



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۵ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۲

صفحه‌های ۲۷-۳۸

ارزیابی برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ارقام گندم در پاسخ به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

عزت‌اله اسفندیاری^{۱*}، عادل جوادی^۲، مجید شکرپور^۳

۱. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۳. استادیار گروه باغبانی و فضای سبز، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۷/۱۵

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۱/۲/۲۴

چکیده

برای ارزیابی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ارقام گندم در پاسخ به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای و در شرایط کنترل‌شده، شش رقم گندم در قالب اسپلیت پلات بر پایه طرح کاملاً تصادفی در اتاقک رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه کشت شد. پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله سه تا چهار برگ، تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار با اضافه کردن کلرید سدیم به محلول غذایی به مدت ۱۴ روز اجرا شد. سپس، فعالیت تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، شاخص‌های تنش اکسیداتیو و برخی از صفات فیزیولوژیک از جمله وزن خشک کل بوته، شاخص پایداری غشا، فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن و میزان سدیم و پتاسیم موجود در بافت‌های مختلف گیاهچه‌ها ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که میزان پراکسیداسیون لیپیدی در تمامی ارقام به جز آگوستا به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. شوری سبب کاهش شاخص پایداری غشا در ارقام کوهدشت، پیشتاز و MV17 شد، اما میزان این شاخص در بقیه ارقام بر اثر شوری تغییر معنی‌داری نداشت. در ارقام کوهدشت، پیشتاز و MV17 فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد؛ اما در رقم ایزنگران بر اثر شوری فعالیت آسکوربات پراکسیداز افزایش و فعالیت کاتالاز کاهش یافت. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز فقط در رقم آگوستا بر اثر شوری افت کرد. فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس - ترانسفراز فقط در رقم گاسکوژن افزایش و در ارقام کوهدشت و پیشتاز کاهش معنی‌داری داشت. همچنین، نتایج نشان داد که به‌رغم افزایش جذب سدیم توسط ریشه تمامی ارقام، تنها ارقام آگوستا و ایزنگران توانایی کنترل انتقال سدیم به طوقه و برگ را دارند. در بین ارقام مورد مطالعه شوریفقط وزن خشک کل تک بوته رقم کوهدشت را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. بنابراین، می‌توان اظهار داشت که هرچند سدیم عنصری سمی برای متابولیسم سلول به‌ویژه سلول‌های برگ است، در صورتی که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ افزایش یابد و سلول برگ بتواند ذخیره‌سازی سدیم در نواحی به‌جز سیتوسول را انجام دهد، حتی اگر رقم گندم مورد مطالعه نتواند از انتقال سدیم به برگ‌ها ممانعت کند، می‌تواند از سمیت این عنصر بکاهد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سدیم، شاخص‌های تنش اکسیداتیو، گندم و وزن خشک.

۱. مقدمه

محدودیت‌های محیطی از جمله شوری از مهم‌ترین عوامل کاهنده رشد و نمو و عملکرد به‌شمار می‌آیند. شوری عامل محدودیت در ۹۳۰ میلیون هکتار از اراضی دنیا محسوب می‌شود که هر ساله نیز این میزان در حال افزایش است [۱۹]. در ایران نیز طبق گزارش کافی ۵۰ درصد اراضی کشاورزی فاریاب تحت تأثیر انواع اثرات شوری قرار دارند [۴]. همچنین، بر اساس این گزارش ایران بعد از چین، هند و پاکستان بیشترین اراضی شور را در سطح جهانی داراست.

شوری خاک عمدتاً حاصل بالابودن میزان عناصر سدیم و کلر در خاک است. وجود مقادیر بالای این عناصر در خاک سبب بروز اختلال‌های یونی و تنش اسمزی در گیاه می‌شود که نتیجه آن کاهش رشد و وقوع ناهنجاری‌های متابولیسمی از طریق افزایش تولید انواع اکسیژن فعال است. انواع اکسیژن فعال برای سلول‌های گیاهی مضر هستند و نقاط کلیدی آن را نظیر غشاهای بیولوژیک، DNA و پروتئین‌ها، هدف قرار می‌دهند و تجزیه می‌کنند [۱۴، ۱۵]. حاصل این آسیب‌ها وقوع تنش اکسیداتیو و در نهایت، مرگ سلول است. گیاهان برای مقابله با تأثیرات تخریبی و مضر انواع اکسیژن فعال و یا ممانعت از تولید آن‌ها به‌ساز و کارهای دفاعی نظیر چرخه مهلر، چرخه گزانتوفیل، چرخه گلوکاتایون - آسکوربات، تنفس نوری، آلترناتیو اکسیداز و برخی دیگر مجهز شده‌اند [۱۲]. چرخه‌های ذکر شده از همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز و آنتی‌اکسیدان‌ها مانند آسکوربات، گلوکاتایون و کاروتنوئید تشکیل شده است [۱۱، ۲۱].

سدیم و کلر در مقادیر بالا عناصری سمی برای سلول‌های گیاهی به‌شمار می‌آیند؛ اما سمیت آن‌ها زمانی بیشتر می‌شود که این عناصر به سلول‌های برگ برسند. به

همین دلیل بعضی از محققان ارقامی را که در شرایط شوری سدیم و کلر کمتری در برگ‌ها انباشت کرده‌اند مقاوم به شوری قلمداد کرده‌اند [۱۰]. آن‌ها معتقدند برخی ارقام گندم از ساز و کارهای ویژه‌ای برای کنترل میزان سدیم در برگ‌ها استفاده می‌کنند که می‌توان به ترشح مجدد سدیم جذب‌شده به بیرون از سلول‌های ریشه، کنترل و ممانعت از ورود سدیم به آوندهای چوبی، کنترل تعرق و در نهایت، تجمع سدیم در سلول‌های غلاف برگ اشاره کرد [۱۰]. مجموعه این عوامل سبب تنزل میزان سدیم انتقال‌یافته به سلول برگ می‌شود. در حالی که، بعضی از محققان میزان سدیم موجود در برگ را معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل به شوری ندانسته‌اند؛ آن‌ها معتقدند که گیاهان می‌توانند با جداکردن سدیم در نواحی به‌جز سیتوسول نظیر واکوئل و آپوپلاست سمیت این عنصر را کاهش دهند [۱، ۲، ۴].

تمامی موارد فوق نشان می‌دهند که مکانیسم تحمل شوری پیچیده است و همین عامل سبب دشوارشدن اصلاح گیاهان متحمل به شوری می‌شود. از طرفی شوری در بخش چشمگیری از اراضی زراعی گسترش یافته است که می‌تواند امنیت غذایی بشر را با مشکل مواجه کند. لذا، درک الگوی رفتاری ارقام مختلف گندم به تنش شوری و شناخت مطلوب از پاسخ آن‌ها به این تنش محیطی در مرحله گیاهچه‌ای و شرایط آزمایشگاهی با هدف گزینش اولیه مواد ژنتیکی برای غلبه بر محدودیت ذکر شده ضروری به نظر می‌آید. به همین دلیل آزمایش حاضر با استفاده از شش رقم گندم نان طراحی و پاسخ آن‌ها به شوری در مرحله سه تا چهار برگگی با ارزیابی برخی از صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد.

۲. مواد و روش‌ها

برای بررسی اثرات تنش شوری بر ارقام مختلف گندم در شرایط کنترل شده و در مرحله گیاهچه‌ای، بذر یکنواخت ارقام کوهدشت، گاسکوژن، آگوستا، پشتاز، ایزنگران و MV17 انتخاب و پس از ضدعفونی، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی روی کاغذ صافی جوانه‌دار شدند. گیاهچه‌های حاصل به روش هواکشت^۱ در قالب طرح کرت‌های خردشده بر پایه طرح کاملاً تصادفی در اتاقک رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۸۹ در شرایط محیطی ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس پرورش یافتند [۱۵].

تغذیه گیاهچه‌های حاصل با در نظر گرفتن میزان ذخایر بذر و مصرف آن‌ها صورت گرفت. به طوری که از زمان جوانه‌زنی تا ۷ روز پس از آن، تنها آب روی ریشه گیاهچه‌ها اسپری شد. سپس، برای پیشگیری از بروز کمبود عناصر غذایی و نیز کمک به رشد سریع‌تر گیاهچه‌ها، محلول غذایی ۵۰ درصد و کامل به ترتیب بعد از گذشت ۷ و ۱۴ روز از جوانه‌زنی برای تغذیه گیاهچه‌های گندم استفاده شد. ترکیب عناصر غذایی مورد استفاده در طول دوره رشد شامل عناصر پر مصرف $(\text{KH}_2\text{PO}_4, \text{MgSO}_4, \text{KNO}_3, \text{Ca}(\text{NO}_3)_2)$ به ترتیب در مقادیر ۲/۵، ۳، ۱/۵ و ۰/۱۷ میلی‌مولار) و کم‌مصرف $(\text{H}_2\text{MoO}_4, \text{CuSO}_4, \text{ZnSO}_4, \text{MnSO}_4, \text{H}_3\text{BO}_3, \text{FeSO}_4)$ به ترتیب در مقادیر ۵۰، ۲۳، ۰/۴، ۰/۲ و ۰/۱ میکرومولار) بود [۱۵]. شایان ذکر است که در طول دوره رشد گیاهچه‌ها آب و محلول غذایی به طور خودکار در هر ۱۵ دقیقه پنج ثانیه روی ریشه‌ها مه‌پاشی می‌شد و ریشه‌ها در محیط کاملاً اشباع از رطوبت در هوا معلق بودند. بعد از رسیدن گیاهچه‌های گندم به مرحله ۴-۵ برگگی،

با اضافه کردن تدریجی کلرید سدیم به محلول غذایی تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار اجرا شد. همچنین، از محلول غذایی به عنوان شاهد استفاده شد. گیاهچه‌ها به مدت ۱۴ روز در این شرایط نگهداری و سپس، از برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه یافته (برگ سوم بوته‌های ارقام مورد مطالعه) برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک نمونه برگگی تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیک مورد نظر در دمای ۲۰°C - نگهداری شدند.

برای ارزیابی اثر تنش شوری روی رشد و نمو گیاه و تولید ماده خشک تک بوته، در زمان‌های ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز بعد از اعمال تیمار شوری، گیاهچه‌های گندم به طور کامل برداشت شدند و پس از خشک شدن، در دمای ۷۵°C به مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک کل تک بوته اندازه‌گیری شد.

۱.۲. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی

برای استخراج آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز، ۰/۵ گرم از نمونه برگگی با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع هموژن شد و سپس، به آن ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH=7.5) محتوی EDTA ۰/۵ میلی‌مولار اضافه شد. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش در $15000 \times g$ و دمای ۴°C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای پیشگیری از اثرهای مضر انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها سوپرناتانت حاصل، به دو قسمت تقسیم و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های فوق در دمای ۲۰°C - نگهداری شد [۱۵].

استخراج آنزیم اسکوربات پراکسیداز نیز به روش فوق انجام و فقط به بافر استخراج آنزیم، پلی وینیل پیرولیدین (۰/۵٪ وزنی - حجمی) و اسکوربات ۲ میلی‌مولار اضافه شد [۱۵].

1. Aeroponic

دیونیزه اندازه‌گیری شد. همچنین، نمونه‌هایی به وزن ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه و تر تهیه و در لوله‌های آزمایش محتوی ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه غوطه‌ور شد. سپس، یک‌سری از نمونه‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و سری دیگر در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. هدایت الکتریکی نمونه‌ها بعد از رسیدن به دمای اتاق با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج اندازه‌گیری و ثبت شد. شاخص پایداری غشا براساس رابطه زیر محاسبه شد [۷]:

$$E = [1 - (C1/C2)] \times 100$$

در رابطه فوق C1 و C2 به ترتیب نشان‌دهنده میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها در دمای ۴۰ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است.

برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم موجود در بخش‌های مختلف گیاهچه نمونه‌های گیاهی برداشت‌شده به بخش‌های ریشه، طوقه و برگ (برگ سوم و کاملاً توسعه‌یافته) تقسیم و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌طور کامل خشک شد. سپس، هر بخش گیاه پودر شد و یک گرم از آن در دمای ۵۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت قرار گرفت و به خاکستر تبدیل شد. خاکسترهای حاصل در ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک یک نرمال حل شد. محلول حاصل در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد تا تبخیر کامل اسید نگهداری شد. بقایای حاصل در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل و با استفاده از کاغذ واتمن صاف شد. مقدار سدیم و پتاسیم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نشر شعله‌ای (مدل Jenway PFP7, UK) اندازه‌گیری شد. غلظت عناصر با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$E = [(C \times V \times D) / (M \times 10^6)] \times 100$$

در این رابطه E مقدار عنصر مورد نظر بر حسب درصد، C غلظت عنصر بر حسب میلی‌گرم بر لیتر، D درجه رقت، V حجم نهایی عصاره تهیه‌شده بر حسب میلی‌لیتر، M وزن خشک نمونه بر حسب گرم بود [۷].

فعالیت این آنزیم طبق روش ابی^۱ [۶] اندازه‌گیری شد. کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۰/۵ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی است که حجم نمونه‌ها با اضافه کردن آب مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر یادداشت و با ضریب خاموشی cm^{-1} $36/6 \text{ mmol}^{-1}$ میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد.

میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز نیز به ترتیب براساس روش سایرم^۲ و همکاران [۲۱] و پاندا^۳ و همکاران [۲۰] با استفاده از اسپکتوفتومتر (Spectrophotometer Unico UV/Visible 2100) سنجش شد. همچنین، کارماگول^۴ و همکاران [۹]، استخراج و سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز را طبق روش مورد اشاره انجام دادند. میزان پروتئین محلول کل با استفاده از روش بردفورد^۵ [۸] به دست آمد. از سرم آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد استفاده شد. میزان پراکسیداسیون لیپیدی و پراکسید هیدروژن به‌عنوان شاخص‌های ارزیابی میزان بروز تنش اکسیداتیو به ترتیب طبق روش استوارت و بولی^۶ [۲۵] و سرجیو^۷ و همکاران [۲۳] اندازه‌گیری شد.

۲.۲. اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا و میزان

سدیم و پتاسیم

شاخص پایداری غشا براساس میزان هدایت الکتریکی حاصل از نشت یون‌ها از سلول‌های برگ به درون آب

1. Aebi
2. Sairam
3. Panda.
4. Carmagnol
5. Bradford
6. Stewart and Bewley
7. Sergiv

۳.۲. تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه در یک طرح کرت‌های خردشده در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس شدند. سطوح تنش شوری به‌عنوان عامل اصلی و ارقام گندم به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. پیش از تجزیه واریانس، نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف و اسمیرنوف با نرم‌افزار SPSS بررسی شدند. مقایسه میانگین منابع تغییر معنی‌دار (ارقام) به روش LSD در سطح ۵ درصد انجام شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج نشان داد که در تمامی ارقام به‌جز آگوستا بر اثر تنش شوری میزان پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافته است؛ به‌نحوی که، دامنه افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بین ارقام به‌جز آگوستا بین ۱۴۹ تا ۴۱۳ درصد بوده است که به ترتیب در ارقام ایزنگران و پیشتاز مشاهده شد (جدول ۱). همچنین، میزان پراکسید هیدروژن بر اثر شوری فقط در ارقام آگوستا و ایزنگران افزایش معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پی اعمال تنش شوری در ارقام ایزنگران، کوهدشت، پیشتاز و MV17 کاهش یافت و به ترتیب به ۳۵، ۵۰، ۶۰ و ۴۰ درصد شاهد رسید. فعالیت این آنزیم در دو رقم آگوستا و گاسکوژن تغییر معنی‌داری نداشت (جدول ۱)؛ اما فعالیت آنزیم کاتالاز بر اثر شوری در ارقام ایزنگران، کوهدشت، پیشتاز و MV17 کاهش یافت و به ترتیب به ۲۹، ۷۳، ۵۹ و ۷۶ درصد شاهد رسید. در حالی که، شوری بر فعالیت ارقام آگوستا و گاسکوژن تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). شوری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را در ارقام آگوستا، ایزنگران، گاسکوژن و MV17 به ترتیب به مقدار

۱۴۰، ۱۴۴، ۱۳۱ و ۱۱۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. در صورتی که فعالیت این آنزیم در شرایط شوری در دو رقم دیگر، کوهدشت و پیشتاز، با تغییر معنی‌داری همراه نبود (جدول ۱).

فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس - ترانسفراز بر اثر شوری فقط در رقم گاسکوژن افزایش و در دو رقم پیشتاز و کوهدشت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در سایر ارقام ارزیابی‌شده فعالیت این آنزیم تغییر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

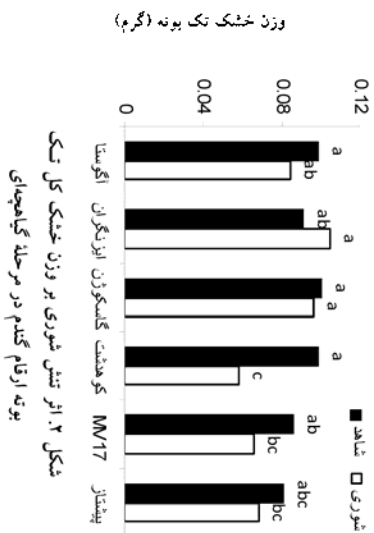
شوری سبب کاهش شاخص پایداری غشا در ارقام کوهدشت، پیشتاز و MV17 شد. در حالی که، میزان این شاخص در ارقام گاسکوژن، آگوستا و ایزنگران در هر دو شرایط محیطی ثابت بود و تغییر معنی‌داری نداشت (شکل ۱). وزن خشک تک بوته ارقام گندم پس از ۱۲ روز قرارگرفتن در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار اندازه‌گیری شد که طبق نتایج حاصل فقط در رقم کوهدشت این شاخص بر اثر شوری کاهش داشت (شکل ۲).

نتایج حاصل از سنجش میزان عناصر سدیم و پتاسیم در اندام‌های مختلف گیاهچه‌های گندم مورد مطالعه نشان داد که در تمامی ارقام، میزان سدیم انباشته‌شده در تمامی بخش‌های مختلف مورد اشاره گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. در حالی که، میزان پتاسیم اندام‌های مختلف مورد بررسی در ارقام گندم مطالعه‌شده بر اثر شوری نسبت به شاهد کاهش نشان داد. همچنین، نسبت پتاسیم به سدیم در تمامی ارقام گندم بر اثر شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۲).

با توجه به نقش کلیدی غشاها در تنظیم متابولیسم سلول و اندامک‌ها، بررسی آسیب به غشاهای بیولوژیک بر اثر تنش‌های محیطی مورد توجه خاص پژوهشگران قرار گرفته است. امروزه، بر همین اساس از شاخص پایداری غشا و میزان پراکسیداسیون لیپیدی به‌عنوان معیار ارزیابی

جدول ۱. اثرات تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در ارقام گندم نان

پراکسیداسیون لیپیدی (نانومول بر گرم وزن تر)	پراکسید هیدروژن (میلی‌مول بر گرم وزن تر)	گلوتاتیون S- ترانسفراز	گاناکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز
شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد
۷۱۷۷d	۸۵۴d	۰/۰۳۷def	۰/۰۴۳bcd	۱۳۱de	۱۲۰۳de
۱۴۵۳c	۹۷۱d	۰/۰۳۵ef	۰/۰۴۰cde	۱۷/۳۹cd	۲۱/۰۸bc
۱۵۹۰ac	۹۸۴d	۰/۰۳۷def	۰/۰۴۷bc	۲۲/۱۹bc	۹/۱۸e
۳۰۳۱a	۷۹۴d	۰/۰۰۸Ea	۰/۰۰۵b	۱۷/۳۳de	۳۰/۳۴a
۲۸۴۴a	۸۶۲d	۰/۰۴۲bcd	۰/۰۳۱f	۷/۵۲e	۱۰/۶۴e
۷۴۳۰fb	۵۸۵d	۰/۰۴۵bc	۰/۰۳۷def	۱۳/۱de	۲۴/۴۱b
آگزینا	ایزنگران	گانسکوزن	کوهسنت	MM17	پیشتر



ارزیابی برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ارقام گندم در پاسخ به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

جدول ۲. تغییرات میزان سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه، طوقه و برگ ارقام گندم نان

سدیم						
برگ		طوقه		ریشه		
شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد	
۰/۳۹e	۰/۰۷۲hi	۰/۴۳d	۰/۰۷۶e	۰/۶۵b	۰/۳۴g	آگوستا
۰/۳۴f	۰/۰۷۴hi	۰/۴۳d	۰/۰۷۲e	۰/۴۸f	۰/۳۲h	ایزنگران
۰/۵۷d	۰/۰۷۳hi	۰/۵۵c	۰/۰۷۹e	۰/۵۷d	۰/۳۲h	گاسکوژن
۰/۷۰c	۰/۰۶i	۰/۷۳a	۰/۰۶e	۰/۵۹c	۰/۳۱h	کوهدشت
۰/۷۷a	۰/۰۸۶gh	۰/۵۸c	۰/۰۸۳e	۰/۵۴e	۰/۲۵j	MV17
۰/۷۵b	۰/۱۰۱g	۰/۶۸b	۰/۰۶۵e	۰/۶۷a	۰/۲۷i	پیشناز
پتاسیم						
برگ		طوقه		ریشه		
شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد	
۰/۲۴h	۰/۳۱c	۰/۳۲cd	۰/۵۲a	۰/۰۶۳f	۰/۱۵b	آگوستا
۰/۱۷i	۰/۲۹d	۰/۳۰cde	۰/۴۴b	۰/۰۳۲k	۰/۰۷e	ایزنگران
۰/۲۸e	۰/۳۶a	۰/۳۳c	۰/۵۴a	۰/۰۵۲h	۰/۱۹a	گاسکوژن
۰/۲۵g	۰/۲۹d	۰/۲۵de	۰/۵۷a	۰/۰۵-hi	۰/۱۰c	کوهدشت
۰/۲۶g	۰/۳۴b	۰/۲۴e	۰/۵۸a	۰/۰۳۸j	۰/۰۴۷i	MV17
۰/۲۷f	۰/۳۱c	۰/۲۴e	۰/۵۵a	۰/۰۵۵g	۰/۰۸۸d	پیشناز
نسبت پتاسیم به سدیم						
برگ		طوقه		ریشه		
شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد	
۰/۶۰g	۴/۳۸e	۰/۷۶e	۷/۰۳c	۰/۰۹۸f	۰/۴۴b	آگوستا
۰/۵۱fg	۴/۰۴d	۰/۷۰e	۶/۰۷d	۰/۰۷i	۰/۲۲d	ایزنگران
۰/۴۹g	۵/۰۴c	۰/۵۹e	۶/۸۷cd	۰/۰۹fg	۰/۵۹a	گاسکوژن
۰/۳۶g	۴/۸۸b	۰/۳۵e	۹/۵۳a	۰/۰۹fg	۰/۳۳c	کوهدشت
۰/۳۴fg	۴/۰۲a	۰/۴۲e	۷/۰۸c	۰/۰۷hi	۰/۱۹e	MV17
۰/۳۶f	۳/۰۸b	۰/۴۵e	۸/۵۳b	۰/۰۸gh	۰/۳۲c	پیشناز

همچنین، افزایش این شاخص بر اثر تنش حاکی از افزایش تولید انواع اکسیژن فعال و وقوع تنش اکسیداتیو در گیاه است [۱۲]. در این پژوهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در

آسیب به غشاهای بیولوژیک استفاده می‌شود. میزان پراکسیداسیون لیپیدی نشان‌دهنده شدت آسیب به غشاهای بیولوژیک بر اثر تنش‌های محیطی است [۱۴، ۱۵].

تمامی ارقام گندم به‌جز آگوستا به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (جدول ۱). اگرچه بیشترین میزان آسیب به غشاها در ارقام کوهدشت، MV17 و پیشتاز مشاهده شد (جدول ۱). افزایش پراکسیداسیون لیپیدی بر اثر شوری در گیاهانی مانند گندم [۱۴، ۱۵] و نخود [۱۶] گزارش شده است. همچنین، با توجه به ارتباط عکس بین میزان پراکسیداسیون لیپیدی و شاخص پایداری غشا، انتظار می‌رود در ارقامی که میزان پراکسیداسیون لیپیدی افزایش یافته است شاخص پایداری غشا نیز کاهش یافته باشد. در حالی که، کاهش شاخص پایداری غشا فقط در ارقام کوهدشت، MV17 و پیشتاز مشاهده شد (شکل ۱). احتمال دارد کاهش نیافتن شاخص پایداری غشا در ارقام ایزنگران و گاسکوژن ناشی از آسیب کم به پلاسما بر اثر تنش شوری باشد که نشان‌دهنده عملکرد خوب ساز و کارهای دفاعی فعال در سیتوسول است. عنایتی [۳] و وحدتی‌راد [۵] نیز چنین نتایجی را گزارش داده‌اند و عقیده دارند که بهتر است در پژوهش‌ها شاخص‌های ذکر شده هم‌زمان مطالعه شود؛ آن‌ها دلیل آن را کسب اطلاعات بیشتر درباره محل آسیب به غشاها بیولوژیک عنوان کرده‌اند.

فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز بر اثر شوری در ارقام ایزنگران، کوهدشت، پیشتاز و MV17 کاهش داشت (جدول ۱). این آنزیم‌ها نقش ویژه‌ای در جمع‌آوری و سم‌زدایی پراکسید هیدروژن برعهده دارند [۱۲]. آسکوربات پراکسیداز در چرخه‌های مهلر و گلووتاتیون - آسکوربات فعال است و به‌عنوان آنزیم نهایی عمل می‌کند. چرخه مهلر تنها در کلروپلاست اتفاق می‌افتد [۱۲]. در حالی که، چرخه گلووتاتیون - آسکوربات در اکثر اندامک‌های سلولی [۱۲] اجرا می‌شود. چرخه‌های ذکر شده به‌عنوان یک مسیر جایگزین برای انتقال الکترون و مصرف پتانسیل ردوکس سلول به‌شمار می‌آید و با اجرای آن‌ها پتانسیل ردوکس سلول تعدیل و از بروز تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌شود [۲۴]. افت فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ارقام گندم ایزنگران، کوهدشت، پیشتاز و MV17 می‌تواند سبب اختلال در اجرای چرخه‌های ذکر شده را فراهم کند. نتیجه این امر تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید خواهد بود که در ارقام یاد شده مشاهده شد (جدول ۱). در رقم ایزنگران هرچند فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز کاهش یافته است، به دلیل افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز توانسته است میزان پراکسید هیدروژن را در سلول جمع‌آوری و کنترل کند (جدول ۱). به‌طوری که حتی میزان آسیب به غشاها نیز به‌رغم معنی‌داری آن، در مقایسه با ارقام کوهدشت، MV17 و پیشتاز چشمگیر نیست (جدول ۱).

پراکسید هیدروژن ماده‌ای سمی است که در صورت تجمع سبب کاهش و یا توقف فعالیت آنزیم‌های بی‌فسفاتاز و ریبولوز مونو فسفات کیناز (آنزیم‌های دخیل در مرحله برگشت چرخه کالوین) و آیزوزیم‌های Mn-SOD و Cu/Zn-SOD می‌شود [۲۳]. در بین ارقام گندم مورد بررسی بر اثر شوری میزان پراکسید هیدروژن فقط در رقم‌های پیشتاز، کوهدشت و MV17 افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۱). اسفندیاری^۱ و همکاران [۱۴، ۱۵] و الوزی^۲ و همکاران [۱۳] افزایش

پراکسید هیدروژن ماده‌ای سمی است که در صورت تجمع سبب کاهش و یا توقف فعالیت آنزیم‌های بی‌فسفاتاز و ریبولوز مونو فسفات کیناز (آنزیم‌های دخیل در مرحله برگشت چرخه کالوین) و آیزوزیم‌های Mn-SOD و Cu/Zn-SOD می‌شود [۲۳]. در بین ارقام گندم مورد بررسی بر اثر شوری میزان پراکسید هیدروژن فقط در رقم‌های پیشتاز، کوهدشت و MV17 افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۱). اسفندیاری^۱ و همکاران [۱۴، ۱۵] و الوزی^۲ و همکاران [۱۳] افزایش

1. Esfandiari
2. Ellouzi.

پراکسیداسیون لیپیدی با افزایش فعالیت در تنش شوری را گزارش کرده‌اند. آن‌ها دلیل این امر را کاهش مواد سمی حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی بر اثر فعالیت آنزیم ذکر شده دانسته‌اند. گاپینسکا و همکاران (۱۶) افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون S - ترانسفراز بر اثر شوری و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در پی آن را گزارش کرده‌اند.

حضور سدیم در محیط ریشه افزایش جذب این عنصر و تجمع آن در گیاه را سبب می‌شود. با توجه به سمیت سدیم برای متابولیسم سلول به‌ویژه برگ‌ها انتظار می‌رود گیاهچه‌های گندم بتوانند با استفاده از ساز و کارهایی مانند انتقال مجدد سدیم با کارایی بالا به بیرون سلول‌های ریشه و ممانعت از انتقال آن به سمت اندام‌های هوایی گیاه، میزان سدیم موجود در سایر بخش‌ها را پایین نگه دارند و سمیت آن را کاهش دهند. بر این اساس تجمع سدیم در ریشه باید بیش از سایر بخش‌های گیاه باشد. این ویژگی فقط در ارقام آگوستا و ایزنگران مشاهده شد (جدول ۲).

بدین ترتیب که میزان سدیم موجود در ریشه بیشتر از طوقه و برگ ارقام ذکر شده بود و میزان سدیم انباشته شده در این بخش‌ها یک روند نزولی را نشان داد (جدول ۲) (ریشه < طوقه < برگ). اما بقیه ارقام گندم مورد مطالعه این ویژگی را نداشتند و سدیم جذب شده به راحتی به طوقه و سپس، به برگ‌ها انتقال یافته است (جدول ۲). بدین معنا که در ارقام کوهدشت، گاسکوژن، پیشتاز و MV17 میزان سدیم انباشته شده در برگ‌ها مساوی یا بیشتر از مقدار این عنصر در ریشه گیاهچه‌ها بود که نشان می‌دهد این ارقام فاقد هرگونه مکانیسم برای جلوگیری از انتقال سدیم به بخش‌های هوایی به‌ویژه برگ است.

هم‌زمان با افزایش میزان سدیم در محیط ریشه، جذب پتاسیم در تمام ارقام از طریق ریشه و میزان آن در سایر بخش‌های گیاهچه‌های گندم کاهش یافت و سبب افت میزان این عنصر در بافت‌های مورد مطالعه شد. برآیند کاهش جذب پتاسیم و افزایش جذب سدیم سبب کاهش

در ارقام کوهدشت و پیشتاز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در شرایط شوری تغییر نکرد. در حالی که، فعالیت گایاکول پراکسیداز در MV17 به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (جدول ۱). اما به‌رغم افزایش توانست میزان پراکسید هیدروژن را کنترل و از بروز تنش اکسیداتیو ناشی از شوری ممانعت کند (جدول ۱). پژوهشگرانی مانند اسفندیاری و همکاران [۱۴، ۱۵]، سونگور^۱ و همکاران [۲۴]، محمود^۲ و همکاران [۱۸] و گاپینسکا^۳ و همکاران [۱۶] کاهش آسیب به نقاط کلیدی سلول مانند غشاها را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر اثر شوری گزارش کرده‌اند؛ آن‌ها معتقدند که افزایش فعالیت این آنزیم‌ها به کنترل فعالیت تولید انواع اکسیژن فعال تولیدی منجر می‌شود و از بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی پیشگیری می‌کند.

در پی آسیب به غشاهای بیولوژیک و پراکسیداسیون لیپیدی علاوه بر مالون دی‌آلدئید، 4-hydroxynonenal نیز تولید می‌شود [۲۲]. این ماده برای سلول سمی است و سبب افزایش فعالیت اندونوکلتاز و آزاد شدن آنزیم سیتوکروم C - اکسیداز می‌شود. افزایش فعالیت اندونوکلتاز سبب تجزیه DNA خواهد شد. آزاد شدن آنزیم سیتوکروم C - اکسیداز توقف تولید انرژی را در پی دارد [۲۲]. در سلول‌های گیاهی از نقش‌های گلوتاتیون S - ترانسفراز می‌توان به ترکیب کردن گلوتاتیون با 4-hydroxynonenal و سم‌زدایی آن اشاره کرد [۱۷]. فعالیت این آنزیم در رقم گاسکوژن افزایش و در ارقام کوهدشت و پیشتاز بر اثر شوری کاهش داشت. اما در سایر ارقام تغییر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم مشاهده نشد (جدول ۱). کاتسوهارا^۴ و همکاران [۱۷] کاهش

1. Sevengor
2. Mahmoud
3. Gapinska
4. Katsuhara

شوری میزان تولید ماده خشک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲). احتمال می‌رود این رفتار ناشی از عدم توانایی گیاهچه‌های رقم کوهدشت در افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در ساز و کارهای دفاعی و ذخیره‌کردن سدیم در بخش‌هایی به غیر از سیتوسول باشد. تغییرات وزن خشک کل در ارقام MV17 و پیشتاز بر اثر شوری نسبت به شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۲). اما با توجه به عملکرد ساز و کارهای دفاعی و وضعیت توزیع سدیم در اندام‌های مختلف گیاه، احتمال می‌رود با اعمال تنش‌های طولانی‌تر، وزن خشک گیاه کاهش معنی‌داری نشان دهد.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ساز و کار دفاعی بسیار مهمی محسوب می‌شود و افزایش فعالیت آن‌ها در زمان تنش شوری می‌تواند تنش اکسیداتیو را کاهش دهد و یا از وقوع آن جلوگیری کند. به‌علاوه نتایج نشان می‌دهد که گزینش ارقام یا ژنوتیپ‌ها براساس میزان سدیم انباشته‌شده در برگ معیار مطمئنی به‌شمار نمی‌آید، زیرا حتی اگر رقمی از گندم نتواند از انتقال سدیم به اندام‌های هوایی به‌ویژه برگ‌ها پیشگیری کند، ولی بتواند سدیم را در بخش‌هایی به‌جز سیتوسول سلول‌های برگ ذخیره کند، می‌تواند از سمیت سدیم بکاهد. بنابراین، برای ارزیابی مطلوب ارقام و ژنوتیپ‌ها و بهره‌گیری بیشتر از پتانسیل آن‌ها در انجام کارهای اصلاحی، بهتر است جنبه‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی و با استفاده از صفات مختلف گیاهان ارزیابی و بررسی شوند و فقط براساس میزان سدیم تجمع‌یافته در برگ گروه‌بندی آن‌ها به ارقام حساس و مقاوم انجام نشود.

منابع

۱. جوادی، ع؛ (۱۳۹۰). ارزیابی اثرات شوری بر ساز و کارهای دفاعی ارقام گندم. مراغه دانشگاه مراغه.. پایان‌نامه کارشناسی ارشد.

نسبت پتاسیم به سدیم در تمامی ارقام شد. عزیزپور^۱ و همکاران [۷] کاهش جذب پتاسیم و افت نسبت پتاسیم به سدیم را گزارش کرده‌اند.

نتایج حاصل از وزن خشک کل تک بوته نشان داد که این شاخص در ارقام آگوستا، ایزنگران و گاسکوژن از شوری متأثر نشده و تغییر معنی‌داری نداشته‌اند (شکل ۲). احتمال می‌رود توانایی ارقام ایزنگران و آگوستا در ممانعت از انتقال سدیم به برگ‌ها دلیل کاهش نیافتن وزن خشک کل گیاهچه‌ها بر اثر شوری در این ارقام باشد (جدول ۲). این توانمندی به گیاهچه ارقام ذکرشده کمک می‌کند که به‌رغم عدم افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول ۱)، در تنش شوری به رشد و نمو طبیعی خود ادامه دهند و تنش محیطی حداقل آسیب را به آن‌ها وارد کند. رقم گاسکوژن برخلاف دو رقم یادشده ویژگی ممانعت از انتقال سدیم به برگ‌ها را نداشته است و همین عامل سبب شد تا میزان انباشت این عنصر در برگ‌ها بالا باشد (جدول ۲). اما همانند ارقام ایزنگران و آگوستا میزان تولید ماده خشک کل آن‌ها بر اثر شوری کاهش نداشت (شکل ۲)، زیرا افزایش فعالیت ساز و کارهای دفاعی در شرایط شوری در رقم گاسکوژن به کنترل تولید انواع اکسیژن فعال منجر شد و از ایجاد اختلال در متابولیسم سلول پیشگیری کرده است. برآیند این عوامل سبب رشد همسان گیاهچه‌ها با شرایط شاهد می‌شود. عدم افزایش مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن، به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو و حفظ رشد گیاه در زمان اعمال تنش شوری تاییدی بر این امر است. به‌علاوه این نتایج نشان می‌دهد که رقم گاسکوژن توانایی ذخیره‌کردن سدیم در بخش‌هایی به‌جز سیتوسول سلول‌های برگ را داراست. رقم کوهدشت از لحاظ توانایی جذب و انتقال سدیم به برگ‌ها همانند گاسکوژن بود (جدول ۲). اما در این رقم بر اثر

1. Azizpour

- in two pathological circumstances: hiperbilirubinemia and impaired renal function. Clinica Chimica Acta. 117 (3): 209-217.
10. Davenport R, James R, Zakrisson A, Tester M and Munns R (2005) Control of sodium transport in durum wheat. Plant Physiology. 137 (3): 807-818.
11. Dionisio ML and Tobita S (1998) Antioxidant response of rice seedling to salinity stress. Plant Science. 135 (1): 1-9.
12. Edreva A (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. Agriculture, Ecosystems and Environment. 106 (2-3): 119-133.
13. Ellouzi H, Ben Hamed K, Cela J, Bosch S and Abdelly C (2011) Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritime* (halophyte) and *Arabidopsis thaliana* (glycophyte). Physiologia Plantarum. 142 (2): 128-143.
14. Esfandiari E, Enayati V and Abbasi A (2011) Biochemical and Physiological Changes in Response to Salinity in Two Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.) Genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 39 (1): 165-170.
15. Esfandiari E, Javadi A, Shokrpour M and Shekari F (2011) The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms on wheat seedling. Fresenius Environmental Bulletin. 20 (8):2021-2036.
۲. دشتی، ح؛ تاج آبادی پور، ا؛ شیرانی، ح؛ نقوی، م. ر؛ (۱۳۸۹). «ارزیابی ژرم پلاسما گندم در مقابل تنش شوری». مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۱، ۴، ص. ۶۵۵-۶۶۴.
۳. عنایتی، و؛ (۱۳۸۹). بررسی تنوع ارقام گندم در پاسخ به شوری با استفاده از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی. دانشگاه مراغه. مراغه. پایان نامه کارشناسی ارشد.
۴. کافی، م؛ (۱۳۸۷). «کشاورزی شور زیست و ضرورت اجرای آن در کشور». مجموعه مقالات کلیدی، دهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، ایران، ص. ۱۳۷-۱۶۲.
۵. وحدتی راد، ا؛ (۱۳۹۰). توقف فعالیت آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز و اثر آن بر رشد و اکسیداسیون مواد بیولوژیک در مرحله گیاهچه‌ای گندم و جو. دانشگاه مراغه. مراغه. پایان نامه کارشناسی ارشد.
6. Aebi H (1984) Catalase in vitro. Method of Enzymology. 105 (1): 121-126.
7. Azizpour K, Shakiba M, Khosh Kholgh Sima N, Alyari H, Moghadam M, Esfandiari E and Pessaraki M (2010) Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition. 33 (6): 859-873.
8. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72 (1-2): 248-254.
9. Carmagnol F, Sinet PM, Rapin J and Jerome H (1981) Glutathione S-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and

16. Gapinska M, Sklodowska M and Gabara B (2008) Effect of short and long term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum*. 30 (1): 11-18.
17. Katsuhara M, Otsuka T and Ezaki B (2005) Salt stress induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxidase is not enough for a recovery of root growth in arabidopsis. *Plant Science*. 169 (2): 369-373.
18. Mahmoud M, Taoufik B, Harbaoui Y, Mougou A and Patrick J (2009) Insight into the role of catalases in salt stress in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 13 (3): 373-379.
19. Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25 (3): 239-250.
20. Panda SK, Singha LB and Khan MH (2003) Does aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vigna radiate*)?. *Bulgarian J. Plant Physiology*. 29 (1-2): 77-86.
21. Sairam RK, Rao KV and Srivastava GC (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*. 163 (5): 1037-1046.
22. Schneider C, Porter N and Brash A (2008) Routes to 4-hydroxynonenal: Fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of Biological Chemistry*. 283 (23): 15539-15543.
23. Sergiv I, Alexieva V and Karanov E (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare Des Sciences*. 51 (4): 121-124.
24. Sevengor S, Yaser F, Kusruran S, Ellialtioglu S (2011) The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. *African Journal of Agricultural Science*. 6 (21): 4920-4924.
25. Stewart RRC and Bewley JD (1980) Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. *Plant Physiology*. 65 (2): 245-248.