلی‌لیتر بود که در نیمه دوم دوره رشد به ۷۰۰ میلی‌لیتر افزایش یافت. تشتک‌ها هر روز وزن می‌شدند و مقداری آب یا محلول غذایی در حد ظرفیت مزرعه‌ای به تشتک‌ها افزوده می‌شد. از زمان انتقال دانه‌ریست‌ها به تشتک‌ها، دو سطح از تیمار بور اعمال شد. گیاهان شاهد با مقدار کافی بور (۲۵ میکرومولار H_3BO_3 مطابق فرمول محلول غذایی هوگلند) تغذیه و گیاهان دچار کمبود با محلول غذایی بدون بور تیمار شدند. با توجه به اینکه در آزمایش‌های اولیه، نشانه‌های کمبود بور به‌سختی در گیاهان تغذیه شده با محلول بدون بور مشاهده شده بود، در آزمایش‌های گزارش شده در بررسی حاضر، ناخالصی بور با قراردادن رزین مخصوص (IRA 743, Fluka) در محلول غذایی و آب آبیاری به مدت ۲۴ ساعت تا حد ممکن کاهش داده شد (Asad *et al.*, 1997). گیاهان در اتاق رشد با شرایط دمایی ۱۷ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت

نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره نوری ۱۷ ساعت روشنایی و ۷ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در بررسی حاضر، دو آزمایش یکسان با دوره رشد متفاوت انجام شد: در آزمایش اول، گیاهان در دوره رشد رویشی بررسی شدند و به مدت یک ماه (با احتساب زمان از آغاز جوانه‌زنی) کشت و سپس برداشت شدند و علاوه بر وزن گیاهان، فتوسنتز و مقدار تعدادی از متابولیت‌ها بررسی شد. در آزمایش دوم، گیاهان با هدف بررسی مرحله رشد زایشی کشت شدند و دوره رشد آنها شش ماه بود و سپس برداشت شدند. طی برداشت، اندام هوایی و ریشه از یکدیگر جدا شدند و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و سپس وزن آنها تعیین شد. به منظور اندازه‌گیری عنصر بور، ابتدا هیدروکسید کلسیم اشباع روی نمونه‌ها ریخته شد و نمونه‌ها زیر هود با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت حرارت داده شدند تا خشک شوند؛ سپس نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا خاکستر شوند. پس از انحلال در هیدروکلریک اسید و به‌حجم‌رساندن نمونه‌ها با آب مقطر، مقدار بور در نمونه‌ها به روش آزومتین H و با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شد (Lohse, 1982). سنجش شاخص‌های فلئوئورسانس کلروفیل و تبادل گاز روی سومین برگ جوان و پیش از برداشت و توزین گیاهان انجام شد و سنجش رنگیزه‌ها و متابولیت‌ها روی نمونه‌های تازه برداشت شده یا نگهداری شده در ازت مایع انجام شد.

استخراج ماده مدنظر با استفاده از حلال مربوطه روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. پس از ۲۴ ساعت استخراج در استن ۱۰۰ درصد، جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها طبق روابط زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = C_a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = C_b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$\text{Caroten (mg/g)} = C_{x+c} = 1000 A_{470} + 2.270 C_a - 81.4 C_b / 227$$

در این روابط، A: میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۶۷۰، C_{x+c}: کاروتنوئید، C_a: کلروفیل a و C_b: کلروفیل b است.

به منظور سنجش آنتوسیانین، عصاره حاصل از استخراج در حلال متانول/هیدروکلریک اسید ۲:۹۸ (حجمی-حجمی) به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰ g سانتیفریوژ شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشنوار با ۴۹/۵ میلی‌لیتر از بافر یک میلی‌مولار MES با اسیدیته‌های ۱ و ۴/۵ در بالن ژوژه‌های ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از ۳۰ دقیقه، جذب در ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار آنتوسیانین بر اساس میلی‌گرم سیانیدین ۳ گلوکوزید بر گرم وزن تر گزارش شد (Plessi et al., 2007).

سنجش ترکیبات فنلی: سنجش فنل‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) در طول موج ۷۶۰ نانومتر انجام شد. به منظور تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های مشخص گالیک اسید (صفر تا ۱۲ میکرومولار) استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گزارش شدند (Plessi et al., 2007).

سنجش شاخص‌های فلئورسانس کلروفیل: دستگاه فلئورسانس سنج (OPTI-SCIENCES, ADC, UK) برای تعیین فلئورسانس کلروفیل استفاده شد. شاخص‌های فلئورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش‌یافته با تاریکی شامل F_0 (فلئورسانس پایه) و F_m (فلئورسانس بیشینه) و در برگ‌های سازش‌یافته با روشنایی شامل F_t (شدت فلئورسانس پایه) و F_{ms} (شدت فلئورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شدند؛ سپس محاسبه‌های لازم برای به‌دست‌آوردن سایر شاخص‌ها از جمله کارایی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، نسبت فلئورسانس متغیر به پایه (F_v/F_0)، ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، خاموش‌شدگی فتوشیمیایی (qp) و غیرفتوشیمیایی (q_{NP})، عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II ($PSII\Phi$) و سرعت انتقال الکترون (ETR) انجام شدند (Oxborough, 2004).

سنجش شاخص‌های تبادل گاز: به منظور اندازه‌گیری فتوسنتز از دستگاه اندازه‌گیری تبادلات گازی فتوسنتزی (LCA4, ADC, UK) استفاده شد. شاخص‌های اندازه‌گیری شده شامل شدت فتوسنتز (A) بر حسب میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، تعرق (E) بر حسب میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه و هدایت روزنه‌ای (g_s) بر حسب میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه بودند.

سنجش رنگیزه‌ها: به منظور سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو و روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها درون ورقه آلومینیومی قرار گرفتند و تا زمان سنجش در ازت مایع نگهداری شدند.

(PPO, EC 1.14.18.1)، نمونه‌های گیاهی در بافر فسفات (۲۰۰ میلی‌مولار، اسیدیته ۶/۵) و در دمای یخ آسیاب و سپس سانتریفیوژ شدند. بافر فسفات حاوی ۱۰ میلی‌مولار پیروگالال به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس عصاره آنزیم به محلول واکنشی گرم اضافه شد. تغییر جذب به مدت ۲ دقیقه در طول موج ۳۳۴ نانومتر دنبال و فعالیت آنزیم با محاسبه تغییر جذب طی یک دقیقه گزارش شد (Singh *et al.*, 1999). پروتئین کل به روش Bradford و با استفاده از سرم آلبومین گاوی (Merck) برای استاندارد و معرف تجاری برادفورد (Sigma) سنجش شد (Bradford, 1976).

سنجش قندهای محلول و نشاسته: به منظور استخراج عصاره گیاهی برای سنجش کربوهیدرات‌ها از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷/۵) استفاده شد. محلول روشناور برای سنجش قند محلول کل با استفاده از معرف آنترون سولفوریک و رسوب حاصل برای سنجش نشاسته با استفاده از معرف یدین - HCl استفاده شد. رسوب حاصل در دی‌متیل سولفوکسید و هیدروکلریک اسید ۸ نرمال (۱:۴ حجمی-حجمی) حل و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. معرف یدین، عصاره گیاهی و آب مقطر به نسبت ۱:۱:۵ در کووت شیشه‌ای ریخته شدند و پس از ۱۵ دقیقه در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه شدند. به منظور تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های صفر تا ۱۰ میلی‌گرم نشاسته استفاده شد.

به منظور تفکیک فنل‌های سیتوسلی از فنل‌های متصل به دیواره از روش Solecka و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. فنل‌های آزاد سیتوسلی پس از استخراج در متانول ۷۰ درصد و سانتریفیوژ کردن روشناور به روش فولین سیوکالتو سنجش شدند. در رسوب حاصل، فنل‌های متصل به دیواره ابتدا با اگزالات آمونیوم ۲۰ میلی‌مولار به مدت ۳ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با استفاده از سود ۲ مولار به مدت ۲۴ ساعت و در تاریکی از دیواره آزاد شدند. روشناورهای حاصل از دو مرحله باهم مخلوط و به حجم رسانده شدند و ترکیبات فنلی یادشده دوباره با روش فولین سیوکالتو سنجش شدند (Solecka *et al.*, 1999).

سنجش فعالیت آنزیم‌ها و مقدار پروتئین کل:

به منظور سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالاز (PAL, EC 4.3.1.5)، نمونه‌های گیاهی در بافر استخراج شامل بافر بورات (۱۰ میلی‌مولار، اسیدیته ۷) و ۰/۱ گرم پلی‌وینیل‌پیرولیدون و ۲-مرکاپتواتانول (۱/۴ میلی‌مولار) در دمای یخ آسیاب و سپس سانتریفیوژ شدند. به منظور سنجش فعالیت آنزیم در عصاره گیاه، بافر بورات (اسیدیته ۸/۸) حاوی L- فنیل‌آلانین (۱۲ میلی‌مولار) اضافه شد و پس از قراردادن در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه، فعالیت آنزیم با تشکیل سینامیک اسید سنجش شد. فعالیت آنزیم با توجه به تغییر جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید و بر حسب نانومول ترانس سینامیک اسید بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه محاسبه شد (Dickerson *et al.*, 1984).

به منظور سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

و رویش دانه‌های گرده با میکروسکوپ نوری بررسی و با دوربین دیجیتال (Moticam 2000.2.0M Pixel USB 2.0) عکس برداری شد. جوانه‌زنی به درصد و بر پایهٔ تولید لولهٔ گرده در هر ۱۰۰ دانهٔ گردهٔ انتخاب‌شده به‌طور تصادفی در هر تیمار محاسبه و طول لولهٔ گرده ۲۴ ساعت پس از کشت اندازه‌گیری شد و برای هر تیمار، طول ۲۰ لولهٔ گرده بر حسب میکرومتر اندازه‌گیری شد (Sheoran *et al.*, 2009).

تهیهٔ برش‌های میکروتومی از گل: گل‌ها در مراحل مختلف نموی (از جام نهفته در کاسهٔ گل تا گل بالغ با جام مشخص) جمع‌آوری و در محلول مربوطه متشکل از اتانول ۷۰ درصد، استیک‌اسید خالص و فرم‌آلدئید به‌ترتیب به نسبت ۹۰:۵:۵:۹۰ (الکل) تثبیت شدند. پس از آب‌گیری در درجه‌های رو به افزایش الکل، در مخلوط‌های رو به افزایش الکل - تولوئن، تولوئن - پارافین و پارافین خالص قرار گرفتند و بلوک‌های پارافینی تهیه شدند. برش‌گیری نمونه‌ها با میکروتوم چرخان با ضخامت ۸ تا ۱۲ میکرومتر انجام و برش‌های حاصل پس از پارافین‌زدایی، به کمک هماتوکسیلین و ائوزین الکلی رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌های مناسب با دوربین دیجیتال (Canon) عکس‌برداری و مطالعه شدند (Rezanejad, 2007).

طرح آزمایشی و تجزیهٔ داده‌ها: آزمایش در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو سطح تیمار بور و چهار تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار سیگما استات (نسخهٔ ۳/۰۲) و با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

به‌منظور سنجش قند محلول کل از معرف آنترون سولفوریک استفاده شد. معرف آنترون سولفوریک و عصارهٔ گیاهی به نسبت ۵:۱ در لوله‌های آزمایش شیشه‌ای ریخته شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند؛ پس از سرد شدن، جذب در ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. به‌منظور تهیهٔ محلول‌های استاندارد از غلظت‌های صفر تا ۱۸ میلی‌گرم گلوکز استفاده شد و نتایج بر حسب میکروگرم اکسی‌والان گلوکز بر گرم وزن تر بیان شدند (Magné *et al.*, 2006).

بررسی رشد زایشی: پس از آغاز رشد زایشی، تعداد برگ، میوه، گل‌های تشکیل‌شده و ریخته‌شده و طول میوه در گل‌آذین‌ها به‌طور روزانه ثبت شد. شش ماه پس از کشت، گیاهان برداشت شدند و تعداد و وزن میوه‌های هر گیاه و دانه‌های هر میوه تعیین شد؛ سپس تعداد بذره‌های سالم و معیوب ثبت و وزن هزاردانه اندازه‌گیری شد.

جوانه‌زنی دانه‌های گرده: دانه‌های گرده بین ساعت‌های ۸ تا ۹ صبح برداشت و به مدت دو ساعت در رطوبت ۱۰۰ درصد قرار داده شدند و سپس به درون لولهٔ آزمایش حاوی محیط کشت متشکل از ساکارز (۲۰ درصد وزنی-حجمی)، کلرید کلسیم (۳ میلی‌مولار)، نترات پتاسیم (۳۱ میلی‌مولار)، بوریک‌اسید (۰/۱۶ میلی‌مولار)، تریس (۰/۶۶ میلی‌مولار) (اسیدیتهٔ ۸) ریخته شدند. دانه‌های گرده به مدت یک ساعت روی شیکر با زاویهٔ ۳۵ درجه و سرعت ۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند و سپس ۵ میکرولیتر از محلول برداشته

اندام هوایی گیاهان رشد یافته در فقدان بور به‌طور معنادار کاهش یافت (شکل ۲).

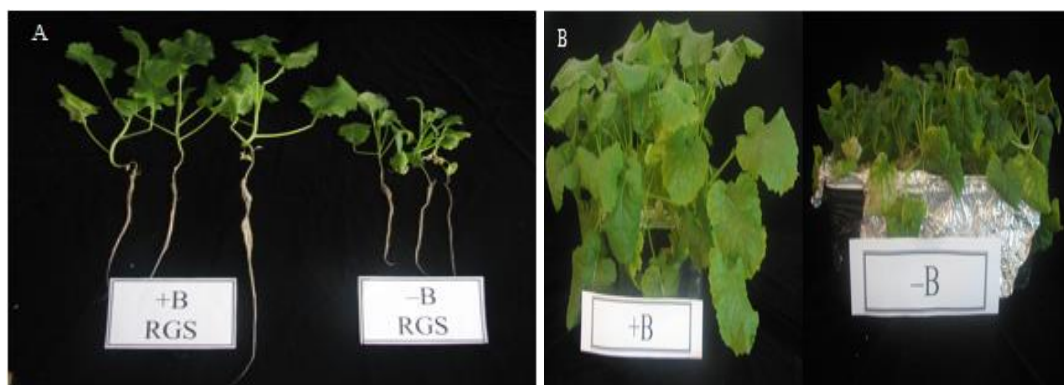
در اثر کمبود بور، مقدار رنگیزه‌های برگ تغییر یافت؛ به‌این ترتیب که غلظت کلروفیل a به‌طور معناداری کاهش یافت، اما غلظت کلروفیل b تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت. غلظت کاروتنوئیدها و آنتوسیانین برگ‌ها در اثر کمبود بور کاهش یافت، ولی تغییری در مقدار فلاونوئیدهای برگ گیاهان دستخوش کمبود بور مشاهده نشد (جدول ۱).

از میان شاخص‌های فلوروسانس کلروفیل، تنها کارایی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II در شرایط کمبود بور کاهش یافت و سایر شاخص‌ها تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفتند (جدول ۲).

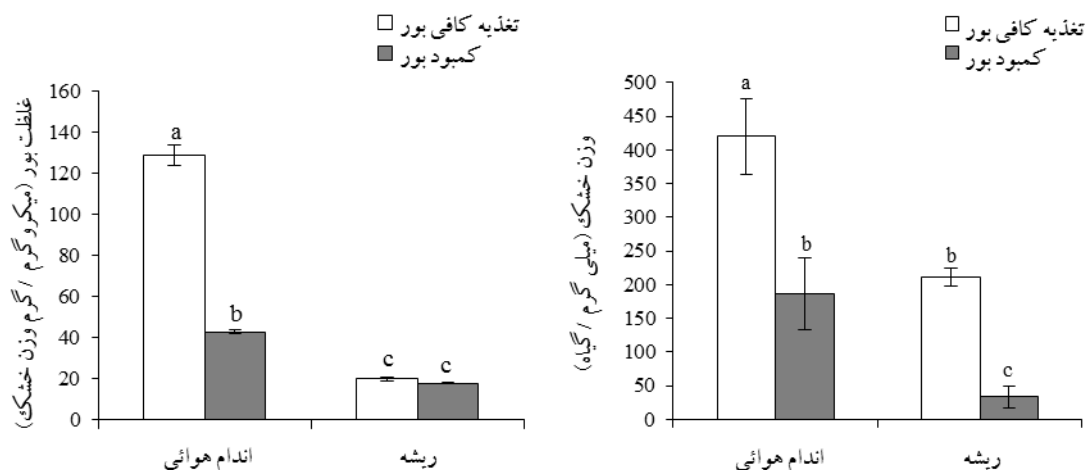
تمام شاخص‌های تبادل گاز برگ‌ها تحت تأثیر کمبود بور به‌طور معناداری کاهش یافتند. کاهش سرعت تثبیت خالص دی‌اکسید کربن و تعرق با کاهش درخور توجه هدایت روزنه‌ای برگ‌ها همراه بود (شکل ۳).

در پژوهش حاضر، نخستین نشانه کمبود بور به‌شکل کاهش طول ریشه دیده شد و پس از مدتی، ریشه‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن درآمدند. در اندام هوایی، نشانه‌های کمبود ابتدا در برگ‌های جوان مشاهده شدند؛ به‌طوری که برگ‌ها نسبت به گیاهان شاهد کوچک‌تر بودند و رنگ پهنک برگ‌ها تیره‌تر بود. پس از مدتی، حالت پیچ‌خوردگی در برگ‌های جوان ایجاد شد و به تدریج توسعه یافت و در حالت‌های پیشرفته کمبود، پهنک به سمت پشت برگ پیچ خورد و برگ‌ها شکل فنجانی پیدا کردند؛ همچنین پهنک برگ ضخیم‌تر شد و آوندها از سطح پهنک برجستگی پیدا کردند. برگ‌های پیر کلروزه شدند، دمبرگ‌ها و ساقه کوتاه و قطور شدند و حالت شکننده پیدا کردند (شکل ۱). پس از تشکیل ساقه گل‌دهنده، طول میانگره در گیاهان دچار کمبود بور به مراتب کوتاه‌تر بود.

در گیاهانی که طی دوره رویشی و به مدت چهار هفته بررسی شدند، کمبود بور سبب کاهش معنادار وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد. غلظت بور در



شکل ۱- A و B. اثر کمبود بور روی رشد رویشی ریشه و شاخساره در دانه‌رست‌های کلزا که به مدت یک ماه در شرایط آزمایشگاهی رشد کرده بودند، A. مقایسه رشد اندام هوایی و ریشه در گیاهان تغذیه‌شده با بور کافی (+B) و دچار کمبود بور (-B)، B. نشانه‌های کمبود بور شامل پیچ‌خوردگی برگ‌های جوان و کلروز برگ‌های پیر



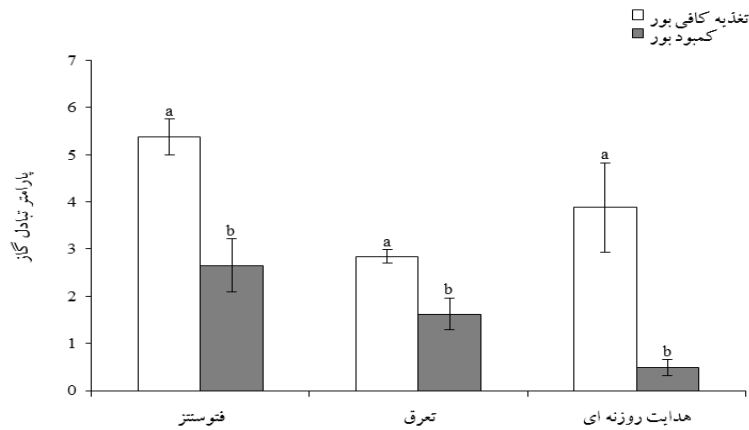
شکل ۲- وزن خشک اندام هوایی و ریشه و غلظت بور در این دو اندام در گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیهٔ کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

جدول ۱- غلظت رنگیزه‌های مختلف برگ در گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیهٔ کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

شاخص رشد	تغذیهٔ کافی بور	کمبود بور
کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	$1.0 \pm 85/19^a$	$1.0 \pm 14/2^b$
کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	$0.7 \pm 41/0.8^a$	$0.7 \pm 55/0.7^a$
کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)	14 ± 138^a	3 ± 92^b
فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)	47 ± 248^a	32 ± 186^a
آنتوسیانین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	$0.7 \pm 12/0.3^a$	$0.7 \pm 0.6/0.1^b$

جدول ۲- مقدار شاخص‌های مختلف فلورسانس کلروفیل شامل کارایی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس پایه (F_v/F_0)، ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II (F_v/F_m)، خاموش شدگی فتوشیمیایی (qp) و غیر فتوشیمیایی (qNP)، عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II ($PSII\Phi$) و میزان انتقال الکترون (ETR) در گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیهٔ کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

شاخص	تغذیهٔ کافی بور	کمبود بور
F_v/F_m	$0.7 \pm 83/0.04^a$	$0.7 \pm 82/0.01^b$
F_v/F_0	$4.0 \pm 9/11^a$	$4.0 \pm 7/45^a$
F_v'/F_m'	$0.7 \pm 82/0.1^a$	$0.7 \pm 81/0.1^a$
qp	$0.7 \pm 91/0.4^a$	$0.7 \pm 93/0.1^a$
qNP	$0.7 \pm 25/0.9^a$	$0.7 \pm 15/0.9^a$
ETR	$4 \pm 125/8^a$	$1 \pm 124/3^a$



شکل ۳- سرعت فتوستتر (تثیت خالص دی‌اکسید کربن بر حسب میکرومول بر مترمربع بر ثانیه)، تعرق (میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) و هدایت روزنه‌ای (میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) در برگ‌های گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیه کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

کمبود بور در گیاهانی که به مدت شش ماه تا رسیدن به مرحله گل‌دهی و تشکیل میوه و دانه بررسی شدند (مشابه آنچه در بررسی دوره رویشی گیاهان دیده شد)، کاهش معنادار وزن خشک اندام هوایی را در پی داشت، اما تعداد برگ‌ها تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت (جدول ۴). تعدادی از ویژگی‌های دوره زایشی گیاه از جمله تعداد گل‌ها، درصد ریزش میوه و وزن دانه‌ها به‌ازای پایه گیاه تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفتند؛ باوجود این، تعداد دیگری از شاخص‌ها از جمله سرعت رشد خورجین، طول نهایی خورجین، وزن نهایی خورجین‌ها و وزن هزار دانه تحت تأثیر وضعیت تغذیه‌ای بور قرار گرفتند و مقدار آنها در گیاهان دچار کمبود بور به‌طور معناداری کمتر بود. در گیاهان دارای کمبود بور، درصد ریزش گل بیشتر بود (جدول ۴).

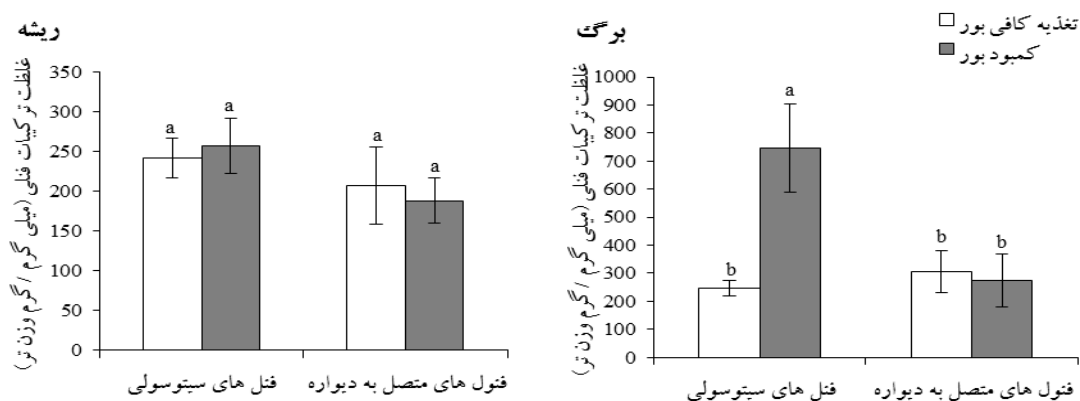
کمبود بور موجب کاهش معنادار رویش و طول لوله گرده شد (جدول ۵).

غلظت قندهای محلول در هر دو اندام هوایی و ریشه در اثر کمبود بور کاهش یافت، ولی مقدار نشاسته در این شرایط تغییری نداشت (جدول ۳). غلظت ترکیبات فنلی برگ در بخش‌های سیتوسولی و محلول تحت تأثیر کمبود بور به‌طور معناداری افزایش یافت، ولی بخش‌های فنل‌های متصل به دیواره تغییری نشان نداد. در شرایط کمبود بور، هیچ‌کدام از دو بخش‌های فنلی ریشه تغییر معناداری نشان نداد (شکل ۴).

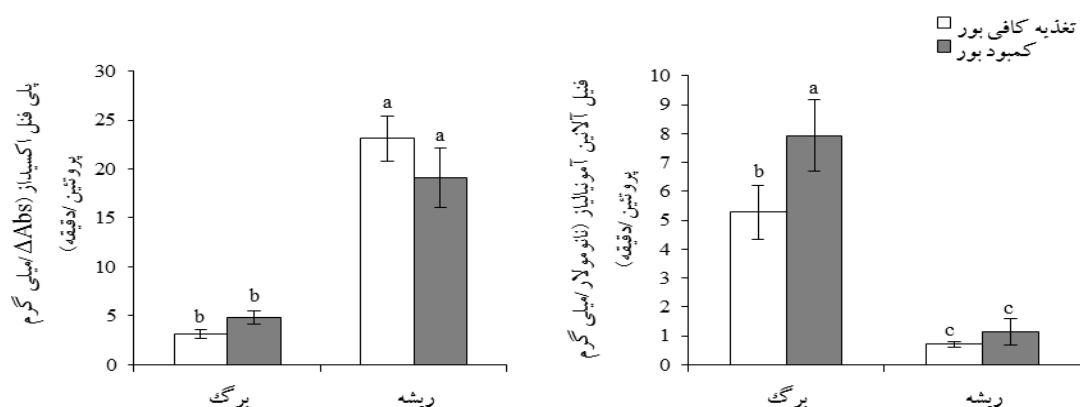
فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیا‌لیاز برگ در شرایط کمبود بور افزایش یافت، ولی فعالیت این آنزیم در ریشه تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت؛ ضمن اینکه مقدار پایه‌ای فعالیت این آنزیم در ریشه‌ها به مراتب کمتر از برگ‌ها بود. فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز در هیچ‌کدام از دو اندام گیاه تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت، ولی مقدار پایه‌ای فعالیت این آنزیم در ریشه‌ها به مراتب بیشتر از مقدار آن در برگ‌ها بود (شکل ۵).

جدول ۳- مقدار قند محلول و نشاسته در گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیهٔ کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

مقدار متابولیت (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	اندام	تغذیهٔ کافی بور	کمبود بور
قند محلول	برگ	۲/۰ \pm ۱۷/۷۱ ^a	۰/۰ \pm ۵۸/۶ ^b
	ریشه	۱/۰ \pm ۳۶/۳۵ ^a	۰/۰ \pm ۰۴/۰۱ ^b
نشاسته	برگ	۰/۰ \pm ۷۲/۱۳ ^a	۰/۰ \pm ۶۳/۱۶ ^a
	ریشه	۱/۰ \pm ۱/۳۵ ^a	۰/۰ \pm ۸۸/۱۴ ^a



شکل ۴- غلظت ترکیبات فنلی (میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن تر) محلول سیتوسولی و متصل به دیواره در گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیهٔ کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۵- فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز (میکرومول ترانس سینامیک‌اسید بر گرم وزن تر بر ۳۰ دقیقه) و پلی‌فنل اکسیداز (تغییرات جذب بر گرم وزن تر بر دقیقه) در گیاه کلزایی که به مدت یک ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی واجد ۲۵ میکرومولار بور (تغذیهٔ کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

جدول ۴- اثر کمبود بور بر شاخص‌های مختلف رشد و ویژگی‌های مرحلهٔ گل‌دهی در گیاه کلزایی که به مدت شش ماه در شرایط

اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیه کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

شاخص رشد	تغذیه کافی بور	کمبود بور
وزن خشک اندام هوایی (گرم/گیاه)	۷/۰±۰/۸/۴۱ ^a	۴/۰±۸۳/۵۱ ^b
تعداد برگ‌ها (به‌ازای گیاه)	۱۷/۱±۰/۹۱ ^a	۱۶/۲±۴/۷۲ ^a
تعداد گل‌ها (به‌ازای گیاه)	۲۳/۲±۳/۲۵ ^a	۲۲/۲±۴/۷۸ ^a
سرعت رشد خورجین (میلی‌متر/روز)	۴/۰±۵۵/۸۶ ^a	۱/۰±۰/۲/۵۳ ^b
طول نهایی خورجین (میلی‌متر)	۵۴/۳±۹/۴۳ ^a	۲۴/۴±۵/۱۲ ^b
ریزش گل (درصد)	۵/۱±۰/۱ ^b	۱۰/۲±۱/۹۷ ^a
ریزش میوه (درصد)	۱۱/۲±۸/۶ ^a	۱۲/۲±۵/۹ ^a
وزن خورجینها (گرم/گیاه)	۳/۱±۱۶/۰۷ ^a	۱/۰±۴۴/۵۷ ^b
وزن دانه (گرم/گیاه)	۱/۰±۴۱/۸۲ ^a	۰/۰±۵۱/۱۳ ^a
وزن هزار دانه (گرم)	۲/۰±۹۱/۰۹ ^a	۲/۰±۲۹/۱۴ ^b

جدول ۵- درصد تندش (رویش) و طول لوله گرده در گیاه کلزایی که به‌مدت شش ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیه کافی) یا بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف معنادار با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

تیمار	طول لوله گرده (میکرومول)	تندش دانه گرده (درصد)
تغذیه کافی بور	۳۷/۸۳±۶/۰۳ ^a	۳۲
کمبود بور	۱۹/۵۶±۶/۱۴ ^b	۷

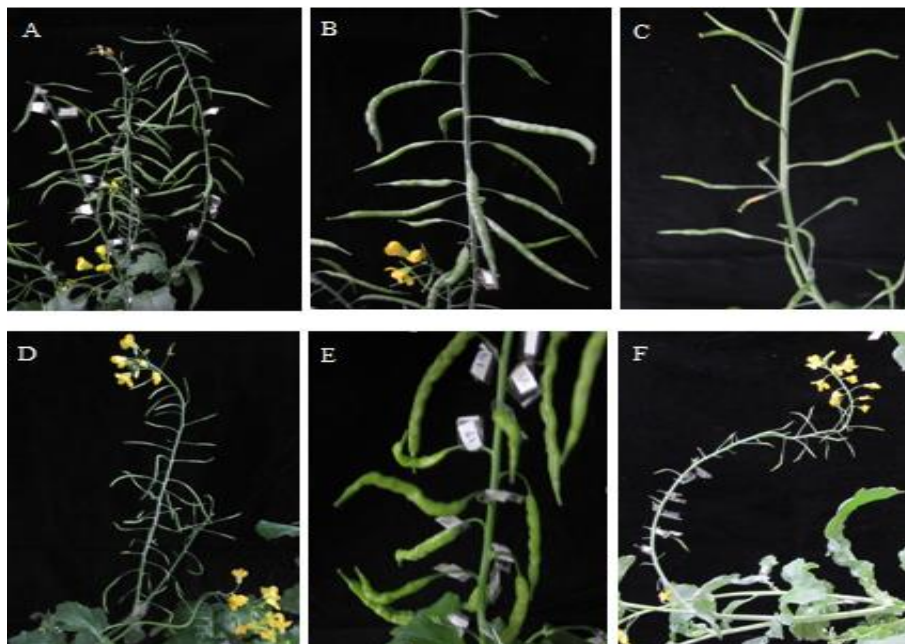
با رنگ‌پذیری زیاد در چهار گوشه بساک دیده می‌شوند و اطراف آنها را لایه‌های دیواره‌ای تقریباً بدون تمایز شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه گذر و لایه تغذیه‌ای یا تاپی (در لایه تاپی، آثاری از آغاز فعالیت و رنگ‌پذیری دیده می‌شود) احاطه کرده‌اند؛ در این مراحل، تفاوت آشکاری در گیاهان دارای تغذیه مناسب بور و بدون آن دیده نشد (شکل ۸، A و B و شکل ۹، A). در گیاهان دستخوش کمبود بور دیده شد در مرحله تقسیم سلول‌های مادر گرده (میکروسپور) و تشکیل تتراد میکروسپور، دیواره‌های بساک فشرده هستند و تمایز کافی ندارند و در نتیجه، به‌سهولت تشخیص داده می‌شوند (شکل ۹، B و C). در شرایط کفایت بور مشاهده شد لایه مغزی در مرحله میکروسپور آزاد تجزیه نمی‌شود و تا مراحل

در گیاهان دچار کمبود بور، گل آذین‌ها خمیده شدند و گل‌های انتهایی زودتر از گل‌های پایینی به خورجین تبدیل شدند و در برخی نمونه‌ها، سه خورجین به‌جای یک خورجین در یک گره تشکیل شد. در گیاهان دچار کمبود بور، بدشکلی میوه‌ها مشاهده شد و میوه‌ها کوتاه و خمیده بودند؛ همچنین تعداد دانه‌ها کاهش یافت و شکل غیرعادی داشتند (شکل ۶).

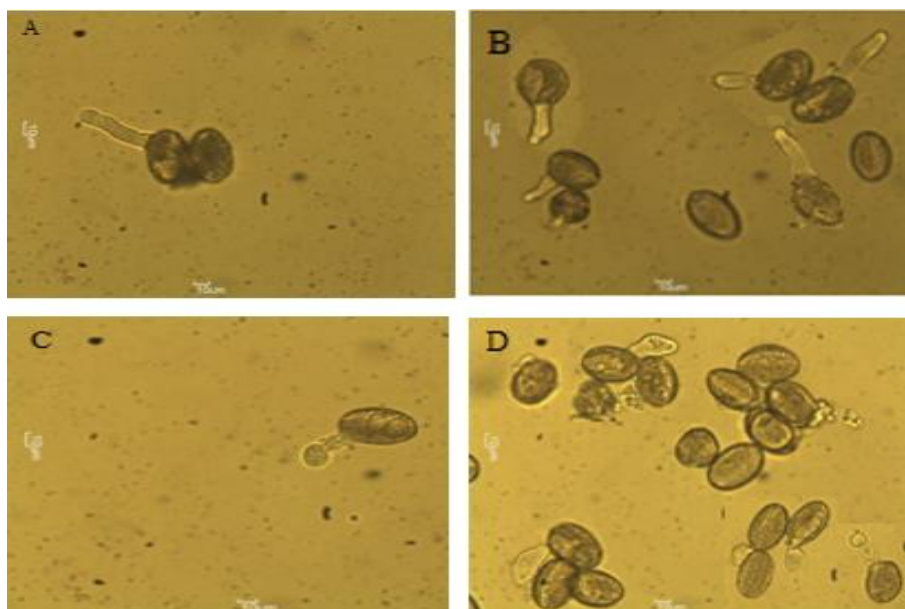
کمبود بور موجب کاهش رویش و ایجاد تورم، ترکیدگی و خروج محتویات از نوک لوله‌های گرده در حال رویش و رشد شد (شکل ۷).

مطالعه‌های تشریحی و نموی بساک نشان دادند در مراحل اولیه نمو بساک، بافت هاگ‌زا یا سلول‌های اسپوروژن به‌طور توده‌های سلولی متراکم

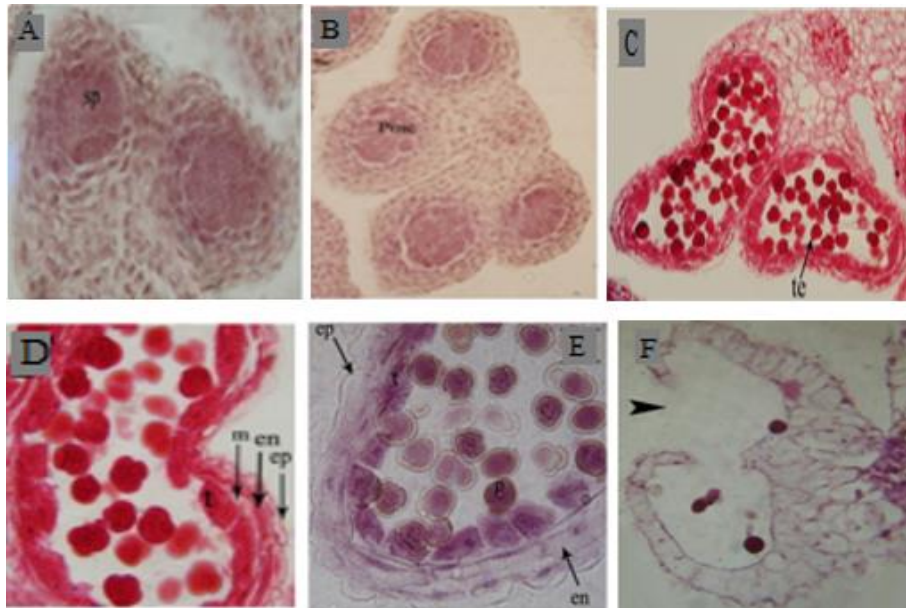
آخر میکروسپورزایی حضور فعال دارد (شکل ۸، میکروسپور آزاد به‌طور تحلیل‌رفته و با سلول‌های E)؛ اما در شرایط کمبود بور، لایهٔ مغذی در مرحلهٔ کاملاً تخریب‌شده دیده می‌شود (شکل ۹، D و E).



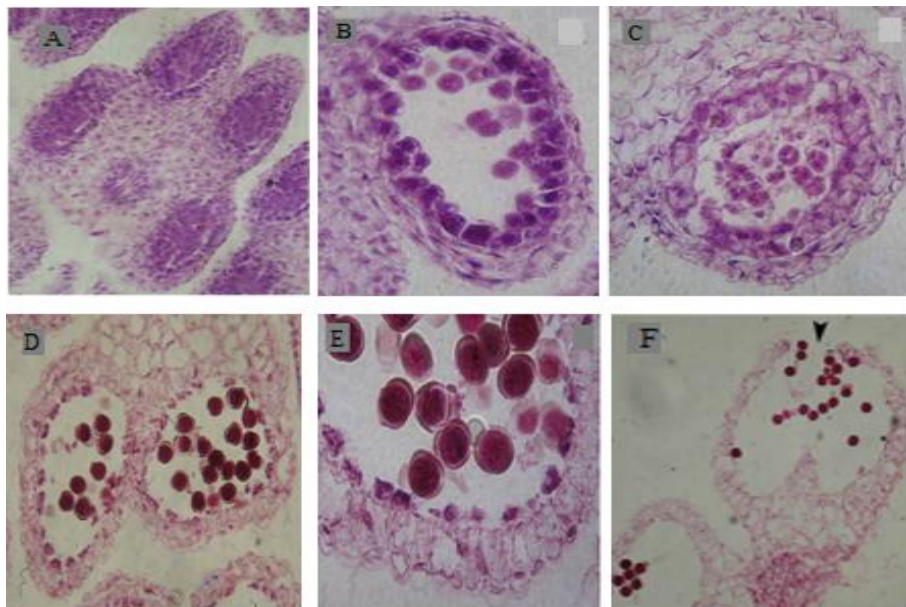
شکل ۶- اثر بور روی ساختار گل آذین و میوه در گیاه کلزا؛ A و B. ساختار گل آذین و میوه در شرایط تغذیهٔ مناسب بور، C-F. ساختار گل آذین و میوه در شرایط کمبود بور، خمیدگی گل آذین و میوه، زودرس بودن گل‌های انتهایی و میوه‌های کوتاه و بی‌نظمی در ترتیب تشکیل میوه



شکل ۷- رویش گرده در گیاه کلزا؛ A و B. شکل لولهٔ گرده در شرایط تغذیهٔ مناسب بور، C و D. شکل لولهٔ گرده در شرایط کمبود بور (لولهٔ گرده کوتاه و دارای تورم رأسی است و ترکیدگی و خروج محتویات لولهٔ گرده مشاهده می‌شود)



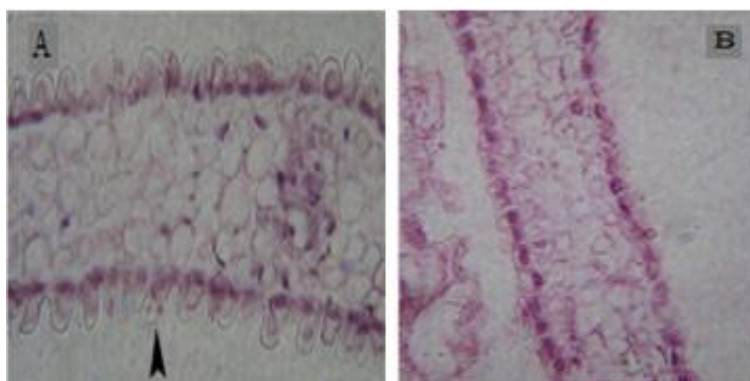
شکل ۸- A-F. مراحل نمو بساک در گیاه کلزایی که به مدت شش ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی حاوی ۲۵ میکرومولار بور (تغذیه کافی) رشد داده شد. A و B. مرحله بافت اسپروژن (به ترتیب با بزرگ‌نمایی $\times 40$ و $\times 10$)، تقسیم میوزی سلول‌های مادر گرده و تشکیل تتراد میکروسپور (به ترتیب با بزرگ‌نمایی $\times 40$ و $\times 100$)، کیسه گرده در مرحله میکروسپورهای آزاد (بزرگ‌نمایی $\times 100$)، F. بساک پس از شکوفایی کامل کیسه گرده (بزرگ‌نمایی $\times 40$) (پیکان سیاه، محل شکوفایی بساک است)، Pmc = سلول‌های مادر میکروسپور، sp = بافت اسپروژن، te = تتراد میکروسپور، ep = اپیدرم، en = لایه مکانیکی، m = لایه میانی



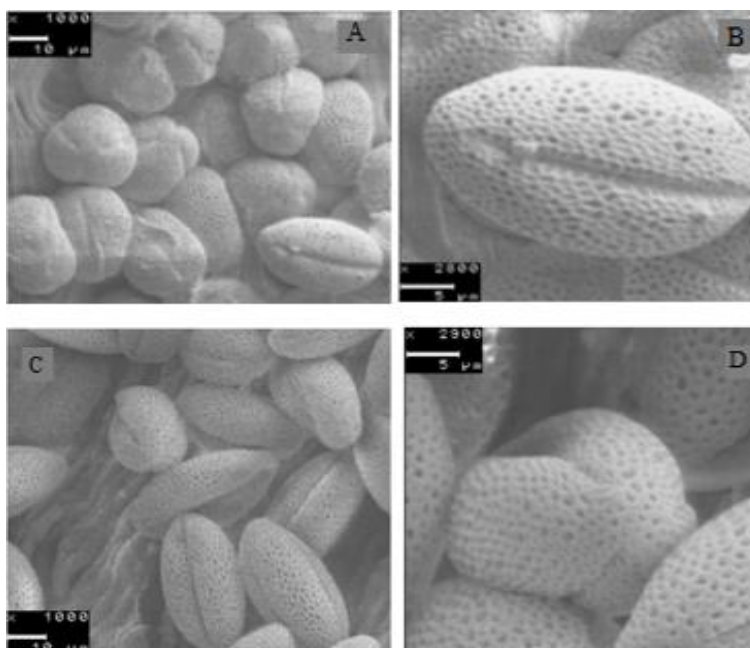
شکل ۹- مراحل نمو بساک در گیاه کلزایی که به مدت شش ماه در شرایط اتاق رشد و در بستر پرلیت و آبیاری با محلول غذایی بدون بور (کمبود بور) رشد داده شد. A. مرحله بافت اسپروژن در بساک (بزرگ‌نمایی $\times 40$)، B و C. مرحله تقسیم سلول‌های مادر میکروسپور و تشکیل تتراد میکروسپور (بزرگ‌نمایی $\times 100$)، D و E. مرحله بلوغ دانه گرده (به ترتیب بزرگ‌نمایی $\times 40$ و $\times 100$)، F. مرحله رهایی دانه گرده (بزرگ‌نمایی $\times 40$) (پیکان، محل شکافتگی کیسه گرده را نشان می‌دهد)

سلول‌های میانی رشد کردند و فضای بین سلولی درخورد توجهی داشتند (شکل ۱۰).
مطالعهٔ ساختار دانه‌های گرده با میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد دانه‌های گرده در هر دو تیمار، کشیده (prolate)، دارای تزینات شبکه‌ای و شکاف‌دار هستند (شکل ۱۱).

طی نمو گل در شرایط کمبود بور، تمایز لایهٔ اپیدرمی گلبرگ‌ها به شکل اپیدرم ترشعی دیده نشد، همچنین سلول‌های میانی گلبرگ به طور فشرده و با رشد کم دیده شدند؛ درحالی که در شرایط کفایت بور، سلول‌های اپیدرمی با رشد درخورد توجه به شکل اپیدرم ترشعی سازمان یافتند و



شکل ۱۰- ساختار گلبرگ‌ها در مرحلهٔ میکروسپور آزاد در گیاه کلزا؛ A. ساختار گلبرگ در شرایط تغذیهٔ مناسب بور (رشد درخورد توجه سلول‌های میانی گلبرگ و نیز تشکیل اپیدرم ترشعی در شرایط مناسب بور دیده می‌شود و پیکان، اپیدرم ترشعی را نشان می‌دهد)، B. ساختار گلبرگ در شرایط کمبود بور (بزرگ‌نمایی $\times 100$)



شکل ۱۱- ساختار دانه‌های گرده با میکروسکوپ الکترونی نگاره در گیاه کلزا؛ A و B. ساختار دانهٔ گرده در شرایط تغذیهٔ مناسب بور (به ترتیب با بزرگ‌نمایی $\times 1000$ و $\times 2800$)، C و D. ساختار دانهٔ گرده در شرایط کمبود بور (به ترتیب با بزرگ‌نمایی $\times 1000$ و $\times 2900$) (دانه‌های گرده دارای تزینات شبکه‌ای و شکاف‌دار هستند)

بحث

به‌طور کافی گسترش نمی‌یابد (Oliveira *et al.*, 2006).

در بررسی حاضر، گیاهان دارای کمبود بور برگ‌های کوچک‌تر و پیچ‌خورده داشتند که اختلال در تقسیم و گسترش سلولی را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر، تیره‌رنگ‌بودن برگ‌های جوان نشان‌دهنده کاهش گسترش پهنک برگ و غلیظ‌شدن کلروفیل بود که در کمبود عناصری مانند فسفر نیز رایج است (Marschner, 2011). نشانه‌های کمبود بور یادشده در گونه‌های گیاهی دیگر نیز گزارش شده‌اند (Chatterjee *et al.*, 2005)؛ باوجوداین، مقدار کلروفیل برگ‌ها در شرایط کمبود بور طی بررسی حاضر کاهش یافت. در بررسی حاضر، کاهش غلظت بور با کاهش رشد اندام هوایی گیاهان همراه بود و غلظت بور در برگ‌های گیاه کلزا تا ۴۳ میکروگرم در گرم وزن خشک کاهش یافت. محدوده ۲۰ تا ۷۰ میکروگرم در گرم وزن خشک، حد بحرانی کمبود بور برای تعدادی از گیاهان دولپه‌ای رشدیافته در خاک گزارش شده است (Marschner, 2011). مطابق نتایج بررسی حاضر، از طریق محاسبه می‌توان نتیجه گرفت حد بحرانی کمبود بور در گیاه کلزا برابر ۱۱۳ میکروگرم در گرم وزن خشک است و مقدار بیشتر به‌دست آمده در این بررسی در مقایسه با مقدار گزارش شده برای شرایط مزرعه‌ای در برخی گونه‌ها به شرایط متفاوت رشد و تفاوت بین گونه‌های مختلف مربوط است.

برخلاف اندام هوایی، کمبود بور موجب کاهش غلظت (میکروگرم در گرم وزن خشک) این عنصر در ریشه نشد که می‌تواند به کاهش شدیدتر وزن

وزن خشک اندام هوایی و ریشه در اثر کمبود بور به‌شدت کاهش یافت؛ به‌طوری‌که این کاهش در اندام هوایی ۵۵ درصد بود و در ریشه به ۸۴ درصد رسید. در شرایط کمبود بور، کاهش گسترش سلول‌ها و کاهش تقسیم سلولی سبب اختلال در رشد گیاهان می‌شود (Brown *et al.*, 2002). کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Alves *et al.*, 2006). کمبود بور سبب کاهش گسترش سلول (Kocábek *et al.*, 2009) و تقسیم سلولی (Oliveira *et al.*, 2006) در شرایط کشت بافت و گیاه کامل می‌شود. نقش بور در گسترش سلولی به نقش ساختمانی این عنصر در دیواره سلولی مربوط است. بور یکی از اجزای ساختاری ترکیبات زمینه دیواره از گروه رامنوگالاکتورونان‌هاست و کمبود بور موجب اختلال در تشکیل دیواره می‌شود (O'Neil *et al.*, 2004). در سلول‌های گیاهی، دیواره نقشی فراتر از حفاظت فیزیکی سلول‌ها دارد و هر نوع تغییر در بیوسنتز آن سبب اختلال در تقسیم، گسترش و متابولیسم عادی سلول می‌شود (Camacho-Cristóbal *et al.*, 2008). کمبود بور سبب کاهش بیان ژن چندین آنزیم مهم مستقر در دیواره و مسئول گسترش سلول از جمله آنزیم‌های پکتین‌متیل‌استراز، پلی‌گالاکتوروناز و گزیلوگلوکان‌اندوترانس‌گلیکوزیلاز و نیز پروتئین اکسپانسیون می‌شود (Camacho-Cristóbal *et al.*, 2008)؛ همچنین در اثر کمبود بور، تقسیم سلولی در مریستم‌ها مختل می‌شود و برگ‌های تشکیل‌یافته

دی‌اکسیدکربن شد. کاهش فتوسنتز یکی از دلایل مهم کاهش تولید مادهٔ خشک در گیاهان دارای کمبود بور است. تاکنون نقش بور در سازوکار گشودگی روزنه‌ها بررسی نشده است؛ باوجوداین، به نظر می‌رسد بور دارای نقش مستقیم یا غیرمستقیم در گشودگی روزنه‌هاست. مشاهده شده است کمبود بور موجب کاهش فعالیت تلمبهٔ پروتون (Camacho-Cristóbal and González-Fontes, 2007) و سبب نشت یون‌های پتاسیم می‌شود (Cakmak and Römheld, 1997) که به نقش این عنصر در حفظ تمامیت غشاهای پلاسمایی مربوط است (Marschner, 2011)؛ بنابراین، کمبود بور علاوه بر کاهش فعالیت تلمبهٔ پروتون و در نتیجه، کاهش ورود یون‌های پتاسیم که در ایجاد تورم و گشودگی نقش دارند، خروج یون‌های پتاسیم را تحریک می‌کند (Cakmak and Römheld 1997) و سبب کاهش گشودگی روزنه‌ها می‌شود. فرایندی مشابه فرایند یادشده در کمبود روی دیده شده است؛ به طوری که کمبود روی سبب افزایش نشت مواد از غشاها می‌شود و روزنه‌های گیاهان عمدتاً به حالت بسته باقی می‌مانند (Hajiboland and Amirazad, 2010).

در گیاهان مختلف، کاهش فتوسنتز و فراورده‌های فتوسنتزی در اثر ممانعت از گشودگی روزنه‌ها در شرایط کمبود بور گزارش شده است (Zhao and Oosterhuis, 2002; 2003). در بررسی حاضر، کمبود بور با کاهش تثبیت دی‌اکسیدکربن سبب کاهش غلظت قندهای غیرساختاری محلول و نامحلول در اندام هوایی شد و این کاهش می‌تواند دلیل کاهش تولید مادهٔ خشک و رشد گیاه باشد؛ باوجوداین، کمبود بور

خشک این اندام و اثر غلظت نسبت داده شود؛ درحقیقت، مقدار بور (میکروگرم به‌ازای گیاه) در ریشه‌ها از ۴/۲۲ در شرایط تغذیهٔ کافی به ۰/۵۹ (۸۶ درصد) در شرایط کمبود بور کاهش یافت که معادل کاهش مقدار بور اندام هوایی است که از ۵۴/۱۸ در شرایط تغذیهٔ کافی به ۷/۹۹ (۸۵ درصد) رسید.

در شرایط کمبود بور، کلروفیل a کاهش معناداری نشان داد و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b از ۶/۵۱ به ۱/۷۵ کاهش یافت. کلروفیل a نقش مرکزی در واکنش‌های فتوشیمیایی فتوسنتز دارد و کاهش نسبت کلروفیل a به کلروفیل b یکی از دلایل پدیدهٔ بازدارندگی نوری است و می‌تواند یکی از علل کاهش معنادار کارایی بیشینهٔ فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) در بررسی حاضر محسوب شود. کاهش نسبت F_v/F_m نشان‌دهندهٔ آسیب فتوسیستم II است که در کمبود عناصری مانند روی (Wang and Jin, 2005) نیز رایج است. گفته می‌شود تغییرات نسبت F_v/F_m شاخص مناسبی برای نشان‌دادن تأثیر عملی تنش‌های محیطی مختلف مانند سرما و دمای زیاد یا کمبودهای تغذیه‌ای است (Adams and Demming-Adams, 2004)؛ همچنین کمبود بور موجب کاهش کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌های برگ شد که این امر یب افزایش حساسیت برگ‌ها به آسیب‌های ناشی از فوتون‌های پراثر می‌شود (Baker and Bowyer, 1994) و یکی از دیگر دلایل کاهش نسبت F_v/F_m است.

کمبود بور سبب کاهش گشودگی روزنه‌ها و در نتیجه، کاهش تعرق و تثبیت خالص

بور در برگ‌ها و ریشه احتمالاً از تأثیرپذیری متفاوت آنزیم‌های بیوستتزی فنل‌ها و سازوکار متفاوت تأثیر کمبود بور بر ساختمان دیواره در دو اندام ناشی می‌شود. تاکنون مطالعه‌های منتشرشده درباره تأثیر بور بر ساختمان دیواره به نتایج آزمایش روی دیواره سلول‌های برگ مربوط بوده‌اند (Cakmak and Römheld, 1997) و لازم است بررسی‌های مقایسه‌ای با استفاده از مواد دیواره با منشأ برگ و ریشه (هر دو) انجام شوند.

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز منحصرأ در برگ‌ها تحت تأثیر کمبود بور افزایش یافت که توجیه‌کننده افزایش ترکیبات فنلی محلول در این اندام است؛ برعکس، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در هیچ کدام از دو اندام هوایی و ریشه تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت، اما مقدار پایه‌ای فعالیت آن در ریشه به مراتب بیشتر از برگ‌ها بود. آنزیم پلی‌فنل اکسیداز عمدتاً در دیواره مستقر است و موجب تبدیل ترکیبات فنلی به کوئینون‌ها می‌شود که به‌نوبه خود سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌ویژه در نور شدید می‌شوند. در گونه‌ها و ارقام حساس به کمبود بور، افزایش بیشتری در فعالیت پلی‌فنل اکسیداز طی شرایط کمبود بور مشاهده می‌شود (Cakmak and Römheld, 1997)؛ با وجود این، شواهد ارائه‌شده در بررسی حاضر درباره آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تأییدکننده تحریک تولید ترکیبات فنلی فعال‌شونده با نور در شرایط کمبود بور نیست.

کمبود بور سبب کاهش معنادار وزن خشک اندام هوایی، سرعت رشد خورجین، طول و وزن نهایی خورجین‌ها و وزن هزار دانه و افزایش درصد

اثری روی غلظت قندهای غیرساختاری در ریشه نداشت که نشان می‌دهد تخصیص قندها به ریشه تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفته است. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج گزارش‌شده درباره آثار کمبود بور روی کربوهیدرات‌ها در تعدادی از گونه‌های گیاهی مطابقت ندارد. ارتباط بین بازدارندگی بازخوردی روی فتوسنتز و انباشتگی انواعی از کربوهیدرات‌ها به‌ویژه نشاسته که سبب کاهش فتوسنتز می‌شود، در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است (Iglesias *et al.*, 2002). Saboora و Behjati (۲۰۱۷) در گزارشی نشان دادند در ریشه شوگرگریز (sugar graze)، محتوای پلی‌ساکاریدها و قندهای احیاکننده در کمبود بور بیش از دو برابر افزایش می‌یابد. Cakmak و Romheld (۱۹۹۷) افزایش قندهای محلول در کمبود بور را در گزارشی تأیید کرده‌اند. در مطالعه‌های دیگر نیز مشاهده شده است در کمبود بور، غلظت قندهای محلول افزایش چندانی نشان نمی‌دهد (Camacho-Cristobal *et al.*, 2004).

در بررسی حاضر، کمبود بور سبب افزایش ترکیبات فنلی در بخش‌یژه محلول (سیتوسلی) برگ‌ها شد؛ اما مقدار فنل‌ها در بخش‌یژه متصل به دیواره تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت. انباشتگی ترکیبات فنلی در شرایط کمبود بور در گیاهان مختلف گزارش شده است (Cakmak and Römheld, 1997)، ولی تاکنون تغییر مقدار ترکیبات فنلی در بخش‌یژه‌های مختلف سلول تحت تأثیر کمبود بور بررسی نشده است. برخلاف برگ‌ها، کمبود بور در ریشه تأثیری روی هیچ کدام از بخش‌یژه‌های فنلی نداشت. تأثیر متفاوت کمبود

ریزش گل در گیاهان شد. تعداد برگ‌ها، تعداد گل‌ها، درصد ریزش میوه و وزن دانه‌ها به‌ازای پایه گیاه تحت تأثیر کمبود بور قرار نگرفت. بیشترین اثر کمبود بور روی رشد میوه و پرشدگی دانه‌ها بود و به نظر می‌رسد کاهش فتوسنتز دارای اثر منفی بر رشد رویشی و تشکیل و نمو میوه‌هاست. پرشدگی دانه در گیاه کلزا به فراورده‌های فتوسنتزی و نیز پروتئین‌ها وابسته است (Hocking and Mason, 1993). کاهش فراورده‌های فتوسنتزی در بررسی حاضر و کاهش احیای نیترات و سنتز پروتئین در شرایط کمبود بور که در بررسی‌های دیگر نشان داده شده است (Ruiz *et al.*, 1998)، نمو میوه‌ها و پرشدگی دانه را مختل می‌کند.

کمبود بور سبب کاهش معنادار درصد تندش دانهٔ گرده شد و احتمالاً کاهش تندش دانهٔ گرده به‌علت کاهش پروتئین‌ها رخ می‌دهد (Bonilla *et al.*, 2009; Sheoran *et al.*, 1980). کمبود بور از طریق اثر بر متابولیسم پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها و ترانس‌سانی کلسیم و اختلال در تشکیل دیواره می‌شود؛ این یافته در گزارش‌های پیشین نیز اشاره شده است؛ به‌طوری‌که Wang و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند در کمبود بور، کالوز و پکتین‌های اسیدی در نوک لولهٔ گرده انباشته می‌شوند؛ بنابراین، بور نقش تنظیم‌کنندگی بر جوانه‌زنی دانهٔ گرده و رشد لولهٔ گرده دارد و کمبود آن سبب کاهش رویش و رشد لولهٔ گرده می‌شود.

کمبود بور سبب ایجاد گل‌آذین‌های خمیده و ایجاد بی‌نظمی در ترتیب تشکیل خورجین شد؛ همچنین گل‌های انتهایی زودتر از گل‌های پایینی به

میوه تبدیل شدند. بی‌نظمی در ترتیب تشکیل میوه در یافته‌های Laaniste و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش شده است. کمبود بور موجب ایجاد خورجین‌های بدشکل، کوتاه و پیچی‌شکل شد که دارای دانه‌های غیرطبیعی بودند و تعداد دانه در هر خورجین کم شد. نتایج مشابهی در یافته‌های پیشین گزارش شده‌اند و پژوهشگران نشان داده‌اند وقتی گیاهان در مراحل پایانی نمو میوه و دانه با کمبود بور مواجه شوند، میوه‌های غیرطبیعی تولید می‌کنند (Goldbach *et al.*, 1990; Mahler, 1914; Sharma and Shukla, 2006; Pandey and Verma, 2017).

کمبود بور سبب ایجاد تورم رأسی و سپس خروج محتویات لولهٔ گرده در حال تشکیل شد که این یافته با نتایج قبلی در این زمینه مطابقت دارد (Wang *et al.*, 2003). افزایش غلظت فنولیک‌ها در اثر کمبود بور سبب آسیب به ساختمان غشا و عملکرد سلولی می‌شود و تغییرات ساختمانی لولهٔ گرده در کمبود بور، پیامد مستقیم افزایش فنولیک‌هاست (Afshari *et al.*, 2008).

طی مراحل نمو تخمک در گیاهان دارای کمبود بور، لایه‌های دیوارهٔ کیسهٔ گرده تمایز کافی نیافتند و به‌سهولت تشخیص داده نشدند و لایهٔ مغذی دچار تجزیهٔ زودرس شد و در مرحلهٔ میکروسپور آزاد به‌طور تحلیل‌رفته و با سلول‌های کاملاً تخریب‌شده دیده شد. در شرایط عادی نمو کیسهٔ گرده، لایهٔ مغذی تا مراحل آخر میوز و میکروسپورزایی باقی می‌ماند (Murphy, 2006). در مطالعهٔ حاضر، کمبود بور سبب تجزیهٔ زودرس لایهٔ مغذی و در نتیجه، اختلال در نمو دانهٔ گرده شد. تجزیهٔ لایهٔ مغذی برای زیست‌پذیری دانهٔ گرده مهم

References

- Adams, W. W. and Demmig-Adams, B. (2004) Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. In: Chlorophyll a fluorescence: A Signature of photosynthesis (Eds. Papageorgiou, G. C. and Govindjee, C.) 583-604. Springer Verlag, Berlin.
- Adamska, E., Teresa-Taras, T., Kaczmarek, Z. and Szala, L. (2004) Multivariate approach to evaluating the fatty acid composition of seed oil in a doubled haploid population of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Journal of Applied Genetics 45(4): 419-425.
- Afshari, H., Talaei, A., Panahi, B. and Hokmabadi, H. (2008) Morphological and tequalitative study of pistachio (*pistacia vera* L.) pollen grains and effect of different mperatures on pomological traits. Australian Journal of Crop Science 1(3): 108-114.
- Alves, M., Francisco, R., Martins, I. and Ricardo, C. P. P. (2006) Analysis of Lupinus albus leaf apoplastic proteins in response to boron deficiency. Plant Soil 279: 1-11.
- Asad, A., Bell, R. W., Dell, B. and Huang, L. (1997) Development of a boron buffered solution culture system for controlled studies of plant boron nutrition. Plant Soil 188: 21-32.
- Baker, N. R. and Bowyer, J. R. (1994) Photoinhibition of photosynthesis. From molecular mechanisms to the field. BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- Bonilla, I., Cadahia, C. and Caprena, O. (1980) Effect of boron on nitrogen metabolism and sugar levels of sugar beet. Plant and Soil 57(1): 3-9.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- است و تجزیه زودرس یا دیررس آن سبب غیرعادی شدن گرده درحال تمایز و افزایش نقص گرده‌ای می‌شود که کاهش لقاح و محصول را در پی دارد (Majd *et al.*, 2003; Melendi *et al.*, 2008)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد فعالیت و تجزیه به موقع لایه مغذی در تشکیل و قرارگرفتن تزیینات در دیواره دانه گرده و شکل آن مؤثر است (Mahmoodzadeh and Bemani, 2008).
- تجزیه زودرس دیواره بساک، انحطاط و شکل‌های غیرطبیعی دانه‌های گرده را ایجاد می‌کند و کاهش تعداد دانه گرده و ناهنجاری شکل و ساختار و کاهش رشد لوله گرده و کاهش زنده‌مانی دانه گرده به کاهش کیفیت محصول منجر می‌شود (Majd *et al.*, 2003; Mahmoodzadeh and bemani, 2008; Pandey and Gupta, 2013; Gowhar, 2017).

جمع‌بندی

داده‌های بررسی حاضر نشان دادند از مهم‌ترین آثار کمبود بور در دوره رشد رویشی، اختلال در نمو برگ‌ها و نیز کاهش فتوسنتز و فراورده‌های فتوسنتزی است. کمبود بور در دوره نمو زایشی سبب تغییر نمود بساک و دانه گرده و تغییر شکل ظاهری گل‌آذین و مانع نمو میوه‌ها و پرشدگی دانه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله حاضر از دانشگاه تبریز برای حمایت‌های مالی و از دانشگاه کرمان برای فراهم کردن شرایط لازم برای تهیه تصاویر میکروسکوپی سپاسگزاری می‌کنند.

- Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, M. A., Bassil, E. S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F. and Römheld, V. (2002) Boron in plant biology. *Plant Biology* 4: 205-223.
- Cakmak, I. and Römheld, V. (1997) Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant Soil* 193: 71-83.
- Camacho-Cristóbal, J. J. and González-Fontes, A. (2007) Boron deficiency decreases plasmalemma H⁺-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagines in tobacco roots. *Planta* 226: 443-451.
- Camacho-Cristóbal, J. J., Herrera-Rodríguez, M. B., Beato, V. M., Rexach, J., Navarro-Gochicoa, M. T., Maldonado, J. M. and González-Fontes, A. (2008) The expression of several cell wall-related genes in *Arabidopsis* roots is down-regulated under boron deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 63: 351-358.
- Chatterjee, C., Sinha, P. and Dube, B. K. (2005) Biochemical changes, yield, and quality of gram under boron stress. *Soil Science and Plant Analysis* 36: 1763-1771.
- Dickerson, D. P., Pascholati, S. F., Hagerman, A. E., Butler, L. G. and Nicholson, R. L. (1984) Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxycinnamate: CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum*. *Physiological Plant Pathology* 25: 111-123.
- Goldbach, H. E., Hartmann, D. and Rotzer, T. (1990) Boron is required for stimulation the ferricyanide-induced proton release by auxins in suspension-cultured cells of *Daucus carota* and *Lycopersicon esculentum*. *Physiologia Plantarum* 80(1): 114-118.
- Gowhar, A. D. (2017) Impact of boron nutrition in fruit crops. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(12): 4145-4155.
- Hajiboland, R. and Amirzad, H. (2010) Drought tolerance in Zn-deficient red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) plant. *Horticultural Sciences (Prague)* 37: 88-98.
- Hocking, P. J. and Mason, L. (1993) Accumulation, distribution and redistribution of dry matter and mineral nutrients in fruits of canola (oilseed rape), and the effects of nitrogen fertilizer and windrowing. *Australian Journal of Agricultural Research* 44: 1377-1388.
- Iglesias, D. J., Lliso, L., Tadeo, F. R. and Talon, M. (2002) Regulation of photosynthesis through source: sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiol. Plant* 116: 563-72.
- Iqbal, S., Farooq, M., Cheema, S. A. and Afzal, I. (2017) Boron seed priming improves the seedling emergence, growth, grain yield and grain biofortification of bread wheat. *International Journal of Agriculture and Biology* 19(1):177-182.
- Johnson, C. M., Stout, P. R., Broyer, T. C. and Carlton, A. B. (1957) Comparative chloride requirements of different plant species. *Plant Soil* 8: 337-353.
- Kocábek, T., Svoboda, Z., Al-Zwi, A. M., Rolfe, S. A. and Fellner, M. (2009) Boron-regulated hypocotyl elongation is affected in *Arabidopsis* mutants with defects in light signaling pathways. *Environmental and Experimental Botany* 67: 101-111.
- Laaniste, P., Joudu, J. and Eremeev, V. (2004) Oil content of spring oilseed rape seeds according to fertilization. *Agronomy Research* 2(1): 83-86.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Lohse, G. (1982) *Microanalytical*

- azomethine-H method for boron determination in plant tissues. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 13: 127-134.
- Magné, C., Saladin, G. and Clément, C. (2006) Transient effect of the herbicide flazasulfuron on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera*. *Chemosphere* 62: 650-657.
- Mahler, R. (1914) Boron in Idaho. *Soil Science* 5: 12-81.
- Mahmoodzadeh, H. and Bemani, M. (2008) Influence of Salinity at Early Stage of Flowering on the Development of Male Gametophyte in Canola (*Brassica napus* L.) cv. Symbol. *Research Journal of Environmental Sciences* 2(6): 415-423.
- Majd, A., Rezanejad, F., Moein, M., Amin Zadeh, M. and Shariatzadeh, S. M. A. (2003) Air pollution effects on microsporogenesis, pollen development and pollen soluble in *Spartium junceum* L. (Fabaceae). *Pajouhesh va Sazandegi* 61: 10-17 (in Persian).
- Marschner, P. (2011) Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3rd edition. Academic Press, London.
- Melendi, P. G., Uyttewaal, M., Morcillo, C. N., Mora, J. R. H., Fajardo, S., Budar, F. and Lucas, M. M. (2008) A light and electron microscopy analysis of the events leading to male sterility in ogu inra cms of rapeseed (*Brassica napus*). *Experimental Botany* 59(4): 827-838.
- Murphy, D. J. (2006) The extracellular pollen coat members of the Brassicaceae: Composition, biosynthesis, and functions in pollination. *Protoplasma* 228: 31-39.
- Oliveira, R. H., Dias-Milanez, C. R., Moraes-Dallaqua, M. A. and Rosolem, C. A. (2006) Boron deficiency inhibits petiole and peduncle cell development and reduces growth of cotton. *Journal of Plant Nutrition* 29: 2035-2048.
- O'Neil, M. A., Ishii, T., Albersheim, P. and Darvil, A. G. (2004) Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annual Review Plant Biology* 55: 109-139.
- Oxborough, K. (2004) Imaging of chlorophyll *a* fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *Journal Experimental Botany* 55: 1195-1205.
- Pandey, N. and Gupta, B. (2013) The impact of foliar boron sprays on reproductive biology and seed quality of black gram. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 27(1): 58-64.
- Pandey, A. N. and Verma, P. (2017) Boron deficiency and toxicity and their tolerance in plants: A review. *Journal of Global Biosciences* 6(4): 4958-4965.
- Plessi, M., Bertelli, D. and Albasini, A. (2007) Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chemistry* 100: 419-427.
- Rezanejad, F. (2007) The effect of air pollution on Microsporogenesis in *Spartium junceum* L. (Fabaceae). *Turk Journal of Botany* 31: 183-191.
- Ruiz, J. M., Bretones, G., Baghour, M., Ragala, L., Belakbir, A. and Romero, L. (1998) Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. *Phytochemistry* 48: 269-272.
- Saboora, A and Behjati, R. (2017) The effect of boron and iron deficiency on the contents of photosynthetic pigments, carbohydrates and phenolic compounds in two cultivars of *Sorghum bicolor* L. *Iranian Journal of Plant Biology* 9: 19-38.
- Sharma, R. R. and Shukla, R. (2006) Managing fruit pitting in mango. *Indian Horticulture* 51: 8-29.
- Sheoran, I. S., Pederen, E. J., Ross, A. R. S. and Sawhney, V. K. (2009) Dynamics of protein expression during pollen germination in canola (*Brassica napus*). *Planta* 230: 779-793.
- Shorrocks, V. M. (1997) The occurrence

- and correction of boron deficiency. *Plant Soil* 193: 121-148.
- Singh, N., Singh, R., Kaur, K. and Singh H. (1999) Studies of the physioco-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. *Food Chemistry* 66: 241-247.
- Solecka, D., Boudet, A. M. and Kacperska, A. (1999) Phenylpropanoid and anthocyanin changes in low-temperature treated winter oilseed rape leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 37: 491-496.
- Stangoulis, J. C. R., Grewal, H. S., Bell, R. W. and Graham, R. D. (2000) Boron efficiency in oilseed rape: I. Genotypic variation demonstrated in field and pot grown *Brassica napus* L. and *Brassica juncea* L. *Plant Soil* 225: 243-251.
- Wang, Q., Lu, L., Wu, X., Li, Y. and Ling, J. (2003) Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea meyeri*. *Tree Physiology* 23(5): 345-351.
- Wang, H. and Jin, J. Y. (2005) Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency. *Photosynthetica* 43: 591-596.
- Xue, J., Lin, M., Bell, R. W., Graham, R. D., Yang, X. and Yang, Y. (1998) Differential response of oilseed rape (*Brassica napus* L.) cultivars to low boron supply. *Plant Soil* 204, 155-163.
- Zhao, D. and Oosterhuis, D. M. (2002) Cotton carbon exchange, nonstructural carbohydrates, and boron distribution in tissues during development of boron deficiency. *Field Crops Research* 78: 75-77.
- Zhao, D. and Oosterhuis, D. M. (2003) Cotton growth and physiological responses to boron deficiency. *Journal of Plant Nutrition* 26: 855-867.