

بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه سیاهدانه (*Nigella sativa*) در شرایط تنش شوری

رزیتا کبیری*^۱ و مهدی نقی زاده^۲

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه ایلام

۲- استادیار دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

ارزیابی تحمل به شوری گیاهان دارویی به منظور کشت در مناطق شور از اهمیت ویژه ای برخوردار است. سالیسیلیک اسید یک تنظیم کننده رشد است که نقش آن در ایجاد تحمل گیاهان به تنش های محیطی از جمله تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته است. برای مطالعه اثر این ماده بر جوانه زنی و رشد اولیه گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa*) تحت شرایط تنش شوری، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. تیمار های آزمایشی شامل غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار) و شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بودند. بذرهای سیاهدانه، به مدت ۲۴ ساعت در غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید پیش تیمار شدند، سپس به منظور انجام آزمون جوانه زنی به پتری دیش های حاوی ۱۰ میلی لیتر NaCl با غلظت های ذکر شده منتقل شدند. نتایج بدست آمده از آزمایش نشان داد، با افزایش تنش شوری، درصد و سرعت جوانه زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه، وزن تر و خشک ریشه چه، طول اندام هوایی و وزن تر و خشک اندام هوایی در سیاهدانه بطور معنی داری کاهش یافت. پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری گردید. سالیسیلیک اسید موجب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی و در نهایت موجب افزایش وزن تر و خشک گیاهچه های سیاهدانه تحت شرایط تنش گردید. بنظر می رسد غلظت های بالاتر سالیسیلیک اسید (۰/۵ تا ۱ میلی مولار) سبب افزایش کلیه صفات مذکور در شرایط کنترل و تنش می گردند.

کلمات کلیدی: تنش شوری، جوانه زنی بذر، سالیسیلیک اسید، سیاهدانه

مقدمه

(2007). اغلب گیاهان در مرحله جوانه زنی و رشد اولیه حساسیت بیشتری به تنش های محیطی از جمله خشکی و شوری دارند (Kafi et al., 2005). شانون (Shannon, 1986) اظهار داشت که حساس ترین مرحله از چرخه زندگی گیاه نسبت به تنش شوری، مرحله جوانه زنی و ابتدای رشد گیاهچه است. بنابراین بذرهایی که بتوانند در مرحله جوانه زنی

مرحله جوانه زنی و استقرار گیاهچه اهمیت ویژه ای در تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح دارد و از مهمترین مراحل بحرانی در چرخه زندگی گیاه می باشد. جوانه زنی فرایند پیچیده ای است که با جذب آب آغاز می شود و تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی قرار می گیرد (Windauer et al.,

*نویسنده مسئول: رزیتا کبیری، نشانی: ایلام، بلوار پژوهش، دانشگاه ایلام.

E-mail: Rozita_Kabiri@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱

تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۲/۱۳

تولید ATP در بذرها آغاز می شود (Hosseini and Koocheki, 2007). پرایمینگ سنتز و فعال شدن اولیه آنزیم های هیدرولیتیک چون α و β آمیلاز را تحریک می کند، این آنزیم ها با اکسیداسیون مواد غذایی ذخیره ای بذر انرژی لازم برای جوانه زنی و ظهور گیاهچه را تامین می کند (Hosseini and Koocheki, 2007). گزارش های مختلف حاکی از آن است که پرایمینگ باعث بهبود جوانه زنی، افزایش بنیه بذر و افزایش دامنه جوانه زنی بذرها در شرایط محیطی تنش زا از قبیل تنش خشکی، شوری و دما می شود (El-Tayeb, 2005; Hanan, 2007; Hosseini and Koocheki, 2007; Khodary, 2004). پرایمینگ بذر با موادی مثل سالیسیلیک اسید به عنوان یک تکنیک آسان و کم هزینه راه حلی است که برای بهبود جوانه زنی بذرها پیشنهاد شده است (Rajasekaran *et al.*, 2002). سالیسیلیک اسید یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید یک ترکیب فنلی است که بطور طبیعی در گیاهان تولید می شود. مطالعات متعددی نشان می دهند که سالیسیلیک اسید سبب افزایش تحمل گیاهان به تنش های زیستی و غیر زیستی می شود (Rajasekaran *et al.*, 2002; Shakirova *et al.*, 2003; Kabiri *et al.*, 2014). القای گلدهی، رشد و نمو و تحریک جوانه زنی از نقش های مهم سالیسیلیک اسید به شمار می رود (Raskin Rajasekaran *etal.*, 1992). راجسکاران و همکاران (2002) گزارش کردند که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید باعث تحریک جوانه زنی بذر می شود. کاربرد سالیسیلیک اسید باعث بهبود جوانه زنی از طریق خنثی کردن رادیکال های آزاد اکسیژن می گردد (Rajasekaran *et al.*, 2002). بالباکی و همکاران (Baalbaki *et al.*, 1999) گزارش کردند که پیش

واکنش مناسبی نسبت به تنش شوری نشان دهند، در مرحله گیاهچه ای رشد بهتری داشته و سیستم ریشه ای قوی تری را تولید می کنند. تنش شوری از یک سو پتانسیل آب محیط ریشه را به دلیل کاهش پتانسیل آب قابل دسترس برای گیاه کاهش داده و از سوی دیگر وجود برخی از یون ها آثار سمی بر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه به جا می گذارد که هر دو مسأله سبب اختلال در جذب عناصر غذایی توسط ریشه شده و در نهایت منجر به کاهش رشد می شود (Kaydan and Yagmur, 2008). گزارش های مختلف حاکی از کاهش رشد، کاهش تولید ماده خشک و در نتیجه کاهش عملکرد نهایی در اکثر گیاهان نظیر آفتابگردان، جو و نخود در اثر تنش شوری می باشد (Judi and Sharifzadeh, 2004; Kaya and Day, 2008; Al-Taisan, 2010). علاوه بر این گزارش های متعددی نیز حکایت از کاهش درصد و سرعت جوانه زنی با افزایش شوری دارد (Raskin, Singh and Usha, 2003; 1992). با توجه به مطالب ذکر شده، پیش تیمار بذر^۱ به عنوان یک راهکار برای تحریک جوانه زنی، کاهش زمان بین کشت بذر و سبز شدن آن، ظهور یکنواخت و افزایش استقرار گیاهچه به ویژه در شرایط نامطلوب محیطی مطرح است (Judi and Sharifzadeh, 2004). پرایمینگ به تیمار بذر قبل از کشت اطلاق می شود که به وسیله آن بذر مراحل اولیه جوانه زنی را طی می کند ولی بدلیل پایین بودن میزان آب جذب شده، خروج ریشه چه صورت نمی گیرد. طی این روش انتقال مواد ذخیره ای، فعال سازی آنزیم، سنتز DNA و RNA و

1. Seed priming

اثرات تنش شوری بر جوانه زنی و رشد گیاهچه سیاهدانه و اینکه پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید می تواند اثرات مضر این تنش را کاهش دهد، انجام گرفت.

مواد و روش ها

به منظور بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه سیاهدانه، آزمایشی در سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی جمعاً با ۱۵ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. پس از انتخاب بذرها هم اندازه، بذرها با هیپوکلریت سدیم ۳٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی شده و سپس ۳ تا ۵ مرتبه با آب مقطر شسته و سپس به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۰ درجه سانتی گراد درون محلول هایی با غلظت (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار) سالیسیلیک اسید بطور جداگانه خیسانده شدند. پس از آن، تعداد ۳۰ عدد از بذرها خیس خورده در آب مقطر و محلول سالیسیلیک اسید، به پتری دیش های استریل با قطر ۹ سانتیمتر که حاوی یک لایه کاغذ صافی واتمن شماره ۱ در کف پتری دیش ها و ۱۰ میلی لیتر NaCl با غلظت های (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بودند، منتقل گردیدند. پتری ها در اتاقک رشد و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند (Safarnejad et al., 2007) و تعداد بذرها جوانه زده هر روز تا روز چهاردهم مورد شمارش قرار گرفتند. بذرهایی جوانه زده تلقی شدند که طول ریشه چه آنها دو میلی متر یا بیشتر بود (Kaya and Day, 2008). روز چهاردهم، پنج عدد از بذرها جوانه زده را از پتری دیش خارج کرده و ریشه چه و ساقه چه جهت سنجش پارامترهای مورفولوژیکی از

تیمار بذر با سالیسیلیک اسید در رفع آسیب های اکسیداتیو در هنگام جوانه زنی دخالت دارد و باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت در بذر می شود که این آنزیم ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در مرحله جوانه زنی کاهش می دهند و در نتیجه سبب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی می گردد. از طرفی افزایش سرعت جوانه زنی باعث افزایش استقرار گیاهچه ها در شرایط تنش می شود (Baalbaki et al., 1999).

گیاهان دارویی مخازن غنی از مواد مؤثره اساسی بسیاری از داروها می باشند. مواد مؤثره اگر چه با هدایت فرآیندهای ژنتیکی خاصی ساخته می شوند اما سنتر آنها بطور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی نیز قرار می گیرد، بطوریکه عوامل محیطی سبب تغییر در رشد، کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی می گردد (Omidbaigi, 2007). سیاهدانه با نام علمی *Nigella sativa* از خانواده آلاله است، گیاهی دو لپه، علفی و یکساله، بومی غرب آسیاست و پوشیده از کرک های ظریف با برگ های منقسم، نخعی شکل و گل هایش منفرد و به رنگ سفید یا آبی است. در بیشتر نواحی اروپا، آسیا و ایران می روید (D. Emami and M. Hosseini, 2008). این گیاه در درمان افسردگی، بیماری های دیابت، نارسایی کلیه، بیماری های معده، سردرد، دندان درد نقش داشته و دارای اثرات آنتی بیوتیکی و تحریک پاسخ ایمنی، ضد نفخ، مسهل، ضدانگل، ضد میکروب، ضد کرم، ضد سرطان، تقویت لثه و شیرآور می باشد (D. Emami and M. Hosseini, 2008).

در ایران در سال های اخیر کشت گیاهان دارویی از جمله سیاهدانه مورد توجه قرار گرفته است و با توجه به مشکل شوری آب و خاک به ویژه در نواحی خشک و نیمه خشک، این آزمایش با هدف بررسی

احتمال ۵ درصد و رسم شکل ها با استفاده از نرم افزار Excel (ver. 2007) انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه زنی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تنش شوری ($p \leq 0/01$) باعث کاهش معنی دار درصد و سرعت جوانه زنی گردید (جدول ۱). درصد و سرعت جوانه زنی در تیمار ۱۰۰ میلی مولار NaCl، در مقایسه با شاهد به ترتیب حدود ۶۴/۲٪ و ۸۷/۲٪ کاهش نشان داد. اما پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید موجب افزایش صفات مذکور در شرایط تنش گردید. بطوریکه در هر دو سطح تنش شوری، غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید سبب افزایش معنی دار درصد جوانه زنی (شکل ۱- A) و سرعت جوانه زنی (شکل ۱- B) گردید.

وزن خشک گیاهچه

نتایج حاصل از اندازه گیری وزن خشک گیاهچه نشان داد که مقدار این صفت با افزایش تنش شوری ($p \leq 0/01$) کاهش یافت (جدول ۱). این کاهش در هر دو سطح شوری نسبت به شاهد معنی دار بود (شکل ۲). مقدار وزن خشک گیاهچه در بذرهایی که با سالیسیلیک اسید پیش تیمار شده بودند، افزایش نشان داد. بطوریکه در گیاهچه های شاهد، بیشترین مقدار این صفت متعلق به غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید بود ($2/28 \text{ mg} \cdot \text{plant}^{-1}$). در تیمار ۵۰ میلی مولار NaCl تمامی غلظت های سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار مقدار این صفت در مقایسه با شاهد گردید. اما در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار غلظت های بالاتر سالیسیلیک اسید (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار) از نظر آماری با شاهد تفاوت معنی داری

یکدیگر جدا شدند. طول ساقه چه از یقه تا جوانه انتهایی و طول ریشه چه از یقه تا نوک ریشه اصلی بر حسب میلیمتر با خط کش، وزن تر ریشه چه و اندام هوایی با استفاده از ترازوی دیجیتال دقیق، وزن خشک ریشه چه و اندام هوایی بعد از خشک شدن نمونه ها در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه گیری شد (Safarnejad et al., 2007). درصد جوانه زنی از رابطه زیر بدست می آید (Maguire, 1962):

$$\%nG = \left(\frac{n}{N} \right) \times 100$$

که در آن G درصد جوانه زنی، n تعداد نهایی بذرهایی جوانه زده و N تعداد بذرهایی کشت شده می باشد. سرعت جوانه زنی نیز از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (Maguire, 1962).

$$GR = \sum_{i=1}^n \frac{N_i}{T_i}$$

که در آن GR سرعت جوانه زنی، N_i تعداد بذرهایی جوانه زده در هر شمارش و T_i زمان از ابتدای کاشت تا شمارش n ام بر حسب روز است. وزن خشک اندام هوایی + وزن خشک ریشه چه = وزن خشک گیاهچه شاخص بنیه بذر نیز به روش عبدالباکی و اندرسون (Abdul-baki and Anderson, 1970) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

۱۰۰ / میانگین طول گیاهچه ها × درصد جوانه زنی = شاخص بنیه بذر

آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS (ver. 9.1) و MSTATC صورت گرفت و با مشاهده تفاوت معنی دار در آنالیز واریانس (ANOVA)، مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح

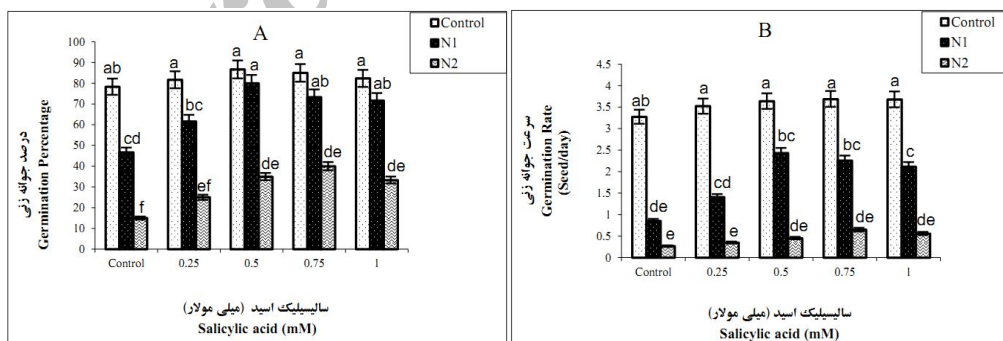
را نشان دادند. بطوریکه در بالاترین سطح شوری، غلظت های ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید به ترتیب حدود ۵/۵۳٪، ۵۳٪ و ۶۳٪ افزایش را

جدول ۱- تجزیه واریانس پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر روی خصوصیات جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه سیاهدانه تحت تنش شوری.
Table 1- Analysis of variance of salicylic acid (SA) pretreatment on germination and early growth seedling of *Nigella sativa* under salinity stress.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	طول خشک اندام	وزن تر خشک ریشه چه	طول ریشه چه	شاخص بذر	وزن خشک گیاهچه	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	میانگین مربعات
SOV	DF	Shoot Dry Weight	Shoot Fresh Weight	Shoot Length	Radicle Fresh Weight	Radicle Length	Seed Vigor Index	Seedling Dry Weight	Germination Rate	Germination Percentage	Mean Squares
سالیسیلیک اسید	4	0.219**	18.812*	147.8**	10.86**	421.33**	951.68**	0.446**	0.925 ^{ns}	647.92**	
SA تنش شوری	2	2.389**	205.21*	1078.7*	0.612**	9676.75**	21176.5**	5.369**	36.367**	11131.09**	
سالیسیلیک اسید × تنش شوری	8	0.03 ^{ns}	0.902 ^{ns}	9.08 ^{ns}	0.0043 ^{ns}	53.44 ^{ns}	96.57 ^{ns}	0.0467 ^{ns}	0.275 ^{ns}	88.172 ^{ns}	
SA × Salinity	30	0.02	2.01	20.7	0.004	55.18	61.936	0.041	0.396	100.2	
خطا											
تغییرات		18.12	14.37	17.96	15.77	15.53	15.61	15.01	32.39	16.76	
CV											

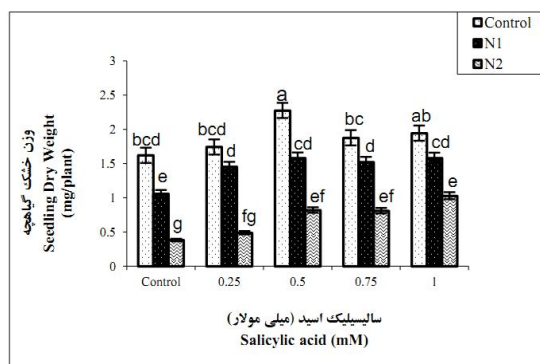
*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی دار

*, ** and ^{ns} denote significant differences at 0.05, 0.01 % levels, and not significant respectively.



شکل ۱: اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر درصد (A) و سرعت (B) جوانه زنی. میانگین ها با آزمون LSD مقایسه شدند. $P \leq 0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (N1 و N2 به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار NaCl).

Figure 1: Effect of salicylic acid pretreatment on percentage (A) and rate (B) of germination. The mean comparisons were performed using LSD method at $P \leq 0.05$ significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different (N1 and N2 were 50 and 100 mM NaCl respectively).



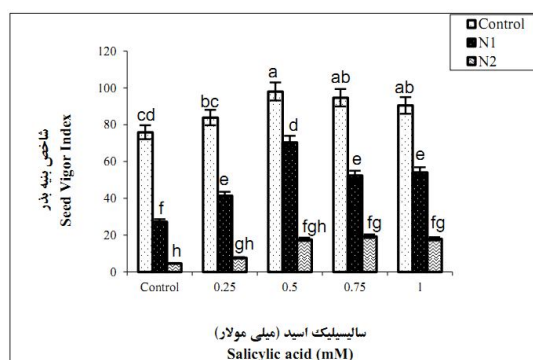
شکل ۲: اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر وزن خشک گیاهچه. میانگین ها با آزمون LSD مقایسه شدند. $P \leq 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (N1 و N2 به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار NaCl).

Figure 2: Effect of salicylic acid pretreatment on seedling dry weight. The mean comparison was done using LSD method at $P \leq 0.05$ significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different (N1 and N2 were 50 and 100 mM NaCl respectively).

ک از نظر آماری با شاهد اختلاف داشتند. در شوری ۵۰ میلی مولار، سالیسیلیک اسید (تمامی سطوح) با شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند اما با افزایش شوری به ۱۰۰ میلی مولار، تنها غلظت های بالاتر سالیسیلیک اسید (۰/۷۵ و ۱ میلی مولار) توانستند این شاخص را به ترتیب حدود ۰/۷۶/۲٪ و ۰/۷۴/۴٪ نسبت به بذرهای بدون پیش تیمار افزایش دهند (شکل ۳).

شاخص بنیه بذر

نتایج نشان داد که شاخص بنیه بذر، تحت تأثیر تنش شوری ($p \leq 0.01$) قرار گرفت و واکنش به سطوح شوری معنی دار بود (جدول ۱) و با افزایش تنش، این شاخص کاهش یافت (شکل ۳). پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید مقدار این شاخص را در شرایط کنترل و تنش افزایش داد (شکل ۳). در شرایط کنترل بیشترین مقدار این صفت متعلق به غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید بود

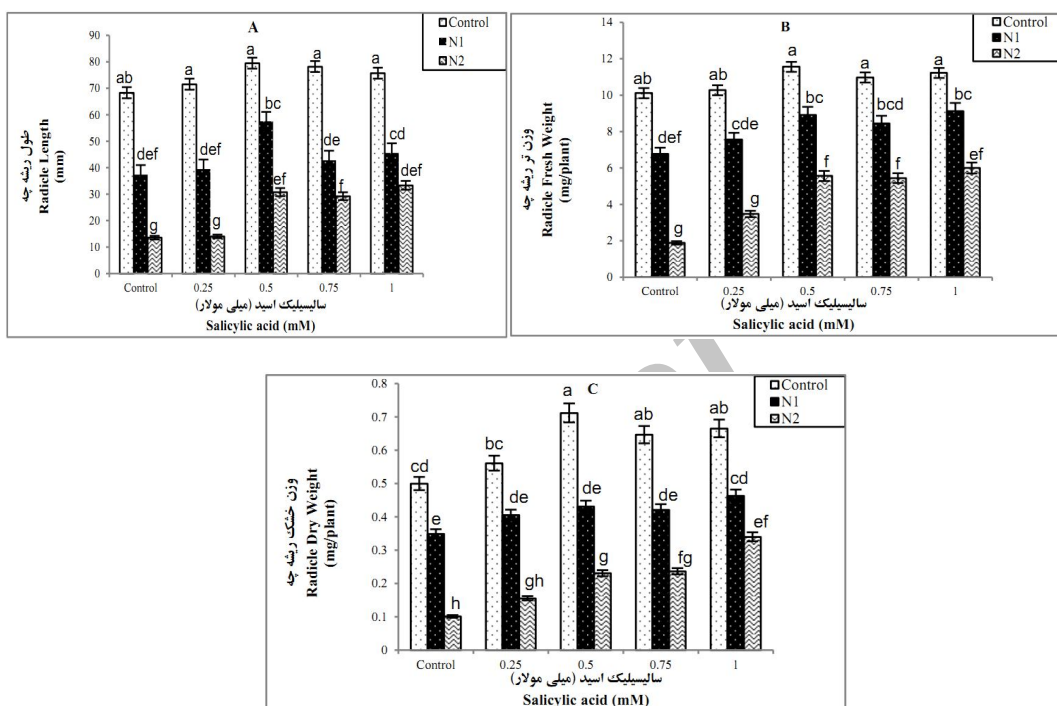


شکل ۳: اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر مقدار شاخص بنیه بذر. میانگین ها با آزمون LSD مقایسه شدند. $P \leq 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (N1 و N2 به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار NaCl).

Figure 3: Effect of salicylic acid pretreatment on seed vigor index. The mean comparison was done using LSD method at $P \leq 0.05$ significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different (N1 and N2 were 50 and 100 mM NaCl respectively).

ریشه چه، وزن تر ریشه چه و وزن خشک آن را به ترتیب حدود ۰/۶۷/۶، ۰/۵۸/۷ و ۰/۶۵/۵ در مقایسه با شاهد کاهش داد (شکل ۴).

طول ریشه چه، وزن تر و خشک ریشه چه
 نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اختلاف بین سطوح مختلف شوری از نظر طول ریشه چه، وزن تر و خشک ریشه چه معنی دار ($P \leq 0.01$) بود. بالاترین سطح تنش شوری مقدار طول



شکل ۴: اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر مقدار طول ریشه چه (A)، وزن تر (B) و وزن خشک (C) ریشه چه. میانگین ها با آزمون LSD مقایسه شدند. $P \leq 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (N1 و N2 به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار NaCl).

Figure 4: Effect of salicylic acid pretreatment on radicle length (A), fresh weight (B) and dry weight (C) of radicle. The mean comparison was done using LSD method at $P \leq 0.05$ significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different (N1 and N2 were 50 and 100 mM NaCl respectively).

داشت. این در حالیست که در تیمار ۱۰۰ میلی مولار NaCl، غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید با بذره‌های شاهد تفاوت معنی داری را نشان دادند (شکل ۴ - A). در شرایط کنترل، هیچ گونه اختلاف معنی داری بین غلظت های سالیسیلیک اسید و شاهد از نظر وزن تر ریشه چه مشاهده نگردید. اگر چه در شوری ۵۰ میلی مولار تنها غلظت های ۰/۵ و ۱

اما پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید موجب افزایش مقدار صفات مذکور هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش گردید. در شرایط بدون تنش، از نظر طول ریشه چه، اختلاف معنی داری بین غلظت های سالیسیلیک اسید و شاهد مشاهده نگردید. اما در شوری ۵۰ میلی مولار تنها غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید از لحاظ آماری با شاهد اختلاف

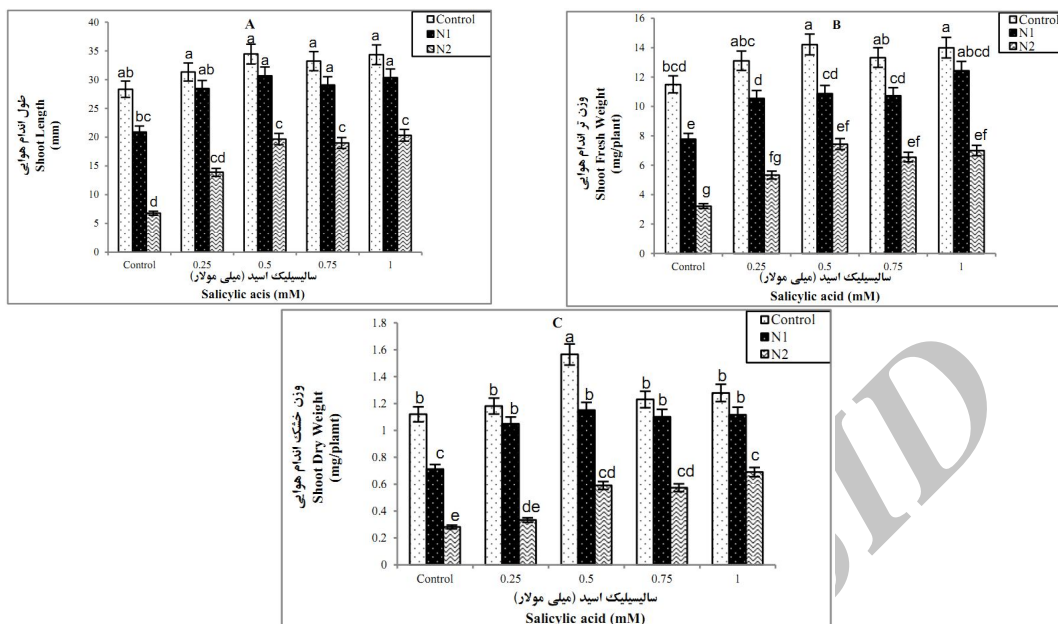
اسید از نظر آماری با بذرهاى شاهد، تفاوت داشتند (شکل ۵ - A). در شرایط بدون تنش، تنها غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید با گیاهچه های شاهد از نظر مقدار وزن تر اندام هوایی اختلاف معنی داری داشتند. در شوری ۵۰ میلی مولار، تمامی غلظت های سالیسیلیک اسید بدون اختلاف معنی دار با یکدیگر، تفاوت معنی داری را با گیاهچه های شاهد نشان دادند (شکل ۵ - B). اما در شوری ۱۰۰ میلی مولار، غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید در مقایسه با شاهد موجب افزایش معنی داری در مقدار این صفت گردیدند (شکل ۵ - B). داده های حاصل از اندازه گیری مقدار وزن خشک اندام هوایی نشان می دهد که تنش شوری مقدار این صفت را بطور معنی داری کاهش داده است (جدول ۱). پرایمینگ با سالیسیلیک اسید تنها در غلظت ۰/۵ میلی مولار در شرایط کنترل موجب افزایش معنی دار وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با سایر سطوح سالیسیلیک اسید و شاهد گردید (شکل ۵ - C). در تنش شوری ۵۰ میلی مولار، سالیسیلیک اسید (تمامی سطوح) باعث افزایش معنی دار مقدار این صفت در مقایسه با گیاهچه های شاهد گردید. اما در سطح ۱۰۰ میلی مولار NaCl، اختلاف بین غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد معنی دار بود (شکل ۵ - C).

تنش شوری یکی از مخرب ترین تنش های محیطی است که باعث کاهش کیفیت و عملکرد گیاهان با القا سمیت یونی و تنش خشکی می شود (Kayadan and Yagmur, 2008). بنابراین استفاده از تنظیم کننده های رشد بصورت برون زا برای افزایش تحمل گیاهان به شوری می تواند راهی مناسب در جهت افزایش بهره وری از آب های شور باشد.

میلی مولار سالیسیلیک اسید توانستند با افزایش صفت مذکور اختلاف معنی داری را با شاهد نشان دهند (شکل ۴ - B). در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید با افزایش وزن تر ریشه چه اختلاف معنی داری با غلظت ۰/۲۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید و شاهد نشان دادند (شکل ۴ - B). در شرایط کنترل، پیش تیمار بذر با غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید، وزن خشک ریشه چه را نسبت به غلظت ۰/۲۵ میلی مولار آن و بذرهایی پیش تیمار نشده، از لحاظ آماری افزایش داد. اما در شوری ۵۰ میلی مولار، غلظت ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید بدون اختلاف با سایر سطوح سالیسیلیک اسید، اختلاف معنی داری را با شاهد نشان داد. در تیمار ۱۰۰ میلی مولار NaCl، بیشترین مقدار این صفت متعلق به بالاترین غلظت سالیسیلیک اسید بود که از نظر آماری بدون تفاوت معنی دار با غلظت ۰/۷۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید، اختلاف معنی داری را با غلظت های پائین تر آن و شاهد نشان داد (شکل ۴ - C).

طول اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی

واکنش طول اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی به سطوح شوری ($p \leq 0/01$) معنی دار بود (جدول ۱). تیمار ۱۰۰ میلی مولار NaCl، مقدار طول اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک آن را به ترتیب حدود ۵۰/۷٪، ۵۵/۳٪ و ۶۱/۳٪ نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۵). در شرایط کنترل هیچ گونه اختلاف معنی داری بین سالیسیلیک اسید (تمامی سطوح) و شاهد از نظر طول اندام هوایی مشاهده نگردید (شکل ۵ - A). اما در هر دو سطح شوری، غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک



شکل ۵: اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر طول اندام هوایی (A)، وزن تر (B) و وزن خشک (C) اندام هوایی. میانگین ها با آزمون LSD مقایسه شدند. $P \leq 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (N1 و N2 به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار NaCl).

Figure 4: Effect of salicylic acid pretreatment on shoot length (A), fresh weight (B) and dry weight (C) of shoot. The mean comparison was done using LSD method at $P \leq 0.05$ significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different (N1 and N2 were 50 and 100 mM NaCl respectively).

روی گندم، راجاسکاران و همکاران (Rajasekaran *et al.*, 2002) روی هویج؛ ال-تایب (El-Tayeb, 2005) روی جو؛ کایا و همکاران (Kaya *et al.*, 2008) روی آفتابگردان و فاروق و همکاران (Farooq *et al.*, 2006) روی برنج بیانگر آن است که سالیسیلیک اسید محرک مناسبی برای جوانه زنی است. کاهش درصد و سرعت جوانه زنی در گیاه سیاهدانه تحت تنش شوری معنی دار بود (جدول ۱). در گیاه سیاهدانه حساسیت سرعت جوانه زنی به تنش شوری، در مقایسه با درصد جوانه زنی بیشتر بود (شکل ۱). فرایند فیزیکی جذب آب، به فعال شدن یکسری فرایندهای متابولیکی در داخل بذر منجر شده و بدنال هیدراته شدن بذر، جوانه زنی به وقوع می پیوندد (Katembe *et al.*, 1998). کاهش فرایند جوانه

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش تنش شوری، کلیه مؤلفه های جوانه زنی در گیاه سیاهدانه کاهش یافت. کاهش جوانه زنی با افزایش تنش شوری توسط محققین بسیاری گزارش شده است (El-Tayeb, 2005; Azhdari *et al.*, 2010). اثرات بازدارندگی NaCl روی جوانه زنی بذر می تواند مربوط به اثر مستقیم شوری بر روی رشد جنین بذر باشد (Al-Taisan, 2010). در این بررسی پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید موجب افزایش کلیه مؤلفه های جوانه زنی (درصد و سرعت جوانه زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه، وزن تر و خشک ریشه چه، طول اندام هوایی و وزن تر و خشک اندام هوایی) گردید. نتایج بدست آمده توسط شاکیرووا و همکاران (Shakirova *et al.*, 2003)

سلولی می تواند از علل عمده کاهش عملکرد ماده خشک در بسیاری از گیاهان نظیر سیاهدانه، گندم و جو باشد (Kabiri et al., 2012; Hanan, 2007;).
 (Baalbaki et al., 1999). ثابت شده است که ترکیبات فنلی با تأثیر بر فرایندهایی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب یون، نفوذ پذیری غشا، فعالیت آنزیم ها و هورمون ها میزان رشد و تولید زی توده (وزن خشک کل) را تحت تأثیر قرار می دهند (Raskin 1992, Hayat and Ahmad, 2007).

با افزایش غلظت NaCl، شاخص بنیه بذر کاهش یافت (شکل ۳). گزارشات متعددی مبنی بر افزایش طول گیاهچه، وزن تر و خشک آن و در نتیجه افزایش وزن خشک کل و شاخص بنیه بذر از طریق پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید وجود دارد (Hanan, 2007; Khodary, 2004; Shakirova et al., 2003). مکانیسمی که سالیسیلیک اسید رشد ریشه و بخش هوایی را در برخی گیاهان افزایش می دهد بخوبی شناخته نشده است، اما احتمال دارد که سالیسیلیک اسید تعادل هورمونی را در گیاه تغییر داده و تحت شرایط تنش، سبب افزایش اکسین، ABA و مانع از کاهش سیتوکینین می شود، بطوریکه سالیسیلیک اسید با اثر بر مقدار ABA، باعث تکامل واکنش های آنتی استرس (تجمع پرولین) در گیاهچه های گندم گردید (Shakirova et al., 2003). از طرفی سالیسیلیک اسید از اکسیداسیون اکسین جلوگیری می کند که بنظر می رسد افزایش وزن تر و خشک گیاهچه ها در ارتباط با افزایش طول ریشه چه (شکل ۴ - A) و طول اندام هوایی (شکل ۵ - A) تحت تأثیر سالیسیلیک اسید باشد. زیرا تنش شوری با کاهش میزان اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و افزایش ABA و اتیلن تأثیر معنی داری را بر طول ریشه چه، وزن تر و

زنی در اثر تنش شوری می تواند به کاهش جذب آب توسط بذرها ارتباط داشته باشد. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب آب به آرامی صورت گیرد، فعالیت های متابولیکی جوانه زنی در داخل بذر به آرامی انجام شود و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه چه از بذر افزایش یافته و سرعت جوانه زنی کاهش می یابد. سرعت جوانه زنی یکی از شاخص های مهم در ارزیابی تحمل به شوری در مرحله جوانه زنی است، زیرا هر چه سرعت جوانه زنی بیشتر باشد، شانس سبز شدن تحت شرایط تنش بیشتر خواهد بود (Kafi et al., 2005). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج آل تایسان (Al-Taisan, 2010) در گیاه ارزن مرواریدی مطابقت دارد، به گونه ای که این نتایج اثبات می کنند که تنش شوری سرعت جوانه زنی را بیشتر از درصد جوانه زنی کاهش می دهد. پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید موجب افزایش درصد (شکل ۱ - A) و سرعت (شکل ۱ - B) جوانه زنی در شرایط تنش گردید. اثر تحریک کننده و مثبت سالیسیلیک اسید بر درصد و سرعت جوانه زنی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Hayat and Ahmad, 2007; Singh and Usha, 2003; Kabiri et al., 2012). چنین بنظر می رسد که سالیسیلیک اسید از طریق تأثیر بر سیستم آنتی اکسیدانی گیاه سبب کاهش اثر سمی و مخرب تنش شوری شده و در نتیجه جوانه زنی را افزایش داده است (Shakirova et al., 2003).

نتایج این آزمایش حاکی از روند کاهش وزن خشک گیاهچه سیاهدانه با افزایش شوری بود (شکل ۲). کاهش سطوح فتوسنتزکننده و مصرف بیش از حد انرژی در جهت کنترل و کاهش اثر تنش شوری برای برقراری تعادل اسمزی به منظور حفظ آماس

وزن تر (شکل ۵ - B) و خشک اندام هوایی (شکل ۵ - C) و در نهایت افزایش وزن خشک گیاهچه (شکل ۲) گردید. همچنین گزارش شده است که کاربرد سالیسیلیک اسید سبب افزایش وزن خشک گیاهچه های گندم گردید (Singh and Usha, 2003). سالیسیلیک اسید موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه ذرت در شرایط تنش شوری گردید (Khodary, 2004). گیاه گندم نیز که بذره‌های آن با سالیسیلیک اسید تیمار شده بودند، دارای تعداد برگ بیشتر و وزن تر و خشک بالاتری نسبت به گیاهان شاهد بودند (Hayat and Ahmad, 2007).

نتیجه گیری

در این مطالعه پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید سبب افزایش تمامی صفات هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش گردید. بنظر می رسد غلظت های بالاتر سالیسیلیک اسید (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار) موجب افزایش جوانه زنی و بهبود رشد گردید و در نهایت با توجه به ارزان بودن و در دسترس بودن سالیسیلیک اسید، استفاده از این ترکیب بصورت پرایمینگ بذر جهت افزایش تحمل گیاهچه های سیاهدانه به تنش شوری پیشنهاد می گردد.

خشک آن و طول اندام هوایی و وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه سیاهدانه می گذارد (Hajar et al., 1996). اثرات مثبت سالیسیلیک اسید بر رشد را می توان به علت تأثیر آن بر سایر هورمون های گیاهی دانست. بطور مثال در گندم سالیسیلیک اسید موجب تغییر در تعادل هورمون های اکسین، سیتوکینین و ABA گردید که نتیجه آن افزایش رشد در شرایط غیر تنش و بهبود رشد و مقاومت در تنش شوری بود (Shakirova et al., 2003). گزارش شده است که افزایش سیستم ریشه ای یکی از عواملی است که می تواند به افزایش محصول کمک نماید زیرا امکان جذب آب و مواد معدنی بیشتری را برای گیاه فراهم می کند، بطوریکه در گیاه لوبیا، سالیسیلیک اسید اثرات اکسین را در سیستم ریشه دهی بهبود بخشید (Hayat and Ahmad, 2007). وزن تر و خشک ریشه چه (شکل ۴) و وزن تر و خشک اندام هوایی (شکل ۵) با افزایش غلظت نمک کاهش یافت. بطوریکه این نتایج با نتایج غلام و همکاران (Ghoulam et al., 2002) و اکسو و همکاران (Okcu et al., 2005) مطابقت داشت. پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید سبب افزایش وزن تر (شکل ۴ - B) و خشک ریشه چه (شکل ۴ - C) و

منابع

References

- Abdul-baki, A.A., and J.D. Anderson, 1970. Viability and leaching of sugars from germinating barely. *Crop Sci.* 10: 31-34.
- Al-Taisan Wafa'a, A., 2010. Comparative effects of drought and salt stress on germination and seedling growth of *Pennisetum divisum* (Gmel.) Henr. *Amer. J. Appl. Sci.* 7: 640-646.
- Azhdari, G.H., A. Tavili, and M.A. Zare, 2010. Effects of various salts on the germination of two cultivars of *Medicago sativa*. *Frontiers Agric.* 4: 63-68.
- Baalbaki, R.Z., R.A. Zurayk, R.A. Blelk, and S.N. Tahouk, 1999. Germination and seedling development of drought tolerant and susceptible wheat under moisture stress. *Seed Sci. and Technol.* 27:291-302.
- D.Emami, S., and N. M.Hosseini, 2008. Cultivation and production of certain herbs and spices. Univ. Tehran Press. P.93-97. [In Persian].
- El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul.* 42: 215-224.
- Farooq, M., S.M.A. Basra, R. Tabassum, and N. Ahmed, 2006. Evaluation of seed vigor enhancement techniques on physiological and biochemical basis in coarse rice (*Oryza sativa* L.). *Seed Sci. and Technol.* 34: 741-750.
- Ghoulam, C.F., F. Ahmed, and F. Khalid, 2001. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ Exp. Bot.* 47: 139-150.

- Hajar, A.S., M.A. Zidan, and H.S. Al-zahrani, 1996.** Effect of salinity stress on the germination, growth and physiological activities of *Nigella sativa* L. Gulf. J. Sci. Res. 14: 445-454.
- Hanan, E.D., 2007.** Influence of salicylic acid on stress tolerance during seed germination of *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. Biol. Res. 1: 40- 48.
- Hayat, S., and Ahmad, A., 2007.** Salicylic acid: a plant hormone. Springer publication.
- Hosseini, A. and A. Koocheki, 2007.** Effects of different seed priming on germination percentage and rate of sugar beet. Iranian J Field crops and Res. 1: 69-76. [In Persian].
- Judi, M., and F. Sharifzadeh, 2004.** Hydropriming effects on different varieties of *Hordeum*. J. Desert. 3: 99-108.
- Kabiri, R., H. Farahbakhsh, and F. Nasibi, 2012.** Effect of drought stress and its interaction with salicylic acid on black cumin (*Nigella sativa*) germination and seedling growth. World Appl. Sci. J. 18: 520-527.
- Kafi, M., A. Nezami, H. Hosseini, and A. Masoomi, 2005.** Physiological effects of drought stress induced by polyethylene glycol on germination of lentil. Iranian J Field crops and Res. 3: 69-80. [In Persian].
- Katember, J., I.A. Ungar, and P. Mitchell, 1998.** Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). Ann. Bot. 82: 167- 175.
- Kaya, M.D., and S. Day, 2008.** Relationship between seed size and NaCl on germination, seed vigor and early seedling growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Afr. J. Agr. Res. 3: 787-791.
- Kaydan, D., and M. Yagmur, 2008.** Germination, seedling growth and relative water content of shoot in different seed sizes of triticale under osmotic stress of water and NaCl. Afr. J. Biotechnol. 7: 2862-2868.
- Khodary, S.E.A., 2004.** Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. Int. J. Agri. Biol. 6: 5-8.
- Maguire, J.D., 1962.** Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci. 2: 176-177.
- Okcu, G., M. Demir Kaya, and M. Atak, 2005.** Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.), Turk. J. Agr. Forest. 29: 237- 242.
- Omidbaigi, R., 2007. Production and processing of medicinal plants. Behnashr Press, 438. [In Persian].
- Rajasekaran, L.R., A. Stiles, M.A. Surette, A.V Sturz, T.J. Blake, C. Caldwell, and J. Nowak, 2002.** Stand Establishment Technologies for Processing Carrots: Effects of various temperature regimes on germination and role of salicylates in promoting germination at low temperatures. Can. J. Plant Sci. 82: 443-450.
- Raskin, I., 1992.** Role of salicylic acid in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43: 439-463.
- Safarnejad, A., S.V.A. Sadr, and H. Hamidi, 2007.** Effect of salinity stress on morphological characters of *Nigella sativa*. Iranian J Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Res. 15: 75-84. [In Persian].
- Shakirova, F.M., A.R. Sakhabutdinova, M.V. Bozrutkova, R.A. Fatkhutdinova, and D.R. Fatkhutdinova, 2003.** Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164: 317-322.
- Shannon, M.C., 1986.** Breeding, selection and the genetics of salt tolerance. In: Salinity tolerance in Plants. (Eds: R. C. Staples, and G. H. Toenniessn). John Wiley. p. 231-252.
- Singh, B. and K. Usha, 2003.** Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regul. 39: 137-141.
- Windauer, L., A. Altuna, and R. Benech-Arnold, 2007.** Hydrotime analysis of *Lesquerella fendleri* seed germination response to priming treatments. Int. Crop and Product. 25: 70-74.