مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی
جلد پنجم، شماره چهارم، زمستان ۹۱
۶۳-۸۵
http://ejcp.gau.ac.ir

اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول گیاهچه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی

سوسن احمدپور دهکردی[۱] و *حمیدرضا بلوچی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زراعت دانشگاه یاسوج، [۲]استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۰۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۵/۰۴

چکیده

به منظور بررسی اثر انواع پرایمینگ بر پروتئین‌های محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی سیاهدانه تحت سطوح مختلف تنش شوری و خشکی، دو آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل پنج سطح پرایمینگ (نیترات پتاسیم یک درصد و اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار به‌مدت شش ساعت، نیترات پتاسیم سه درصد و اسیدسالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار به مدت ۱۲ ساعت و هیدروپرایمینگ با آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت)، به‌عنوان فاکتور اول و فاکتور دوم شامل چهار سطح شوری (صفر، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۷۵ میلی‌مولار NaCl) در آزمایش تنش شوری و ۳ سطح خشکی با پتانسیل‌های اسمزی صفر، ۳- و ۶- بار توسط پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ در آزمایش تنش خشکی بودند. نتایج نشان داد که برهمکنش تنش شوری و خشکی با پرایمینگ بذور بر کلیه صفات اندازه‌گیری‌شده معنی‌دار بود. غلظت پروتئین محلول با افزایش تنش شوری و خشکی کاهش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پرولین که نقش محافظتی در برابر تنش ایفا می‌کنند و مقدار مالون دی‌آلدئید افزایش یافت. اما در اثر اعمال پرایمینگ فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین افزایش و میزان مالون دی‌آلدئید یا پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول کاهش یافت. در این تحقیق، گیاهان تیمارشده با اسیدسالیسیلیک و نیترات پتاسیم و آب مقطر، بطور معمول فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز) و پروتئین محلول بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پروتئین محلول، پلی‌فنول‌اکسیداز، پیش‌تیمار بذر، کاتالاز.

* مسئول مکاتبه: balouchi@yu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

شوری خاک و آب تحت تاثیر انواع و مقادیر مختلفی از نمک‌ها ایجاد می‌شود. مقادیر بالای یون سدیم و کلر، از عوامل ایجاد تنش شوری، باعث کاهش پتانسیل آب، بهم خوردن تعادل یون‌ها یا اختلال در هموستازی یون و سمیت می‌شوند (هایاشی و موراتا، ۱۹۹۸). تنش شوری منجر به تاثیر تغییرات پتانسیل اسمزی روی محدوده وسیعی از فعالیت‌های متابولیکی گیاهان می‌گردد و با تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپراکسیدها و رادیکال‌های پراکسید هیدروژن منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. اکسیژن‌های واکنش‌پذیر محصول تنش یونی و اسمزی شدید هستند که باعث بهم ریختن ساختار غشا و مرگ سلول می‌شوند (بوهنرت و جنسن، ۱۹۹۶). گیاهان در مقابله با این اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو خاص از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون رداکتاز و سوپراکسید دیسموتاز، را افزایش می‌دهند. تحقیقات نشان می‌دهد که تحت تنش شوری و خشکی (تنش اسمزی) در حالی‌که غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MAD) در برگ‌های گیاه افزایش می‌یابد (لیانگ، ۱۹۹۹)، فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز در گوجه‌فرنگی تحت تنش NaCl، نیز افزایش می‌یابد (رودریگز روزالس و همکاران، ۱۹۹۹).

برسوگم و همکاران (۲۰۰۱) اکسید نمودن اسیدهای آمینه مهمی نظیر تریپتوفان، هیستیدین و متیونین را ناشی از اثرات مخرب رادیکال سوپراکسید دانستند. همچنین دلیل سمیت بیولوژیک پراکسید هیدروژن را به اکسید نمودن گروه‌های تیول نسبت می‌دهند (یامازاکی و همکاران، ۲۰۰۳). رادیکال هیدورکسیل سمی‌ترین شکل فعال احیای ناقص اکسیژن است که از میل ترکیبی شدیدی با ماکرومولکول‌های حیاتی سلول، برخوردار می‌باشد. این فرم، از احیای بیشتر اکسیژن و از طریق واکنش هابر–وییز به وجود می‌آید.

کاتالاز آنتی‌اکسیدان مهم دیگری است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (میتلر، ۲۰۰۲). آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز تبدیل مونوفنول‌ها را به دی‌فنول‌ها و همچنین اکسیداسیون دی‌فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلی‌مریزاسیون رنگدانه نقش دارند، کاتالیز می‌کند (بروسگوم و همکاران، ۲۰۰۱). آنزیم پراکسیداز هم در شکستن هیدروژن پراکسید نقش دارد و در دیواره سلولی، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و واکوئل یافت می‌شوند (اسچلوز و همکاران، ۱۹۸۷).

تنش خشکی عامل بسیار مهمی است که مرحله اول رشد گیاهان و استقرار آن، بخصوص طویل

Archive of SID

www.SID.ir

شدن و توسعه سلول‌ها را محدود می‌کند (شائو و همکاران، ۲۰۰۸). تنش آب در میان دیگر تغییرات، بخصوص با تولید ROS در تیلاکوئیدها، قادر به کاهش تراکم بافت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشد (کیانی و همکاران، ۲۰۰۸). گزارش‌ها نشان می‌دهند که کاربرد خارجی براسونولیدها، آنتی‌کونازول و متیل‌جاسمونات، مقاومت به خشکی را با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پلی‌فنول‌اکسیداز و آبسزیک اسید، افزایش می‌دهد و مقدار کاروتنوئیدها را در ذرت اصلاح می‌کند (لی و همکاران، ۱۹۹۸). دمیرکایا و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند پرایمینگ بذر می‌تواند تحت شرایط تنش‌های محیطی سبب بهبود روند واکنش‌های فیزیولوژیکی در بذر شده و در نتیجه مقاومت به تنش‌های محیطی در این بذور را به‌طور قابل ملاحظه‌ای ارتقا دهد. در بذور پرایم‌شده‌ای که در بستر خود با شرایط تنش‌زا روبرو هستند تخریب ماکرومولکول‌ها، اسیدهای هسته‌ای و واکنش‌های اکسیداتیو که منجر به تولید مواد سمی و خسارت‌زایی چون رادیکال‌های آزاد می‌شود به مراتب کمتر از بذور تیمار نشده می‌باشد.

سیاهدانه *Nigella sativa* L. از خانواده آلاله *Ranunculaceae* گیاه علفی یکساله با ساقه‌های ایستاده به ارتفاع ۶۰ تا ۷۰ سانتی‌متر است. برگ‌ها دارای بریدگی‌های نخی، برگچه‌های ریز، گل‌ها به رنگ سفید خاکستری تا آبی با پرچم‌های متعدد، کاسبرگ‌هایی به رنگ گلبرگ و میوه به‌صورت کپسول (غلاف دانه‌دار) است که درون آن تعداد زیادی دانه‌ی سیاه و معطر قرار دارد (دوازده امامی و مجنون حسینی، ۲۰۰۹). این گیاه علاوه بر خواص درمانی در بیماری‌های گوارشی، تنفسی و کلیوی، به دلیل داشتن ماده‌ای موسوم به تیموکیتون در دانه‌های خود دارای اثرات ضد تشنجی نیز هست (ریاض و چادهاری، ۱۹۹۶). تحقیقات زیادی روی گیاهان زراعی مختلف و برخی گیاهان دارویی انجام شده است که بیانگر این واقعیت است که با افزایش شوری و خشکی صفات جوانه‌زنی و رشد گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد و منجر به کاهش مقاومت گیاه در برابر تنش، کاهش طول مدت مراحل رویشی و زایشی گیاه و در نهایت منجر به کاهش عملکرد می‌شود. با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف و همچنین کمبود منابع آب و فراوانی خاک شور و مناطق خشک در کشور، لازم است با اعمال کارهایی روی بذر این گیاهان، مدیریت صحیحی را در تولید و پرورش این گونه‌های ارزشمند و افزایش عملکرد آن‌ها بکار گیریم.

هدف از این تحقیق در راستای استفاده از تکنولوژی آماده‌سازی بذر برای افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی، تعیین بهترین پرایم در هر سطح شوری و خشکی و به منظور بررسی تأثیر انواع

Archive of SID

www.SID.ir

پرایمینگ بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاه دارویی سیاهدانه در سطوح مختلف تنش شوری و خشکی، اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر انواع پرایمینگ بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاه دارویی سیاهدانه در شرایط تنش شوری و خشکی، دو آزمایش در تابستان سال ۱۳۸۹ در گلخانه دانشگاه یاسوج انجام شد. این آزمایش‌ها بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد که فاکتور اول شامل پنج سطح پرایمینگ (نیترات پتاسیم یک درصد و اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار به‌مدت شش ساعت، نیترات پتاسیم سه درصد و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار به مدت ۱۲ ساعت و هیدروپرایمینگ با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت) و فاکتور دوم در آزمایش اول شامل چهار سطح شوری، صفر (به عنوان شاهد)، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۷۵ میلی‌مولار نمک NaCl و در آزمایش دوم شامل سه سطح خشکی با پتانسیل‌های اسمزی صفر، ۳- و ۶- بار توسط پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ بودند.

این آزمایش‌ها برای بررسی صفات فیزیولوژیکی گیاه سیاهدانه، با کشت بذر در داخل گلدان اجرا شد. گلدان‌ها با مواد مخصوص کشت هیدروپونیک که شامل کوکوپیت و پرلیت پر شدند. سپس بذرها بعد از قرار گرفتن داخل محلول‌های پرایمینگ با مدت زمان‌های انتخاب شده، به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک و سپس در داخل گلدان‌ها کاشته شدند. در هر گلدان ۱۰ بذر سیاهدانه به عمق ۱-۲ سانتی‌متر کاشته شد. گلدان‌ها تا قبل از جوانه‌زنی با آب خالص و بعد از جوانه‌زنی و رسیدن به مرحله ۲-۳ برگی با محلول غذایی هوگلند با pH برابر ۷ آبیاری شدند (هوگلند و آرنون، ۱۹۵۰). ماده غذایی هوگلند در ابتدا یک چهارم هوگلند استفاده شد و با بزرگ‌تر شدن بوته‌ها بسته به نیاز گیاه، درصد عناصر اصلی و ریز مغذی مورد نیاز بالا می‌رفت. سطوح شوری و خشکی در اواسط رشد رویشی تا پایان گلدهی با اضافه کردن مقادیر لازم نمک طعام برای ایجاد سطوح شوری و پلی‌اتیلن گلایکول برای ایجاد سطوح خشکی به محلول هوگلند اعمال شد. همچنین برای جلوگیری از تجمع نمک و مواد غذایی داخل خاک، بعد از هر ۶ بار آبیاری با هوگلند، گلدان‌ها یکبار با آب خالص آبیاری شدند. بعد از نمونه‌برداری از جوان‌ترین برگ کامل گیاه در انتهای گلدهی، صفات فیزیولوژیکی آن در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد.

پروتئین محلول: میزان پروتئین محلول گیاهچه به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. به این

Archive of SID

www.SID.ir

منظور ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی سرد با قرار دادن در ظرف یخ با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ هموژن شد و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریوفیوژ گردید. فاز بالایی عصاره بدست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت ۳ آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز و همچنین مقدار پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت. همه فاز بالایی عصاره به میکروتیوپ انتقال داده شد و در یخچال با دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از فاز بالایی عصاره برداشته و ۲/۵ میلی‌لیتر برادفورد اضافه کرده و در طول موج ۵۹۵ با دستگاه طیف سنج UV-vis مدل LAMBDA EZ210، قرائت گردید. غلظت پروتئین بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: برای اندازه‌گیری آنزیم به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار با pH=۶/۱، ۰/۵ میلی‌لیتر گایاکول ۲۸ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 پنج میلی‌مولار اضافه کرده و در طول موج ۴۷۰ قرائت گردید. فعالیت آنزیمی به‌صورت افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه گردید (قناتی و همکاران، ۲۰۰۲).

اندازه‌گیری فعالیت پلی‌فنل اکسیداز: برای اندازه‌گیری آنزیم پلی‌فنل اکسیداز مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر متیل‌کاتکول ۰/۰۲ میلی‌مولار را در ۱۹۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۶۰ میلی‌مولار با pH=۶/۱ است. فعالیت آنزیمی در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد و به ازای تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد (قناتی و همکاران، ۲۰۰۲).

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز: برای اندازه‌گیری آنزیم به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH= ۶/۸، ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2، ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی اضافه و در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. تجزیه H_2O_2 با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر دنبال گردید (ککمک و هورست، ۱۹۹۱) و به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

اندازه‌گیری پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین از روش پاکوئین و لچارژ (۱۹۷۹) استفاده شد. بدین منظور یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی انتخاب گردید و به لوله‌های مذکور منتقل شد و ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده به آن اضافه گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر نین‌هیدرین به نمونه‌ها اضافه شد. برای تهیه

Archive of SID

www.SID.ir

نین‌هیدرین به ازای هر نمونه، ۰/۱۲۵ گرم نین‌هیدرین را در ۲ میلی‌لیتر اسید فسفوریک ۶ مولار و ۳ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال ۹۹/۹ درصد، حل گردید. بعد از آن، ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به هر نمونه اضافه گردید و نمونه‌ها داخل حمام آب‌جوش (بن‌ماری) به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها از حمام خارج شدند و در دمای محیط خنک گردیدند. بعد از آن، به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر بنزن اضافه گردید و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن گردد. نمونه‌ها سپس به مدت نیم ساعت به حال سکون قرار داده شدند و پس از این مرحله، میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. سپس میزان پرولین آزاد نمونه‌ها بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر برگ با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA): این آزمایش با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به عنوان فرآورده نهائی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا انجام شد. نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرواستیک اسید) ۱۰ درصد عصاره‌گیری شدند. سپس به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده یک میلی‌لیتر TBA (تیوباربی‌توریک اسید) ۰/۵ درصد اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه لوله‌ها از حمام آب گرم خارج شده و پس از سرد شدن میزان مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($\varepsilon = ۱۵۵ \mu M^{-1}\ cm$) بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر، محاسبه شد (دیوس و همکاران، ۱۹۹۱).

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و Excel و مقایسه میانگین اثرات اصلی با آزمون حداقل میانگین مربعات (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد و در صورت معنی‌دار بودن اثر متقابل، برش‌دهی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون L.S.Means انجام گردید (سلطانی، ۲۰۰۷).

نتایج و بحث

نتایج میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس در هر آزمایش نشان داد که اثر متقابل پرایمینگ و تنش شوری و خشکی برای تمامی صفات اندازه‌گیری‌شده در سطح یک درصد، معنی‌دار شد (جدول ۱ و ۳). نتایج تجزیه واریانس برش‌دهی برای سطوح شوری و خشکی نیز نشان داد که مابین پرایم‌های مورد مطالعه در سطوح مختلف شوری و خشکی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

Archive of SID

www.SID.ir

وجود دارد (جدول ۲ و ۴).

پروتئین محلول: بیشترین پروتئین محلول در شرایط بدون تنش خشکی و پرایمینگ با نیترات پتاسیم یک درصد با مقدار ۳/۷ میکروگرم بر گرم وزن تر بدست آمد که نسبت به شاهد بدون پرایم و تیمارهای دیگر نیز اختلاف معنی‌داری داشت. در تنش اسمزی ۳- بار نیز نیترات پتاسیم یک درصد باعث تولید پروتئین محلول بیشتری در بافت‌های گیاهی شد و در مقایسه با شاهد بدون پرایم به میزان ۱۰/۳ میکروگرم بر گرم وزن تر اختلاف معنی‌داری را نشان داد. شاهد در این سطح تنش با تیمار نیترات پتاسیم سه درصد و اسید سالیسیلیک ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌مولار، در یک گروه آماری قرار می‌گیرند. بالاترین میزان پروتئین محلول در تنش اسمزی ۶- بار در تیمار اسیدسالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار مشاهده شد که در مقایسه با شاهد و تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار داشت. پایین‌ترین مقدار پروتئین محلول هم در بوته‌های رشد کرده از بذرهای تیمار شده با اسیدسالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار و هیدروپرایمینگ دیده شد (جدول ۵).

در شرایط بدون تنش شوری بیشترین پروتئین محلول در تیمار نیترات پتاسیم سه درصد به میزان ۱۴/۹ میکروگرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. در شوری ۷۵ میلی‌مولار، اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار، میزان پروتئین محلول بالاتری نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر نشان داد. نیترات پتاسیم یک درصد با مقدار ۱۴/۷ میکروگرم بر گرم وزن تر در شوری ۱۲۵ میلی‌مولار با اختلاف ۱/۲ میکروگرم بر گرم وزن تر نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد. همچنین هیدروپرایمینگ و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار نیز اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. در ۱۷۵ میلی‌مولار NaCl، تیمارهای نیترات پتاسیم یک درصد و اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار با ۱۴/۲ میکروگرم بر گرم وزن تر، پروتئین محلول بالاتری در بین تیمارها از خود نشان دادند، همچنین در نیترات پتاسیم ۳ درصد، پائین‌ترین میزان پروتئین محلول دیده شد (جدول ۶).

سطح پروتئین محلول در شرایط تنش خشکی شدید در پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار و در خشکی کم نیترات پتاسیم یک درصد، افزایش معنی‌داری داشت. در شرایط تنش خشکی، تیمار اسید سالیسیلیک احتمالاً فعالیت نیترات ردوکتاز را محافظت می‌کند و محتوای پروتئین و نیتروژن برگ را در سطحی برابر با گیاهچه‌هایی که در شرایط آب کافی بودند، نگه می‌دارد (سناراتنا و همکاران، ۲۰۰۰). نتایج به نقش اسید سالیسیلیک در تنظیم پاسخ خشکی گیاهان دلالت می‌کند و پیشنهاد می‌کند که اسید سالیسیلیک می‌تواند به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد بالقوه برای بهبود رشد گیاه تحت تنش آبی مورد استفاده قرار گیرد (سناراتنا و همکاران، ۲۰۰۰).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین و مالون دی‌آلدئید در سطوح مختلف تنش خشکی و پرایمینگ بذر سیاهدانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	مالون‌دی‌آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	پراکسیداز	پلی‌فنول اکسیداز	کاتالاز
تکرار	۲	۰/۴۴*	۰/۰۰۰۱$^{n.s}$	۰/۰۰۰۲$^{n.s}$	۰/۰۰۰۰۱$^{n.s}$	۰/۰۰۰۰۲$^{n.s}$	۰/۰۰۰۰۳$^{n.s}$
خشکی	۲	۱۵۹/۴۰**	۰/۱۶**	۱۲۵/۱۴**	۰/۰۰۲$^{n.s}$	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۲**
پرایم	۵	۱۸۸/۳۸**	۰/۲۹**	۷۵/۷۱**	۰/۰۱**	۰/۰۴**	۰/۲۱**
خشکی × پرایم	۱۰	۱۳۳/۳۱**	۰/۰۵**	۴۰/۵۰**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۲**
خطا	۳۴	۰/۱۲	۰/۰۰۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات	(درصد)	۵/۸۱	۱/۷۴	۰/۲۲	۵/۶۹	۹/۲۰	۵/۶۵

* و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد و n.s معنی‌دار نمی‌باشد.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برش‌دهی اثر خشکی در سطوح مختلف پرایمینگ برای صفات مختلف

پتانسیل اسمزی (بار)	درجه آزادی	مالون‌دی‌آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	پراکسیداز	پلی‌فنول اکسیداز	کاتالاز
صفر	۵	۹۹/۲**	۰/۱۱**	۰/۰۱**	۰/۰۰۴**	۰/۰۲**	۰/۰۶**
-۳	۵	۱۴/۰**	۰/۱۰**	۲/۵۲**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۶**	۰/۰۶**
-۶	۵	۳۴۱/۷**	۰/۱۹**	۱۰۴/۴**	۰/۰۱**	۰/۰۱**	۰/۱۰**

* و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد و n.s معنی‌دار نمی‌باشد

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین و مالون دی‌آلدئید سیاهدانه در سطوح مختلف تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	مالون‌دی آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	پراکسیداز	پلی‌فنول‌اکسیداز	کاتالاز
تکرار	۲	۰/۴۲$^{n.s}$	۰/۰۰۰۲$^{n.s}$	۰/۰۰۲$^{n.s}$	۰/۰۰۰۰۰۱$^{n.s}$	۰/۰۰۰۰۳$^{n.s}$	۰/۰۰۰۰۱$^{n.s}$
شوری	۳	۱۶۶/۳۸**	۰/۵۸**	۱/۸۶**	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۰۰۲**
پرایم	۵	۱۲۳/۶۴**	۰/۸۸**	۱/۸۳**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰۵**
شوری×پرایم	۱۵	۱۳۰/۳۶**	۰/۱۳**	۱/۵۲**	۰/۰۰۰۰۲**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۸**
خطا	۴۶	۰/۵۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات	(درصد)	۱۱/۷۴	۳/۰۸	۰/۵۶	۱۱/۳۱	۶/۱۸	۵/۴۴

*و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد و n.s معنی‌دار نمی‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برش‌دهی اثر شوری در سطوح مختلف پرایمینگ برای صفات مختلف

سطوح نمک طعام (میلی‌مولار)	درجه آزادی	مالون‌دی آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	پراکسیداز	پلی‌فنول اکسیداز	کاتالاز
صفر	۵	۴۰/۹**	۰/۲**	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۰۲**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۲**
۷۵	۵	۳۰۵/۶**	۰/۱**	۰/۰۴**	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۱۰**	۰/۰۰۱**
۱۲۵	۵	۵۶/۲**	۰/۲**	۰/۰۸**	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۳**
۱۷۵	۵	۱۱۱/۸**	۰/۶**	۶/۲۳**	۰/۰۰۰۰۸**	۰/۰۰۱۰**	۰/۰۰۱**

*و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد و n.s معنی‌دار نمی‌باشد.

همچنین قربانی‌جاوید و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که غلظت پروتئین‌های محلول در سطوح مختلف تنش خشکی در ژنوتیپ متحمل یونجه، تقریباً ثابت بوده که به نظر می‌رسد در حفظ ساختار گیاه و انجام فعالیت‌های گیاهی مطلوب بوده است، در حالی که در ژنوتیپ حساس با افزایش شدت تنش، غلظت پروتئین‌های محلول به شدت کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کاهش فراوانی پیش‌ماده‌های تولیدکننده پروتئین‌ها (مواد معدنی و آلی) و کاهش تظاهر ژن‌ها یا مبدأ تظاهر آن‌ها باشد. **آنزیم پراکسیداز:** در شرایط بدون تنش خشکی، هیدروپرایمینگ با ۰/۰۲۶ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را نشان داد که در مقایسه با شاهد از ۰/۰۱۶ افزایش برخوردار بود. این تیمار با دیگر تیمارها هم اختلاف معنی‌داری دارد. تیمارهای اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار و هیدروپرایمینگ در خشکی ۳- بار بالاترین میزان فعالیت آنزیم را نشان دادند که با تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار در یک گروه آماری قرار می‌گیرد، ولی با شاهد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری دارد.

در تنش اسمزی ۶- بار نیز هیدروپرایمینگ و شاهد با ۰/۰۲ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، از مقدار فعالیت آنزیم بیشتری در بین تیمارها برخوردار بودند که با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۵).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل خشکی و پرایمینگ بر پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین و مالون دی‌آلدئید سیاهدانه در سطوح مختلف تنش خشکی

پتانسیل اسمزی (بار)	انواع پرایم	مالون دی‌آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	آنزیم پراکسیداز	آنزیم‌پلی‌فنول اکسیداز	آنزیم کاتالاز
		میکرومول بر گرم		میکروگرم برگرم‌وزن‌تر	تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه		
صفر	بدون پرایم	۱۷/۲۰$^{b(A)}$	۰/۴۲$^{i(C)}$	۳/۵۷$^{k(C)}$	۰/۰۱۰$^{i(F)}$	۰/۰۲۶$^{c(B)}$	۰/۰۴۰$^{h(E)}$
	KNo_3٪۱	۱۰/۹۳$^{d(C)}$	۰/۳۷$^{k(D)}$	۳/۷۳$^{e(A)}$	۰/۰۱۴$^{g(C)}$	۰/۰۲۳$^{d(C)}$	۰/۰۳۲$^{i(F)}$
	KNo_3٪۳	۱۱/۵۶$^{e(B)}$	۰/۲۰$^{m(E)}$	۳/۶۲$^{gh(B)}$	۰/۰۱۶$^{f(B)}$	۰/۰۴۰$^{a(A)}$	۰/۰۴۸$^{g(D)}$
	SA۰/۲	۶/۴۶$^{f(E)}$	۰/۷۱$^{b(A)}$	۳/۶۶$^{f(B)}$	۰/۰۱۲$^{gh(D)}$	۰/۰۱۸$^{fgh(D)}$	۰/۰۵۹$^{e(B)}$
	SA۰/۵	۷/۵۰$^{e(D)}$	۰/۴۱$^{i(C)}$	۳/۶۲$^{gh(B)}$	۰/۰۰۸$^{j(E)}$	۰/۰۱۴$^{j(F)}$	۰/۰۶۲$^{c(A)}$
	هیدروپرایم	۰/۱۰$^{j(F)}$	۰/۶۶$^{d(B)}$	۳/۵۸$^{jk(C)}$	۰/۰۲۶$^{a(A)}$	۰/۰۱۶$^{i(E)}$	۰/۰۵۳$^{f(C)}$
-۳	بدون پرایم	۵/۱۰$^{g(A)}$	۰/۵۱$^{h(D)}$	۳/۴۱$^{m(C)}$	۰/۰۰۶$^{k(C)}$	۰/۰۱۳$^{j(D)}$	۰/۰۳۹$^{h(E)}$
	KNo_3٪۱	۴/۶۰$^{g(A)}$	۰/۳۲$^{l(E)}$	۱۳/۷۴$^{c(A)}$	۰/۰۰۶$^{k(C)}$	۰/۰۰۶$^{l(E)}$	۰/۰۱۲$^{k(F)}$
	KNo_3٪۳	۱۰/۱۰$^{j(D)}$	۰/۲۰$^{m(F)}$	۳/۳۸$^{m(B)}$	۰/۰۰۸$^{j(B)}$	۰/۰۱۹$^{gf(B)}$	۰/۰۵۹$^{de(D)}$
	SA۰/۲	۰/۷۰$^{i(C)}$	۰/۷۰$^{bc(A)}$	۳/۵۹$^{ij(B)}$	۰/۰۲۲$^{bc(A)}$	۰/۰۳۴$^{b(A)}$	۰/۰۶۳$^{bc(B)}$
	SA۰/۵	۴/۶۳$^{g(A)}$	۰/۵۳$^{g(C)}$	۳/۶۱$^{hi(B)}$	۰/۰۲۳$^{b(A)}$	۰/۰۱۷$^{hi(C)}$	۰/۰۶۵$^{b(A)}$
	هیدروپرایم	۳/۱۳$^{h(B)}$	۰/۶۲$^{f(B)}$	۳/۶۳$^{g(B)}$	۰/۰۲۳$^{b(A)}$	۰/۰۲۰$^{ef(B)}$	۰/۰۶۱$^{cd(C)}$
-۶	بدون پرایم	۲۷/۵۶$^{a(A)}$	۰/۶۴$^{e(D)}$	۳/۴۸$^{l(D)}$	۰/۰۲۰$^{cd(B)}$	۰/۰۱۸$^{ghi(C)}$	۰/۰۴۸$^{g(B)}$
	KNo_3٪۱	۰/۱۰$^{j(D)}$	۰/۳۷$^{k(F)}$	۱۴/۳۷$^{b(B)}$	۰/۰۰۴$^{l(F)}$	۰/۰۰۷$^{kl(D)}$	۰/۰۱۴$^{jk(CD)}$
	KNo_3٪۳	۴/۸۰$^{g(C)}$	۰/۳۹$^{j(E)}$	۱۳/۶۰$^{d(C)}$	۰/۰۱۴$^{g(D)}$	۰/۰۰۷$^{kl(D)}$	۰/۰۱۵$^{j(C)}$
	SA۰/۲	۰/۱۰$^{j(D)}$	۰/۶۶$^{de(C)}$	۱۴/۵۱$^{a(A)}$	۰/۰۱۱$^{hi(E)}$	۰/۰۰۸$^{k(D)}$	۰/۰۱۳$^{jk(D)}$
	SA۰/۵	۰/۱۰$^{j(D)}$	۱/۰۸$^{a(A)}$	۳/۳۷$^{n(E)}$	۰/۰۱۸$^{e(C)}$	۰/۰۲۱$^{e(B)}$	۰/۰۸۳$^{a(A)}$
	هیدروپرایم	۶/۷۰$^{f(B)}$	۰/۶۹$^{c(B)}$	۳/۳۶$^{n(E)}$	۰/۰۲۳$^{b(A)}$	۰/۰۳۹$^{a(A)}$	۰/۰۸۴$^{a(A)}$
LSD(٪۵)		۰/۵۹	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲

اعداد با حروف مشابه در هر ستون، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD برای مقایسه میانگین اثرات متقابل کلی (حروف بیرون پرانتز) و در آزمون L.S.Means برای مقایسه میانگین به روش برش‌دهی (حروف درون پرانتز) نشان ندادند. SA: اسید سالیسیلیک، KNO_3: نیترات پتاسیم

در شرایط بدون تنش شوری، اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار بالاترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز را نشان داد که نسبت به تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار، تفاوت معنی‌دار نداشت،

Archive of SID

www.SID.ir

ولی با شاهد و بقیه تیمارهای پرایم‌شده در یک گروه آماری قرار نگرفتند و اختلاف معنی‌دار داشتند. در ۷۵ میلی‌مولار شوری نیز تیمار نیترات پتاسیم سه درصد از مقدار بیشتری در بین تیمارها برخوردار است که با شاهد و تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری را نشان داد. بالاترین فعالیت آنزیم در تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار با میزان ۰/۰۱۳ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، در ۱۲۵ میلی‌مولار نمک NaCl مشاهده شد که فقط با سالیسیلیک ۰/۵ درصد در یک گروه آماری قرار گرفتند. پائین‌ترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز هم در شاهد و نیترات پتاسیم دیده شد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ۰/۰۱۴ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، بود که در تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار، در تنش شوری ۱۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد و با هیچکدام از تیمارها در یک گروه آماری قرار نگرفت (جدول ۶).

طبق نتایج مشاهده می‌شود که آنزیم پراکسیداز در گیاهان رشد کرده از بذرهای پرایم شده بیشتر از بذرهای پرایم نشده است علاوه بر این تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شده است ولی افزایشی که پرایمینگ ایجاد کرده است نسبت به افزایشی که در تنش ایجاد شده است به طور معنی‌داری بیشتر است. در طی تنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهان از قبیل (کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و پلی‌فنول‌اکسیداز) فعال می‌شوند که این ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تجزیه می‌کنند در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان با تحمل تنش در گیاهان، رابطه مستقیم دارند (میتلر، ۲۰۰۲). برای مثال اشرف و علی (۲۰۰۸) دریافتند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و پراکسیداز در برگ‌های کلزا تحت شرایط شوری افزایش می‌یابد. همچنین موسوی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که اسموپرایمینگ بذرهای گل همیشه بهار با پلی‌اتیلن گلایکول، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، مخصوصاً کاتالاز و پراکسیداز را در مقایسه با بذرهای پرایم نشده، بالا می‌برد.

www.SID.ir

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و پرایمینگ بر پروتئین محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سیاهدانه در سطوح مختلف تنش شوری.

سطوح شوری (میلی‌مولار)	انواع پرایم	مالون دی‌آلدئید	پرولین	پروتئین محلول	آنزیم پراکسیداز	آنزیم پلی‌فنول اکسیداز	آنزیم کاتالاز
		میکرومول بر گرم		میکروگرم برگرم‌وزن‌تر	تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه		
صفر	بدون پرایم	۸/۶۰ e(A)	۰/۴۲ k(C)	۱۴/۲۰ e(D)	۰/۰۰۱۳ m(F)	۰/۰۰۲۵ q(F)	۰/۰۶۶۱ a(A)
	KNO_3 ٪۱	۵/۰۵ gh(B)	۰/۵۵ i(B)	۱۴/۵۰ d(C)	۰/۰۰۱۴ lm(E)	۰/۰۰۴۰ nop(D)	۰/۰۰۵۷ n(E)
	KNO_3 ٪۳	۰/۰۱ j(C)	۰/۲۱ m(D)	۱۴/۹۰ b(A)	۰/۰۰۱۷ klm(D)	۰/۰۰۳۳ pq(E)	۰/۰۰۳۷ o(F)
	SA۰/۲	۰/۰۱ j(C)	۰/۲۰ m(D)	۳/۵ kl(E)	۰/۰۰۶۷ f(A)	۰/۰۱۳۳ gh(B)	۰/۰۲۷۲ g(C)
	SA۰/۵	۰/۰۱ j(C)	۰/۱۵ n(E)	۳/۴۳ lm(F)	۰/۰۰۷۲ ef(B)	۰/۰۲۸۴ a(A)	۰/۰۴۶۵ d(B)
	هیدروپرایم	۰/۰۱ j(C)	۰/۹۳ d(A)	۱۴/۸ b(B)	۰/۰۰۳۳ gh(C)	۰/۰۰۹۵ i(C)	۰/۰۰۷۶ lm(D)
۷۵	بدون پرایم	۱۰/۳۰ d(A)	۰/۵۱ j(B)	۳/۷۰ i(D)	۰/۰۰۶۴ f(C)	۰/۰۱۴۶ g(C)	۰/۰۳۴۰ f(A)
	KNO_3 ٪۱	۴/۱۹ h(C)	۰/۴۴ k(C)	۱۴/۷ b(B)	۰/۰۰۳۰ ghi(D)	۰/۰۰۵۱ lmno(D)	۰/۰۰۶۲ mn(E)
	KNO_3 ٪۳	۰/۰۱ j(D)	۰/۱۹ m(E)	۳/۴۰ m(F)	۰/۰۰۹۱ c(A)	۰/۰۱۷۶ ef(B)	۰/۰۲۶۵ g(B)
	SA۰/۲	۴/۳۴ h(C)	۰/۴۲ k(C)	۱۴/۶۰ c(C)	۰/۰۰۳۰ ghi(D)	۰/۰۰۴۰ no(F)	۰/۰۰۸۴ kl(D)
	SA۰/۵	۵/۱۲ gh(C)	۰/۳۵ l(D)	۱۳/۷۰ a(A)	۰/۰۰۲۴ h-l(D)	۰/۰۰۳۸ opq(E)	۰/۰۲۰۳ h(C)
	هیدروپرایم	۶/۸۶ f(B)	۰/۹۴ d(A)	۳/۶۰ j(E)	۰/۰۰۸۰ de(B)	۰/۰۱۹۰ de(A)	۰/۰۳۸۴ e(A)
۱۲۵	بدون پرایم	۲۸/۱۳ a(A)	۰/۸۳ e(C)	۱۳/۵۰ h(B)	۰/۰۰۲۳ ijk(C)	۰/۰۰۵۳ klmn(D)	۰/۰۰۹۸ k(F)
	KNO_3 ٪۱	۱/۶۴ i(C)	۱/۰۲ c(B)	۱۴/۷۰ b(A)	۰/۰۰۲۹ ghij(C)	۰/۰۰۵۵ klm(D)	۰/۰۰۷۵ lmn(E)
	KNO_3 ٪۳	۰/۰۱ j(D)	۰/۵۰ j(E)	۳/۷۰ i(C)	۰/۰۰۸۹ cd(B)	۰/۰۱۳۱ h(C)	۰/۰۳۵۴ f(D)
	SA۰/۲	۱/۷۴ i(C)	۰/۵۲ ij(E)	۱۴/۵۶ cd(D)	۰/۰۰۳۳ gh(A)	۰/۰۰۵۷ klm(D)	۰/۰۱۰۲ k(C)
	SA۰/۵	۹/۶۱ de(B)	۰/۶۵ h(D)	۳/۵۰ kl(E)	۰/۰۱۲۹ b(A)	۰/۰۱۹۷ cd(B)	۰/۰۶۲۰ b(A)
	هیدروپرایم	۸/۵۶ e(B)	۱/۱۹ b(A)	۳/۵۶ kl(E)	۰/۰۰۹۳ c(B)	۰/۰۲۰۶ c(A)	۰/۰۵۰۹ c(B)
۱۷۵	بدون پرایم	۰ j(E)	۰ o(E)	۰ o(C)	۰ n(E)	۰ r(E)	۰ p(F)
	KNO_3 ٪۱	۱۴/۶۲ b(A)	۰/۶۵ h(D)	۱۴/۲۰ e(A)	۰/۰۰۳۶ g(C)	۰/۰۰۶۵ jk(D)	۰/۰۱۰۰ k(E)
	KNO_3 ٪۳	۱۰/۶۴ d(C)	۰/۷۷ f(B)	۳/۳۰ n(B)	۰/۰۰۹۸ c(B)	۰/۰۲۵۱ b(A)	۰/۰۵۱۳ c(B)
	SA۰/۲	۱۲/۷۷ c(B)	۰/۷۳ g(C)	۱۴/۲۰ e(A)	۰/۰۰۱۹ j-m(E)	۰/۰۰۶۳ kl(D)	۰/۰۱۲۶ j(D)
	SA۰/۵	۵/۷۶ fg(D)	۰/۷۲ g(C)	۳/۷۰ i(B)	۰/۰۱۴۵ a(A)	۰/۰۱۷۰ f(B)	۰/۰۶۵۴ a(A)
	هیدروپرایم	۱۳/۲۹ c(B)	۱/۴۲ a(A)	۱۴/۱۰ f(A)	۰/۰۰۲۶ g-k(DE)	۰/۰۰۷۷ j(C)	۰/۰۱۶۴ i(C)
LSD(٪۵)		۱/۲۱	۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

اعداد با حروف مشابه در هر ستون، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD برای مقایسه میانگین اثرات متقابل کلی (حروف بیرون پرانتز) و در آزمون L.S.Means برای مقایسه میانگین به روش برش‌دهی (حروف درون پرانتز) نشان ندادند؛ SA: اسید سالیسیلیک، KNO_3: نیترات پتاسیم

Archive of SID

www.SID.ir

آنزیم پلی‌فنول اکسیداز: بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در شرایط بدون تنش خشکی، در گیاهانی دیده شد که بذرها با نیترات پتاسیم سه درصد پیش‌تیمار شدند که با شاهد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. در تنش اسمزی ۳- بار نیز اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار، بیشترین فعالیت آنزیم را نشان داد که با شاهد و دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت. با افزایش تنش خشکی، در فشار اسمزی ۶- بار، هیدروپرایمینگ بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز را در بین تیمارهای پرایم‌شده و شاهد ایجاد کرد. همچنین تیمارهای نیترات پتاسیم سه درصد، اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار و شاهد با کمترین مقدار فعالیت آنزیم، در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۵).

اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار، بالاترین مقدار فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز را در شرایط بدون تنش شوری، نشان داد که با شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌دار دارد. در شوری ۷۵ میلی‌مولار، هیدروپرایمینگ بالاترین میزان فعالیت آنزیم را دارا بود که نسبت با نیترات پتاسیم ۳ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی با شاهد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت. پائین‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در این مرحله، در شاهد دیده شد. در شوری ۱۲۵ میلی‌مولار، هیدروپرایمینگ ، در بین تیمارها از بیشترین فعالیت آنزیم برخوردار بود که با اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار، اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی با شاهد و تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار نشان داد. در اینجا تیمار نیترات پتاسیم یک درصد و شاهد کمترین میزان فعالیت آنزیم را دارند و در یک گروه آماری قرار می‌گیرند. بوته‌های رشد کرده از بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم سه درصد، در تنش شوری ۱۷۵ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز بیشتری را نسبت به بقیه تیمارها تولید کردند که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۶).

با توجه به این نتایج فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با افزایش تنش شوری و خشکی افزایش و با اعمال پرایمینگ افزایش بیشتری داشته است. فرهودی و همکاران (۲۰۱۱) بیان داشتند که بین مقاومت به شوری و پرایمینگ بذرها، همبستگی قوی وجود دارد، زیرا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl در بذرهای پرایم‌شده خربزه، افزایش قابل‌ملاحظه‌ای را نشان داده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به کاهش میزان MDA و خسارت تنش در سلول‌ها، به گیاهان کمک می‌کند (مونس و ترمات، ۱۹۸۶؛ بانداوگلو و همکاران، ۲۰۰۴).

آنزیم کاتالاز : در محیط بدون تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۵

www.SID.ir

میلی‌مولار با مقدار ۰/۰۶۲ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، نسبت به شاهد با اختلاف ۰/۰۳۰ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، تفاوت معنی‌داری دارد و با دیگر تیمارها هم اختلاف معنی‌دار داشت. در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار مشاهده شد که فقط با اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری ندارد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۶- بار، در گیاهانی دیده شد که بذرها با هیدروپرایمینگ و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار پیش‌تیمار شده‌اند و با شاهد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در این مرحله کمترین مقدار آنزیم در اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار و شاهد مشاهده شد (جدول ۵).

در شرایط بدون تنش شوری، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شاهد بدون پرایم دیده شد که نسبت به تیمارهای پرایم شده اختلاف معنی‌داری دارد. در ۷۵ میلی‌مولار شوری، هیدروپرایمینگ فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری را در گیاهان تولید کرد که با شاهد و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار در تنش ۱۲۵ میلی‌مولار نیز از فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری برخوردار است و با شاهد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری دارد. در این مرحله کمترین فعالیت آنزیم در شاهد دیده شد و در شوری ۱۷۵ میلی‌مولار نمک هم، اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار با ۰/۰۶۵ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در بین تیمارهای پرایم‌شده نشان داد که نسبت به تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری دارد (جدول ۶).

آنزیم کاتالاز نیز یکی از مهمترین آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با افزایش تنش خشکی افزایش می‌یابد، ولی با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان این آنزیم را در گیاهان تحت تنش بیشتر افزایش داد (موسوی و همکاران، ۲۰۰۹). برای مثال گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پرایم شده *Cucomin melon* در مقایسه با گیاهچه‌های رشد یافته از بذرهای پرایم نشده، فعالیت کاتالاز بیشتری را نشان دادند (فرهودی و همکاران، ۲۰۱۱). تحت تنش خشکی که مقدار جذب و ترکیب CO_2 به علت منع بازشدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد، انرژی داخلی افزایش یافته، ظرفیت انتقال الکترون فتوسنتز به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش غلظت ROS را خواهیم داشت که همین باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌شود، در همین جاست که گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، پراکسیداز (POD)، پلی‌فنول‌اکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) به عنوان آنزیم‌های اکسیداتیو فعال‌تر می‌شوند (هیسائو، ۱۹۷۳). الطیب (۲۰۰۵) افزایش میزان فعالیت

Archive of SID

www.SID.ir

آنزیم‌های آنتی اکسیدان را تحت تنش شوری روی گیاه جو در اثر تیمار با اسید سالیسیلیک گزارش نمود.

دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تحت تنش‌ها در اثر پرایمینگ، می‌تواند در اثر ساخت DNA در جنین در مدت پرایمینگ و در غیاب سلول‌های تقسیم‌شونده و به دنبال آن افزایش سرعت سنتز DNA در بافت جنین باشد. افزایش در سرعت سنتز پروتئین و DNA در بذرهای پرایم‌شده تنها بعد از ۶ تا ۱۲ ساعت پس از اعمال پرایمینگ گزارش شده است (برای و همکاران، ۱۹۸۹). برخی از تحقیق‌های قبلی حاکی از تأثیر مثبت اسموپرایمینگ بر جوانه‌زنی بذور گیاهان زراعی از مسیرهای مختلفی نظیر افزایش فعالیت آنزیم‌های پاکسازی کننده گونه‌های فعال اکسیژن و فعالسازی ATP ase، اسید فسفاتاز و RNA سینتتاز می‌باشد (جی و همکاران، ۲۰۰۲). سنارانتا و همکاران (۲۰۰۰) بیان کرد که اسید سالیسیلیک یک مولکول پیام‌رسان مهم برای میانجیگری پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش‌های محیطی است. همچنین می‌تواند عکس‌العمل گیاه به محدوده وسیعی از تنش‌های اکسیداتیو را تعدیل کند (شیراسو و همکاران، ۱۹۹۷). نقش اسید سالیسیلیک آماده کردن گیاه برای مقابله با آلودگی‌های عوامل بیمایزای ویروسی است و اغلب مقاومت اکتسابی سیستمیک را در گیاه تحریک می‌کند که در سلول‌ها سنتز می‌شود و آزادانه به داخل و خارج سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های گیاهی حرکت می‌کند و این حرکت در نهایت توسط ROS و Ca^{2+} سازمان‌دهی می‌شود و بعنوان یک تنظیم‌کننده قابلیت حیات کلروپلاست‌ها و فعالیت فتوسنتزی، عمل می‌کند (چن و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین محققان گزارش کردند که پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک منجر به تجمع آبسزیک اسید می‌شود که می‌تواند پیش‌سازگاری گیاهچه‌های تحت تنش شوری را تحریک کند. در نتیجه آبسزیک اسید، سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های ضد تنش را القا کرده و باعث ایجاد مقاومت در گیاهان می‌شود. بعلاوه، این طرز عمل سطح انواع اکسیژن‌های فعال را پائین می‌آورد، از این رو فعالیت SOD و POX در ریشه‌های جوان گندم کاهش می‌یابد (شاکیرووا و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین این مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، مستقیم یا غیرمستقیم توسط اسید سالیسیلیک سازماندهی شده و بدین وسیله محافظت علیه تنش شوری ایجاد می‌شود.

پرولین: اسیدسالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار با مقدار ۰/۷۱ میکرومول بر گرم بیشترین میزان پرولین را در شرایط بدون تنش خشکی نشان داد که نسبت به شاهد و تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت. در پتانسیل اسمزی ۳- بار هم اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار بیشترین پرولین را در بافت‌های گیاهان

Archive of SID

www.SID.ir

بوجود آورد که نسبت به شاهد ۰/۱۹ میکرومول برگرم، اختلاف معنی‌دار دارد. بالاترین میزان پرولین به مقدار ۱/۰۸ میکرومول بر گرم متعلق به تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار است که با همه تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۵).

در شرایط بدون تنش شوری، هیدروپرایمینگ باعث شد پرولین بیشتری در بافت‌های گیاهی تولید شود که در مقایسه با شاهد و تیمارهای دیگر از اختلاف معنی‌داری برخوردار است. هیدروپرایمینگ در تنش ۷۵ میلی‌مولار شوری نیز بالاترین میزان پرولین را نشان داد که نسبت به شاهد از اختلاف معنی‌دار ۰/۴۳ میکرومول بر گرم برخوردار است. در سطح ۱۲۵ و ۱۷۵ میلی‌مولار هم در هیدروپرایمینگ بیشترین مقدار پرولین مشاهده شد که با شاهد و تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری دارند (جدول ۶).

زمانی که گیاه تحت تنش قرا می‌گیرد، مقدار پرولین که یکی از اسمولیت‌های سازگار در گیاهان تحت تنش است، افزایش می‌یابد. همچنین با توجه به این نتایج، میزان پرولین در گیاهچه‌های پرایم‌شده تحت تنش شوری و خشکی، نسبت به گیاهچه‌های بوجود آمده از بذرهای پرایم‌نشده، افزایش معنی‌داری را نشان داد. در دوره‌هایی که غلظت پرولین معنی‌دار است، به عنوان یک محافظت‌کننده آنزیم‌های سیتوزول و ساختار غشا محسوب می‌شود. پرولین می‌تواند در برگ‌ها بارگیری شود و به بافت‌های مریستمی جهت شرکت در تنظیم اسمزی انتقال یابند. افزایش پرولین ناشی از افزایش مقدار کلریدسدیم را می‌توان چنین توجیه کرد که آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش کلرید سدیم، فعال شده و سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا کلرید سدیم موجب تحریک ژن‌های سنتزکننده این آنزیم‌ها می‌شود. نتایج اشرفی و رزمجو (۲۰۱۰) نشان داد که محتوای پرولین در قسمت‌های رویشی گلرنگ در بذور هیدروپرایم‌شده تحت شرایط تنش و غیرتنش، افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین در بذور هیدروپرایم‌شده ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ مشاهده شد. بنابراین افزایش تجمع پرولین در گیاهان تیمارشده باعث رشد بهتر این گیاهان می‌شود. احتمالاً تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در طی چرخه نمو گیاه باعث این تغییرات می‌شوند (کوار و همکاران، ۲۰۰۰)، که این تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی و فعالیت‌های متابولیکی باعث افزایش مقدار پرولین، کاروتنوئید و محتوای کلروفیل در گیاهان هیدروپرایم‌شده می‌گردد (اشرفی و رزمجو، ۲۰۱۰). علاوه بر این گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد که پرولین می‌تواند نقش یک تثبیت‌کننده آنزیم را ایفا کند (باتاچرجی و موخرجی، ۲۰۰۲؛ ماگیو و همکاران، ۲۰۰۲) و پراکسیداسیون لیپید را در تنش‌های

Archive of SID

www.SID.ir

محیطی کاهش دهد (جین و همکاران، ۲۰۰۱).

پراکسیداسیون غشایی یا مالون‌دی‌آلدئید (MDA): بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید در سطوح بالای تنش خشکی و شرایط بدون پرایم مشاهده شد که نشان دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در سطوح بالای تنش بوده است. اما کاربرد پرایمینگ منجر به افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و پرولین و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول گردید. کمترین مالون‌دی‌آلدئید غشایی در شرایط بدون تنش خشکی را تیمار هیدروپرایمینگ دارد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. در پتانسیل اسمزی ۳- بار، کمترین غلظت متعلق به تیمار نیترات پتاسیم سه درصد است که با هیچکدام از تیمارهای پرایم در یک گروه آماری قرار نمی‌گیرد و با شاهد اختلاف معنی‌داری دارد. در تنش اسمزی ۶- بار، کمترین مقدارها در تیمارهای نیترات پتاسیم یک درصد، اسید سالیسیلیک ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌مولار با میزان ۰/۱ میکرومول در گرم دیده شد (جدول ۵).

در شرایط بدون تنش شوری، شاهد بالاترین مقدار مالون دی‌آلدئید را نسبت به تیمارهای پرایم‌شده دارد و کمترین آن متعلق به تیمارهای هیدروپرایمینگ، اسید سالیسیلیک ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌مولار و نیترات پتاسیم ۳ درصد است. در شوری ۷۵ و ۱۲۵ میلی‌مولار هم، کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید را نیترات پتاسیم سه درصد نشان داد که با شاهد اختلاف معنی‌داری را ایجاد کرده است (جدول ۶).

با افزایش شوری، میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت و با کاربرد پرایمینگ این میزان کاهش معنی‌داری پیدا کرد. پایداری غشای سلولی شاخص تحمل به شوری می‌باشد (شاهی و همکاران، ۲۰۰۹)، همچنین میزان مالون دی‌آلدئید و تخریب غشای سلولی در شرایط تنش به دلیل تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) بالا می‌رود (مونس و جیمز، ۲۰۰۳). فاروق و اعظم (۲۰۰۶) و مونس و جیمز (۲۰۰۳) بیان کردند که تشخیص پایداری غشای سلولی، یک روش مناسب برای غربال کردن گیاهان تحت تنش شوری می‌باشد. باندگلو و همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که تنش شوری تولید MDA و تخریب غشای سلولی را در برگ‌های برنج افزایش می‌دهد. کاهش در تخریب یا پراکسیداسیون غشای سلولی و تولید MDA با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بهبود می‌یابد که با استفاده از روش پرایمینگ می‌توان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ویژه کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد و از تخریب غشایی سلول‌ها جلوگیری کرد. تحت تنش شوری مقدار مالون‌دی‌آلدئید حاصل از تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌ها بالا رفت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت نمک محتوای مالون‌دی آلدهید افزایش معنی‌داری یافت. پرایمینگ بذر گندم با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار، سبب کاهش محتوای

Archive of SID

www.SID.ir

مالون‌دی‌آلدئید در بذرهای تنش‌دیده شد (دولت آبادیان و همکاران، ۲۰۰۹). افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید و کاهش آن در اثر مصرف اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری در عدسک آبی نیز مشاهد شده است (پاندا و یوپدهایای، ۲۰۰۴). تیمار نمک و تنش شوری سبب کاهش یکپارچگی غشای سلولی و آزادشدن الکترولیت‌ها و مواد درون سلول می‌شود. این نتایج با یافته‌های بور و همکاران (۲۰۰۳) که نشان دادند تنش شوری سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی برگ‌های چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) می‌شود، مطابقت دارد. افزایش مالون‌دی‌آلدئید در بذرهایی که تحت پیش‌تیمار قرار نگرفتند، بیشتر و با بالارفتن غلظت نمک، مالون‌دی‌آلدئید زیادتر شد. کاهش آسیب غشای سلولی در پاسخ به تیمار اسید سالیسیلیک که با افزایش وزن خشک گیاهچه‌های تنش دیده، همراه است، می‌تواند نمایانگر مسئله القای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به‌وسیله اسید سالیسیلیک با از بین بردن رادیکال‌های آزاد بطور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باشد که خسارت ناشی از این گونه‌های فعال را کاهش می‌دهد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشا کاهش یابد. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک با پاکسازی رادیکال‌های آزاد، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالون‌دی‌آلدئید می‌شود (نکتور و فویر، ۱۹۹۸).

نتیجه‌گیری

طبق نتایج در سطوح مختلف از تنش شوری و خشکی در صفات مختلف، پرایمینگ‌های مختلفی تأثیر مثبت داشتند. در تنش خشکی ۳- بار، اسیدسالیسیلیک ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌مولار و در تنش اسمزی ۶- بار، هیدروپرایمینگ با دارا بودن بیشترین مقدار پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و مقدار مالون دی‌آلدئید کمتر، بهترین نتایج را داشتند و در تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار، هیدروپرایمینگ، در ۱۲۵ میلی‌مولار، اسیدسالیسیلیک ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌مولار و در ۱۷۵ میلی‌مولار، اسیدسالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار، پروتئین محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را بیشتر افزایش دادند. در کلیه سطوح تنش خشکی و شوری، بذرهای پرایم‌شده نسبت به شاهد پروتئین محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه را بهبود بخشیدند. کاهش رشد گیاهچه‌های شاهد در پاسخ به تنش شوری و خشکی به دلیل اثرات اسمزی کمبود آب، اثرات سمی یون‌ها و عدم جذب متوازن مواد غذایی لازم، جنبه‌های متابولیسمی گیاه را تحت تأثیر قرار داد و همچنین باعث کاهش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی شد. در این تحقیق، گیاهان تیمارشده با اسید سالیسیلیک و نیترات پتاسیم و آب مقطر، بطور معمول

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (از قبیل کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز) و پروتئین محلول بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده نشان دادند. شوری زیاد اختلال متابولیکی شدیدی از جمله تنش اکسیداتیو را در گیاهان ایجاد می‌کند، و در نتیجه باعث خسارت به DNA، غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. پیش‌تیمار کردن بذر با اسید سالیسیلیک می‌تواند با تحریک آنزیم‌های گیاهچه‌های و سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های ضدتنش، اثرات سمی که در گیاهان در اثر شوری زیاد ایجاد می‌شود را کاهش و سطح انواع اکسیژن‌های فعال را پائین آورد. بنابراین می‌توان پرایمینگ که روش ساده‌ای می‌باشد را در مقادیر مناسب به کشاورزان پیشنهاد داد تا بتوانند گیاهچه‌هایی با توان رقابتی و مقاومت بالا را تولید کنند و سطح عملکرد را بالا ببرند.

منابع

1.Ashraf, M., and Ali, Q. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environ. Exp. Bot. 63: 266-273.

2.Ashrafi, A., and Razmjou, Kh. 2010. Evaluation of hydropriming effect on safflower physiological and biochemical characteristics under drought stress. J. Crop Ecophysiol. 1(1): 34-44.

3.Bandeoglu E, Eyidogan, F. Yucel, M., and Oktem. H.A. 2004. Antioxidant response of shoots and roots of lentil to NaCl Salinity stress. Plant Growth Regul. 42: 69-77.

4.Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A.K. 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. Seed Sci. Techno. 30: 279-287.

5.Bohnert, H.J., and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends Biotech. 14: 89-97.

6.Bor, M.O., Zdemir, F. and Turkan, I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beet (*B. maritima* L.). Plant Sci. 164: 77–84.

7.Bradford, M. 1976. Arapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annu. Rev. Biochem. 72: 248-254.

8.Bray, C.M., Davision, P.A., Ashraf, M., and Taylor, R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seed. Annal. Botany. 63: 185-193.

9.Breusegem, F.V., Vranova, E., Dat, J.F., and Inze, D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Sci. 161: 405-414.

Archive of SID

www.SID.ir

10.Cacmak, I., and Horst, W. 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip soybean. Plant Physiol. 83: 463- 468.
11.Chen, H.J., Kuc, W.C., and Lin, Y.H. 2001. Ca^{2+} dependent and Ca^{2+} independent excretion modes of salicylic acid in tobacco cell suspension culture. J. Exp. Botany. 52: 1219-1226.
12.Davazdah-Emami, S., and Majnon Hosseini, N. 2009. Agriculture and the production of some medicinal plants and spices. Institute of Tehran University Publications and Printing. P 300. (In Persian)
13.Demir Kaya, M., Games, O., Atak, M., Cikili, Y., and Kolsarici, O. 2006. Seed treatment to overcome salt and drough stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European J. Agronomy. 24: 291-295.
14.De Vos, C. Schat, H. De Waal, M. Vooijs, R., and Ernst, W. 1991. Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *Silene cucubalus*. Plant Physiol. 82:523-528.
15.Doulatabadian, A., Modarres Sanavy, A.M., and Etemadi, F. 2008. Effect of pretreatment of salicylic acid on wheat *(Triticum aestivum* L.) seed germination under salt stress. Iranian J. Bio. 4: 692-702. (In Persian).
16.El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul. 45: 215-225.
17. Farhoudi, R., Sharifzadeh, F., Poustini, K., Makkizadeh, M.T., and Kochakpor, M. 2007. The effects of NaCl priming on salt tolerance in canola (*Brassica napus*) seedlings grown under saline conditions. Seed Sci. Tech. 35: 754-759.
18.Farhoudi. R., Saeedipour, S. and mohammadreza, D. 2011. The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, and proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. African J. Agric. Res. 6: 1363-1370.
19.Farooq, S. and Azam, F. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerance wheat varieties. J. Plant Physiol. 163: 629-637.
20.Ghanati, F., Morita, A., and Yokota, H., 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by exess boron in tobacco cell. Soil Sci. Plant Nutri. 48: 357-364.
21.Ghorbani Javid, M., Moradi, F., Akbari, Gh., and Allahdadi, A. 2007. Some metabolite role in osmotic regulation mechanism of medic *Medicago laciniata* (L.) Mill under drought stress. Iranian J. Crop Sci. 8 : 90-105. (In Persian)
22.Hayashi, H., and Murata, N., 1998. Genetically engineered enhancement of salt tolerance in higher plants. Molecular Mechanisms and Molecular Regulation. Elsevier Amesterdam, pp. 133-148.

Archive of SID
www.SID.ir

23.Hisao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. Annu. Rev. Plant Physiol. 24: 519-570.
24.Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1950. The water- culture for growing plants without soil. Calif Agriculture Expremental Statate Circ. 347: 32.
25.Jain, M., Mathur, A., Koul, S. and Sarin, N.B. 2001. Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Plant Cell Rep. 20: 463-468.
26.Jie, L., Gong She, L., Dong Mei, O., Fang Fang, L., and En Hua, W. 2002. Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wildrye (Leymu.7 chinensis) seeds. Acta Pratacul Sinica. 11, 59-64.
27.Kaur, S. A., Gupte, K. and Kaur, N. 2000. Seed priming increases crop yield possibly by Modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. J. Agron. Crop Sci. 191: 81-87.
28.Kiani, S.P., Maury, P., Sarrafi, A., and Grieu, P. 2008. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under wel-watered and water-stressed conditions. Plant Sci. 175: 565-573.
29.Li, L., Van Staden, J., and Jager, A.K. 1998. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedling of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Reg. 25: 81-87.
30.Liang, Y.C. 1999. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. Plant Soil. 209: 217-224.
31.Maggio, A., Dalton, F. and Piccinni, G. 2002. The effect of elevated carbon dioxide on static and dynamic induced for tomato salt tolerance. Eur. J. Agron. 16: 197-206.
32.Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405-410.
33.Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F., and Aynehband, A. 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. J. Food Agr. Environ. 7: 353-358.
34.Munns, R. and James, R.A. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil, 253: 201-218.
35.Munns, R., and Termatt, A. 1986. Whole plant responses to salinity. J. Plant physiol. 13:143-160.
36.Noctor, B. and Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annu Rev Plant Physiol. 49: 249-279.
37.Panda, S.K., Upadhyay, R.K. 2004. Salt stress induces oxidative alterations and antioxidative defense in the roots of Lemna minor. Biology Plant. 48: 249-253.
38.Paquine, R. and Lechasseur, P. 1979. Observations sur une methode dosage la libre dans les de plantes. Canadian J. Bot. 57: 1851-1854.

Archive of SID
www.SID.ir

39. Riaz, M., and Chaudhary, M. 1996. Chemistry of the Medicinal Plants of the Genus Nigelle. Hamdarad Medicus. 39: 40-45.
40. RodriguezRosales, M.P., Kerkeb, L., Bueno, P., and Donaire, J.P. 1999. Changes induced by NaCl in lipid content and composition, lipoxygenase, plasma memberane H^+ ATPase and antioxidant enzyme activities of tomato (*Lycopersicon esculantum*, Mill) calli. Plant Sci. 143: 143-150.
41. Schloss, P., Walter, C., and Mader, M. 1987. Basic peroxidases in isolated vacuoles of *Nicotiana tabacum* L. Planta. 170: 225-229.
42. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul. 30: 157-161.
43. Shahi, A., Farhoudi, R. and Moosavi, M. 2009. Effect of seed pretreatment on summer squash (*Cucurbita pepo*) seed germination and seedling characteristics under salinity condition. Seed Sci. Biotech. 3: 5-11.
44. Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A., Fatkhutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164: 317-322.
45. Shao, H.B., Chu, L.Y., Shao, M.A., Abdul, C., and Hong-Mei, M. 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. Comp. Rend. Biology. 331: 433-441.
46. Shirasu, K., Nakajima, A., Rajshekar, K., Dixon, R.A., and Lamb, C. 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanism. Plant cell. 9: 261-270.
47. Soltani, A., 2007. Review in application of statistical method in agriculture researches. Mashhad Jahade-e-Daneshgahi Publication. P 73. (In Persian)
48. Yamazaki, J., Ohashi, A., Hashimoto, Y., Negishi, E., Kumagai, S., Kubo, T., Oikawa, T., Maruta, E., and Kamimura, Y. 2003. Effects of high light and low temperature during harsh winter on needle photodamage of *Adies mariesii* growing at the forest limit on Mt. Norikura in Central Japan. Plant Sci. 165: 257-264.

Archive of SID

www.SID.ir

EJCP., Vol. 5 (4): 63-85
http://ejcp.gau.ac.ir

Effect of seed priming on antioxidant enzymes and lipids peroxidation of cell membrane in Black cumin (*Nigella sativa*) seedling under salinity and drought stress

S. Ahmadpour Dehkordi[1] and *H.R. Balouchi[2]
[1]M.Sc. Student of Agronomy, Agronomy and Plant Breeding Department, Yasouj University, [2]Assistant Prof. of Agronomy and Plant Breeding Department, Yasouj University
Received: 2012-02-26 ; Accepted: 2012-07-25

Abstract

This study was aimed to assess of priming effects on soluble proteins and antioxidant enzymes of as a *Nigella Sativa* medicinal plant under different levels of salinity and drought. Two greenhouse factorial experiments with three replicated Randomized Complete Block Design were conducted. Treatments included five levels of priming (potassium nitrate 1% and salicylic acid 0.2 mM in 6 hours, potassium nitrate 3% and salicylic acid 0.5 mM in 12 hours and hydropriming in 24 hours) as main factor and four salinity levels (Control, 75, 125 and 175 mM NaCl) and three levels of drought by osmotic potential of Control, -3 bar and -6 bar by polyethylene $glycol_{6000}$ as the second factor in each experiment. Results showed that the interaction of salinity and drought stress on seed priming were significant for all traits. Soluble protein concentration decreased along with increasing drought and salinity stress and antioxidant enzymes activity, (which proline plays a protective effect against stress), and MDA were increased. But, using priming, the antioxidant enzymes activity and proline content were increased while MDA was decreased. In this study, plants treated with integrated salicylic acid, potassium nitrate and distilled water had usually higher antioxidant activity (catalase, peroxidase and polyphenol oxidase) and soluble proteins in comparison with untreated seedlings.

***Keywords*:** Catalase; Peroxides; Polyphenol oxidase; Seed priming, Soluble protein

*Corresponding Author; Email: balouchi@yu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir