

### گزارش علمی کوتاه

## اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک بر جوانه‌زنی بذر شبدر سفید و قرمز تحت شرایط تنش شوری

نوید وحدتی مشهدیان<sup>۱\*</sup>، علی تهرانی فر<sup>۲</sup>، یحیی سلاح ورزی<sup>۳</sup>، عاطفه طیبی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری گیاهان زینتی گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۲. استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد؛  
۳. مربی گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۴. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد سبزیکاری گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۰

### چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر تنش شوری و پیش تیمار اسید سالیسیلیک و آسکوربیک (به‌عنوان تخفیف دهنده) بر جوانه‌زنی بذور شبدر سفید، شبدر قرمز ایرانی و شبدر قرمز خارجی، با استفاده از آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح شوری (صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار)، و ۵ سطح پیش تیمار بذر شامل صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ پی‌پی‌ام از هر کدام از مواد تخفیف دهنده) با سه تکرار بود. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد اثر شوری، اثر متقابل شوری و تخفیف دهنده و اثر متقابل هر سه عامل بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). به‌طور کلی، بیشترین مقادیر اندازه‌گیری شده در صفات مربوط به شاهد و کمترین مربوط به سطوح بالاتر تنش بود. درصد جوانه‌زنی در تنش شدید (۲۰۰ میلی مولار) در شبدر سفید، قرمز داخلی و قرمز خارجی در مقایسه با شاهد به ترتیب ۹۰، ۷۷ و ۷۸ درصد کاهش یافت. آسکوربیک (۲۰۰ پی‌پی‌ام)، در همین سطح از شوری توانست درصد جوانه‌زنی را به ترتیب به میزان ۸۸، ۷۱ و ۷۰ درصد، نسبت به شاهد بهبود بخشد. نتایج در مورد سرعت جوانه‌زنی نیز به همین صورت بود. به‌طور کلی، هرچند تنش شوری سبب اختلال در جوانه‌زنی می‌شود، ولی می‌توان با کاربرد تخفیف دهنده شاخص‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور شبدر در شرایط تنش شوری را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی، گیاهان بومی، تنش‌های محیطی، گیاهان پوششی، مواد تخفیف دهنده.

### مقدمه

تا ۲۵ سال دیگر و در حدود ۵۰٪ تا میانه قرن ۲۱، به زمین‌های بایر تبدیل شوند (Wang et al, 2003). تنش‌های بایر بسزایی در فرآیندهای گوناگون سالیسیلیک و آسکوربیک اسید از مواد تخفیف دهنده تنش بوده و تأثیر بسزایی در فرآیندهای گوناگون فیزیولوژیکی در گیاهان دارند. آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک و آسکوربیک اسید بر جوانه‌زنی بذور شبدر سفید و قرمز تحت شرایط تنش شوری در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی، انجام گرفت.

شبدرها از گیاهان بسیار پرارزش علوفه‌ای متعلق به خانواده بقولات<sup>۱</sup> محسوب شده و در ایران نیز در مراتع، پراکنش فراوانی دارند. حدود ۲۱۳ اکسشن از آن در بانک ژن ملی گیاهی ایران در کرج نگهداری می‌شود (Abbasi, 2008). تنش شوری یکی از تنش‌های عمده و اصلی در کشت و کار گیاهان به شمار می‌آید. هم‌اکنون از ۱۶۰ میلیون هکتار زمین مورد کاشت که در کل دنیا آبیاری می‌شوند، در حدود یک‌سوم آن‌ها تحت تأثیر نمک قرار گرفته‌اند (Singh and Catarth, 2001). پیش‌بینی می‌شود افزایش شوری در مزارع به‌گونه‌ای باشد که ۳۰٪ از این زمین‌های قابل کشت

1. Fabaceae (=Leguminosae)

**مواد و روش‌ها**

[۲] سرعت جوانه‌زنی = (تعداد روز تا آخرین شمارش/تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز آخر) + ... + (تعداد روز تا اولین شمارش/تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز اول)  
 طول گیاهچه، ریشه‌چه و ساقه چه در روز آخر آزمایش اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری این صفت ۵ گیاهچه از هر پتری دیش به‌عنوان نمونه و به‌صورت تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری صورت گرفت.  
 در روز آخر آزمایش ریشه‌چه و ساقه چه از هر تیمار ابتدا جدا و سپس با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم، توزین شدند. آنالیز داده‌های جمع‌آوری‌شده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار JMP4 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

**نتایج و بحث**

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش مشخص گردید اثر اصلی نوع شبدر، شوری، تخفیف دهنده و همچنین برهمکنش دوگانه و سه‌گانه (شبدر، شوری، تخفیف دهنده)، در مورد تمامی صفات اندازه‌گیری شده، حداقل در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود.

به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف شوری و اثرات اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک بر روی جوانه‌زنی بذور سه نوع شبدر در شرایط تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی در سال ۱۳۸۹ انجام شد. سه نوع شبدر عبارت بودند از شبدر سفید، رقم آندا (*Trifolium repens* L. cv. Anda)، شبدر قرمز توده اصفهان (*Trifolium pratense* L. (N)) و شبدر قرمز آلمانی، رقم مارینو (*Trifolium pratense* L., (cv. Marino (F)). تنش اعمال‌شده در این آزمایش شامل محلول‌های کلرید سدیم (صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار) بود. سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید نیز به روش خیساندن به‌عنوان تخفیف دهنده در این آزمایش (با غلظت‌های صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام)، به‌کاربرده شدند.  
 برای محاسبه درصد و سرعت جوانه‌زنی از روابط (۱) و (۲) استفاده شد (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2005):

$$[۱] GP \text{ (درصد جوانه‌زنی)} = \frac{\text{تعداد بذرهای جوانه‌زده تا روز } t}{\text{مجموع کل بذرها}} \times 100$$

جدول ۱. جدول تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش اثر تخفیف‌دهنده‌های تنش بر جوانه‌زنی بذور شبدر تحت شرایط شوری

Table 1. Mean square analysis of studied traits for stress alleviators on seed germination under salinity stress.

S.O.V	منابع تغییر	درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	طول گیاهچه	سرعت جوانه‌زنی
		Radicle length	Radicle FW to Coleoptile FW	plantlet length	Germination percentage	Germination rate
Trifolium	شبدر	2051.03*	0.11 <sup>ns</sup>	6360.42*	24273*	1956.4**
Salinity	شوری	110.76**	0.7 <sup>ns</sup>	372.03**	5361.85**	487.5**
Trifolium×Salinity	شبدر×شوری	420.36**	0.03 <sup>ns</sup>	1304.99**	6646.45**	576.98*
Alleviator	تخفیف دهنده	29.83*	0.3 <sup>ns</sup>	58.58*	1631.75**	166.86*
Trifolium ×Alleviator	شبدر×تخفیف دهنده	3575.41**	229.56*	129.99 <sup>ns</sup>	679.26**	283.29*
Salinity ×Alleviator	شوری×تخفیف دهنده	2434.07**	38.41*	31.09 <sup>ns</sup>	117.86**	203.06**
Trifolium×Salinity×Alleviator	شبدر×شوری×تخفیف دهنده	2147.66**	90.32*	56.22 <sup>ns</sup>	272.49**	175.10**

\* و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns عدم اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد.

جدول ۲. اثرات مستقیم اصلی تنش شوری و پیش تیمار سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید بر صفات اندازه گیری شده جوانه زنی بذور سه نوع شبدر

Table 2. Simple effects of salinity and SA and AsA treatments on measured traits of germination in 3 *Trifolium* types

Species	گونه	GP (%) درصد جوانه‌زنی	GR (day <sup>-1</sup> ) سرعت جوانه زنی	RL (mm) طول ریشه چه	CL (cm) طول ساقه چه	PL (cm) طول گیاهچه
<i>Trifolium repens</i>	شبدر سفید	63.33 c	13.41 c	7.8 c	14.8 c	22.6 c
<i>Trifolium Pratense</i>	شبدر قرمز ایرانی (N)	81.67 b	20.98 b	16 b	23.53 b	29.53 b
<i>Trifolium pretense</i>	شبدر قرمز خارجی (F)	90 a	26.29 a	23.13 a	25.46 a	48.6 a
Salinity (mM)	شوری					
0	صفر	78.33 a	20.27 a	15.64 a	21.27 a	36.91 a
100	۱۰۰	65.32 a	17.44 a	18.62 a	20.43 a	39.06 a
150	۱۵۰	50.17 b	12.15 b	16.93 a	18.48 b	35.41 ab
200	۲۰۰	47.70 b	12.26 b	15.24 ab	17.54 c	32.78 b
Priming (ppm)	پیش تیمار					
0	صفر	41.43 b	9.76 b	15.14 a	18.72 a	33.86 b
100 SA	۱۰۰ SA	57.5 a	14.59 a	18.24 a	18.13 a	36.37 a
200 SA	۲۰۰ SA	54 ab	14.23 a	16.82 a	18.58 a	35.4 ab
100 AsA	۱۰۰ AsA	60.56 a	15.56 a	16.19 a	17.95 a	34.14 b
200 AsA	۲۰۰ AsA	62.4 a	16.90 a	16.99 a	20.45 a	37.44 b

حروف غیر مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد بیانگر اختلاف معنی‌دار است.

GR: درصد جوانه زنی؛ GP: سرعت جوانه زنی؛ RL: طول ریشه چه؛ CL: طول ساقه چه؛ PL: طول گیاهچه؛ SA: سالیسیلیک اسید؛ AsA: اسید آسکوربیک.

Values not sharing the same letters in the same list are statistically significant by Duncan's multiple range test at 5% level.

GP: germination percentage, GR: germination rate, RL: radicle length, CL: Coleoptile length, PL: plantlet length, AsA: ascorbic acid, SA: Salicylic Acid

همچنین استفاده از آسکوربیک (۲۰۰ پی‌پی‌ام) در همین سطح شوری درصد جوانه‌زنی را به ترتیب به میزان ۷۱، ۸۸ و ۷۰٪، نسبت به شاهد افزایش دهد.

طول ریشه‌چه و ساقه چه در این آزمایش تحت تأثیر شوری قرار نگرفته و اختلاف معنی‌داری از این نظر در تیمارهای مورد استفاده، مشاهده نشد. بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (در بین تیمارها) در شرایط تنش کم شوری (۱۰۰ میلی‌مولار) و کمترین مقدار آن در تنش شدید شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) مشاهده شد. در این دو سطح تنش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه به ترتیب (۱۸/۶۲) و (۱۵/۲۴ میلی‌متر) و (۲۰/۴۳) و (۱۷/۵۴ میلی‌متر) بود.

کاهش جوانه‌زنی گیاهان در محیط‌های شور می‌تواند به دو دلیل کاهش جذب مؤثر در اثر به هم خوردن تعادل اسمزی که تنش آبی را برای گیاه ایجاد می‌کند و ایجاد سمیت یونی به واسطه جذب و تجمع یون‌ها ایجاد شود (Safarnejad et al, 2006). تأثیر سالیسیلیک اسید در تعدیل پاسخ گیاه و تنظیم فعالیت آنزیم‌ها در محدوده

با افزایش سطوح شوری به‌طور طبیعی و به‌صورت خطی از درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور کاسته شد به‌طوری‌که پایین‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی (۴۷/۷۰) در بالاترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) و پایین‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۱۲/۱۵) در سطح شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) مشاهده گردید. افزایش شوری سبب کاهش میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی در انواع شبدر مورد آزمایش گردید، اما روند کاهش در گونه‌های مختلف و همچنین در هرگونه برای تیمارهای مختلف، متفاوت بود. استفاده از مواد تخفیف دهنده سبب خنثی نمودن اثرات مخرب تنش شوری شده و درصد و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از این مواد، مجدداً رو به افزایش گذاشت. درصد جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری (صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) در شبدر سفید، قرمز داخلی و قرمز خارجی متفاوت بود. کاربرد اسید سالیسیلیک (۱۰۰ پی‌پی‌ام) در بالاترین سطح از شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) توانست درصد جوانه‌زنی را به ترتیب در شبدر قرمز ایرانی، خارجی و سفید به میزان ۷۷، ۶۹، ۶۶ و

به‌عنوان یک هم‌مفرساز (Co-factor) مهم برای واکنش‌های ساخت هورمون‌هایی نظیر جیبرلین شناخته شده است (Smirnof, 1996). فرآیند فیزیکی جذب آب سبب متورم و شکافته شدن پوسته بذر شده و امکان خروج ریشه‌چه و جوانه‌زنی بذور را فراهم می‌آورد.

وسیع‌تری از تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است. سالیسیلیک اسید جذب و انتقال یون‌ها (Cutt and Harper and Balke, 1992) و نفوذپذیری غشا (Klessig, 1992) را در تنش شوری تنظیم می‌نماید (Barkosky and Einhellig, 1993). آسکوربیک اسید علاوه بر این

#### منابع

- Abbasi, M.R. 2008. Genetic diversity of Persian clover (*Trifolium resupinatum*) gene pools in National Plant Gene Bank of Iran. Iranian Journal of Rangelands and forests Plant Breeding and Genetic Journal. 16 (1): 37-49. [In Persian with English Summary].
- Barkosky, R.R., Einhellig, F.A., 1993. Effects of salicylic acid on plant-water relationships. Journal of Chemistry and Ecology. 19, 237-247.
- Cutt, J.R., Klessig, D.F., 1992. Salicylic acid in plants: A changing perspective. Pharmaceutical Technology. 16, 25-34.
- Harper, J.P., Balke, N.E., 1981. Characterization of the inhibition of K<sup>+</sup> absorption in oat roots by salicylic acid. Plant Physiology. 68, 1349-1353.
- Hosseini, H., Rezvani Moghadam, P., 2005. Effect of water and salinity stress in seed germination on Isabgol (*Plantago ovata*). Agriculture Research of Iran. 4 (1), 15-22. [In Persian with English Summary].
- Safarnejad, A., Collin, H.A., Bruce, K.D., Mc Neily, T., 1996. Characterization of alfalfa (*Medicago sativa*) following in vitro selection for salt tolerance. Euphytica. 92, 55-61.
- Smirnof, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plant. Annuals of Botany. 78, 661-669.
- Singh, K.N., Chatrath, R., 2001. Salinity tolerance. In: Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, I., McNab, A. (Eds.), Application of Physiology in Wheat Breeding. CIMMYT, Mexico, pp. 101-110.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, Planta 218: 1-14.

Archive