Archive of SID

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 8, No.: 2, Autumn and Winter 2020
(pp: 155-171)
DOI: 10.22034/ijsst.2019.121037.1177

"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هشتم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۸
(ص ۱۷۱-۱۵۵)

بهبود جوانه‌زنی، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده شده گاوزبان اروپایی با استفاده از اسید آسکوربیک تحت تنش شوری

پریسا شیخ‌زاده‌مصدق[1*]، حمید شفیع‌یار[2]، سعید خماری[3]، حمیدرضا محمددوست چمن‌آباد[4]

۱. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۳. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۴. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳)

چکیده

باتوجه به اهمیت گاوزبان اروپایی و جوانه‌زنی غیریکنواخت و ضعیف این گیاه در نتیجه فرسودگی طی انبارداری و فراوانی منابع آب و خاک شور در کشور، این پژوهش به منظور بررسی تاثیر پیش‌تیمار و فرسودگی بذر بر جوانه‌زنی، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی تحت تنش شوری، به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش شوری (صفر، ۴، ۸ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر)، پیش‌تیمار بذر (شاهد و پیش‌تیمار با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت) و مدت فرسودگی بذور (صفر، ۸ و ۱۴ ساعت) بود. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری و مدت‌زمان فرسودگی، درصد و سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه‌ها کاهش یافت. کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها تحت تنش شوری حدود ۷۵ تا ۷۸ درصد بود. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و اسیدآمینه پرولین گیاهچه‌ها تحت تنش شوری افزایش یافت که این افزایش در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بود. پیش‌تیمار بذر موجب افزایش معنی‌دار خصوصیات جوانه‌زنی، رشد و پرولین گیاهچه‌ها در تمام سطوح شوری و فرسودگی گردید. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده در شرایط بدون فرسودگی و فرسودگی به مدت ۱۴ ساعت به ترتیب در حدود ۱/۶ و ۲/۵ برابر بود. به‌طور کلی، پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک از طریق افزایش قدرت بذر و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها، از اثرات منفی تنش شوری و فرسودگی کاسته و موجب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی در شرایط مساعد و نامساعد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پیش‌تیمار بذر، رشد گیاهچه، فرسودگی، گاوزبان اروپایی.

Improvement of seed germination, growth and biochemistry characteristic of borage seedling from deteriorated seeds under salinity stress using ascorbic acid pretreatment

P. Sheikhzadeh Mosaddegh[1], H. Shafiyar[2], S. Khomari[3], H.R. Mohammad Doost[4]

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. MSc. Graduated student of Seed Sciences and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
4. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
(Received: Mar. 07, 2018 – Accepted: Feb. 12, 2019)

Abstrct

Borage is one of the important medicinal plants with unequal and poor seed germination as a result of deterioration during storage. With attention to abundance of salty water and soils in country, this research was contacted to study of the effect of priming and deterioration of seed on germination, growth and biochemistry characteristic of borage under salinity stress. The experimental treatments were salinity stress, seed priming and deterioration duration (0, 8 and 14 hours). The results showed that percentage and rate of germination, seedling dry weight and length and weight were decreased with increasing of salinity stress levels and duration of deterioration. Seedlings dry weight loss was about 75% to 78% under salinity stress. Activity of peroxidase and catalase enzymes and proline content in seedling were increased under salinity stress, and this increase in seedlings from primed seeds was significantly higher than those of control seeds. Seed priming significantly increased the seed germination, growth and prolin content of seedling in both salinity stress and deterioration conditions. Seed priming caused a 1.6 and 2.5- fold increase in the catalase activity of seedlings derived from undeteriorated and deteriorated (14 hours) seeds, respectively. Generally, seed priming with ascorbic acid was reduced the negative effects of salinity stress and deterioration through increasing seed vigor and improving the biochemical properties of seedlings, and led to improve the seed germination and seedling growth under favorable and unfavorable conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, Deterioration, Medicinal plant, Seed priming, Seedling growth.

* Email: sheikhzadehmp@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گاوزبان اروپایی با نام علمی *Borago officinalis* L.، گیاهی علفی و یکساله است که ارتفاع آن به حدود ۱۲۰-۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. این گیاه دارای خواص دارویی بسیار فراوانی است که سبب افزایش اهمیت آن شده است. این گیاه برای تنظیم متابولیسم و ترشحات سیستم هورمونی بدن بسیار مناسب می‌باشد. گلبرگ‌های گاوزبان معمولاً جهت رفع علائم سرماخورگی، درمان برونشیت و عفونت‌های تنفسی، ناراحتی‌های گوارشی و قلبی عروقی نیز استفاده می‌شود و به‌طور عمومی به‌عنوان یک ضد التهاب تجویز می‌شود. اسید اولئیک و اسید پالمتیک موجود در گل این گیاه، دارای اثرات کاهنده کلسترول خون نیز است. امروزه ثابت شده که برگ‌های این گیاه دارای خاصیت ضد افسردگی، ضد استرس‌های روحی و آرامش دهنده و تسکین دهنده قلب است. روغن بذور گاوزبان که غنی از اسیدهای چرب غیراشباع است برای درمان رماتیسم، اگزما و دیگر ناراحتی‌های پوستی مزمن مورد مصرف قرار می‌گیرد (Salehi Sormagi, 2009).

اگر چه کلرید سدیم جزو ترکیبات طبیعی موجود در خاک است. اما، در غلظت بالا می‌تواند اثرات محدود کننده شدیدی بر جوانه‌زنی، رشد و قدرت تولید گیاهان داشته باشد (Allakhverdiev *et al.*, 2000; Koca *et al.*, 2007). مرحله جوانه‌زنی به‌عنوان یکی از مراحل حساس گیاه به تنش شوری به‌شمار می‌آید. تجمع نمک در سلول‌های در حال نمو، یکی از دلایل حساسیت این مرحله به شوری است که از طریق کاهش پتانسیل آب، ممانعت از جذب آب و سمیت یون‌های سدیم و کلر بر جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها تاثیر می‌گذارد (Ouji *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2004). ایجاد آسیب‌های فیزیولوژیکی در نتیجه تنش شوری، در نهایت موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌گردد (Yamaguchi and Blumwald, 2005; Rauf *et al.*, 2007).

مطالعات متعدد نشان داده است که تنش شوری موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها (Hassen *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2010; Soltani *et al.*, 2006) و افزایش معنی‌داری در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گردد (Ashrafi *et al.*, 2015). از طرف دیگر گیاهان با استفاده از مکانیسم‌هایی بیوشیمیایی همانند کنترل انتقال یون‌ها از ریشه به اندام هوایی، تنظیم اسمزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز) و افزایش محتوی اسیدآمینه پرولین از اثرات تخریبی حاصل از تنش شوری می‌کاهد (Tabatabaei and Naghibalghora, 2014).

یکی دیگر از مشکلات جدی موجود در بخش کشاورزی، فرسودگی بذر می‌باشد که بیش‌ترین تأثیر را بر قدرت و کیفیت بذر دارد (Alivand *et al.*, 2011). فرسودگی یا پیری بذر به فرآیند از دست رفتن کیفیت بذر با گذشت زمان اطلاق می‌شود که می‌تواند توانایی بذر برای زنده ماندن را کاهش دهد. فرسودگی بذر در صورت تاخیر در برداشت، حتی روی بوته مادری رخ داده و در خلال برداشت، فرآوری و انبار کردن نیز اتفاق می‌افتد (Coolbear, 1995). از مهم‌ترین تغییراتی که در طول فرسودگی بذر ایجاد می‌شود می‌توان به افزایش نفوذپذیری غشاهای سلولی، تخریب DNA و RNA ریبوزومی (McDonald, 1999) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز (Cakmak *et al.*, 2010; Ghahremani *et al.*, 2017) و سنتز پروتئین‌ها (Murthy *et al.*, 2003) اشاره کرد. این تغییرات منجر به کاهش قوه نامیه و قدرت بذر، کاهش جوانه‌زنی، سبز شدن و رشد گیاهچه (Seiadat *et al.*, 2012)، افزایش حساسیت به تنش‌های محیطی و در نهایت کاهش عملکرد می‌شود (Basra *et al.*, 2003). طی مطالعات عالیوند و همکاران (Alivand *et al.*, 2011) در بذور کلزا مشخص شده است که فرسودگی باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های حاصل از این بذور می‌گردد.

روش‌های متعددی برای بهبود جوانه‌زنی و کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

اثرات منفی تنش‌های محیطی و فرسودگی بذر وجود دارد که یکی از این تکنیک‌ها، استفاده از پیش‌تیمار بذر (پرایمینگ) است. مطالعات نشان داد که پیش‌تیمار بذر از طریق تقویت ترمیم اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و غشای سلولی و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌ها به‌ویژه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده و آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و بهبود استقرار گیاهچه‌ها تحت شرایط مساعد و نامساعد محیطی می‌گردد (McDonald, 2000). این اثرات بهبود دهندگی در پیش‌تیمار بذر به‌ویژه در مورد بذوری با قدرت و کیفیت پایین از اهمیت بالایی برخوردار است (Soltani *et al.*, 2006). از بین روش‌های مختلف پیش‌تیمار نمودن بذور که موجب بهبود کیفیت و قدرت بذور و گیاهچه‌ها می‌گردد، می‌توان به پیش‌تیمار بذور با اسید آسکوربیک اشاره نمود (Armin *et al.*, 2010). اسید آسکوربیک یک آنتی‌اکسیدان کوچک قابل حل در آب است که در سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن به‌ویژه پراکسیدهیدروژن در شرایط تنش‌های محیطی نقش دارد (Noctor and Foyer, 1998). کاربرد اسید آسکوربیک می‌تواند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بذر، موجب کاهش تنش اکسیداتیو در شرایط تنش شوری گردد (Shalata and Neuman, 2001). در بذور نخود و لوبیا (Al-qurainy, 2007)، در بذور گوجه فرنگی (Ghoohestani *et al.*, 2012) و در بذور باقلا (Azooz *et al.*, 2013) گزارش شده است که تحت تنش شوری، استفاده از تیمار اسید آسکوربیک موجب افزایش جوانه‌زنی و بهبود رشد و استقرار گیاهچه‌ها گردید.

با توجه به اینکه تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی کشور محسوب می‌شود، که این امر به‌تنهایی می‌تواند منجر به کاهش جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها گردد. تحت این شرایط، استفاده از بذور فرسوده که از قدرت جوانه‌زنی و سبز شدن پایینی برخوردار می‌باشد، موجب افزوده شدن این مشکل می‌شود. از آن‌جایی بهبود وضعیت جوانه‌زنی و یکنواختی رشد گیاهچه از طریق اعمال پیش‌تیمار بذر می‌تواند روی بهبود تولیدات گیاهان مخصوصا گیاهان دارویی تاثیر مثبت داشته باشد، در این پژوهش سعی شده تا تأثیر فرسودگی بذر و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک بر مولفه‌های جوانه‌زنی، رشد و خصوصیات گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده گاوزبان اروپایی تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل تنش شوری با چهار سطح (صفر، ۴، ۸ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر)، فرسودگی بذور با سه سطح (صفر (بدون فرسودگی)، ۸ و ۱۴ ساعت)، پیش‌تیمار بذر با استفاده از غلظت ۱۵۰میلی‌مولار اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت و بذور شاهد بود. برای انجام آزمون فرسودگی کنترل شده، ابتدا رطوبت بذور گاوزبان اروپایی مطابق روش ایستا (ISTA, 2010) به حدود ۲۰ درصد رسانده شد و سپس در داخل فویل‌های آلومینیومی و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت‌های تعیین شده در دستگاه آون قرار داده شدند. بعد از اعمال تیمار فرسودگی، بذور جهت پیش‌تیمار نمودن، به داخل ارلن‌های حاوی محلول تهیه شده با غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت در داخل ژرمیناتوری با دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. بعد از اتمام مدت زمان پیش‌تیمار، بذور در محیط آزمایشگاه خشکانده شدند. جهت انجام آزمون جوانه‌زنی، ۲۵ عدد بذر ضدعفونی شده با استفاده از قارچ‌کش بنومیل از هر تیمار و تکرار در پتری‌دیش‌های حاوی دو لایه کاغذ صافی منتقل شدند و کشت بر روی کاغذ صافی صورت گرفت. برای اعمال

www.SID.ir

Archive of SID

سطوح تنش شوری، مقدار ۴ میلی‌لیتر از محلول‌های شوری مورد نظر به هر پتری‌دیش اضافه شد. سپس نمونه‌ها برای جوانه‌زنی به ژرمیناتوری با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. شمارش نمونه‌ها به صورت روزانه و تا ۱۰ روز ادامه یافت. ظهور ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر به عنوان معیاری برای ارزیابی جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد. ارزیابی تعداد بذور جوانه‌زده به صورت روزانه تا ۱۰روز مورد شمارش قرار گرفته و ظهور ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر به عنوان معیاری برای جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد (ISTA, 2017; Najafi Navaey *et al.*, 2014; Ghassemi-Golezani and Dalil, 2011; ISTA, 2010). بعد از اتمام مدت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی بذور تعیین گردید. برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی از رابطه الیس و رابرتز (Ellis and Roberts, 1980) استفاده شد.

$$\overline{R} = \frac{\sum n}{\sum D.n}$$

در این فرمول $\overline{R}$: میانگین سرعت جوانه زنی، D: تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش و n: تعداد بذور جوانه‌زده در روز مورد نظر می‌باشد.

در پایان آزمون جوانه‌زنی (۱۰ روز)، طول گیاهچه‌های نرمال برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن خشک گیاهچه، گیاهچه‌های نرمال از هر تیمار و تکرار به صورت جداگانه در پاکت‌های کاغذی قرار داده شدند و در آونی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا خشک شوند.

جهت اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها، نمونه‌هایی از گیاهچه‌های نرمال به صورت تصادفی انتخاب شده و این نمونه‌ها تا زمان استخراج عصاره آنزیمی در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه عصاره آنزیمی از روش چانگ و کوا (Chang and Koa, 1988) استفاده شد. به منظور تهیه عصاره آنزیمی حدود ۰/۸ گرم ماده تر گیاهچه از هر نمونه در داخل ازت مایع و با استفاده از هاون چینی به‌طور کامل پودر شده و سپس شش میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCL ۰/۰۵ مولار (pH=۷)، $MgCl_2$ سه میلی‌مولار و EDTA یک میلی مولار) به آن اضافه شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. سپس، محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ابی (Aebi, 1984) استفاده شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط این آنزیم استوار است. به این ترتیب که ابتدا مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از محلول بلانک که شامل تمام مواد واکنش به جز عصاره آنزیمی بود، برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید. برای سنجش میزان فعالیت این آنزیم از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{Enzyme Activity (Unit/ ml)} = \frac{(\Delta A240nm)(3)(df)}{(40)\ (0.05)}$$

در این فرمول، df بیان کننده فاکتور رقیق‌سازی، عدد ۳ نشان دهنده حجم محلول مورد سنجش بر حسب میلی‌لیتر، ۰/۰۵ نشان دهنده حجم عصاره آنزیمی، عدد ۴۰ بیان کننده ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن و $\Delta A۲۴۰$ بیان کننده عدد قرائت شده توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۴۰ نانومتر می‌باشد. عدد به‌دست آمده بیان‌کننده میزان فعالیت آنزیم بر حسب هر واحد از آنزیم می‌باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چنس و مهلی (Chance and Maehly, 1955) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم بر پایه تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن است. مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار

www.SID.ir

Archive of SID

(pH=۷)، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره سلولی بود. پس از اضافه کردن عصاره سلولی، کاهش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی (ε=26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$) برای تتراگایاکول و با استفاده از فرمول زیر برحسب واحد در میلی‌لیتر عصاره آنزیمی محاسبه گردید.

$$\text{Enzyme Activity (Unit/ ml)} = \frac{(\Delta A470nm)(3)(df)}{(26.6)(0.05)}$$

که در آن، ΔA470 میزان جذب قرائت شده از هر نمونه توسط اسپکتروفتومتر، ۳ مقدار حجم واکنش، df ضریب رقت که از طریق تقسیم حجم نهایی واکنش مورد استفاده یعنی سه میلی لیتر (۳۰۰۰ میکرو لیتر) بر حجم اولیه عصاره آنزیمی مورد استفاده یعنی ۵۰ میکرولیتر محاسبه می‌شود، ۲۶/۶ ضریب خاموشی تتراگایاکول و ۰/۰۵ هم حجم عصاره آنزیمی مورد استفاده برحسب میلی‌لیتر است.

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از روش بتیس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) صورت گرفت. به این ترتیب که نیم گرم از بافت‌تر گیاهچه‌ها را در ۱۰ میلی‌لیتر از سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ سابیده شد و بعد محلول صاف گردید. به محلول حاصل شده ۲ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک‌اسید گلاسیال افزوده و به‌مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط واکنش افزوده و جذب روشناور را در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید و غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

در پایان کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های حاصل از این آزمایش، پس از اطمینان از نرمال بودن آن‌ها، با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که درصد جوانه‌زنی، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر فرسودگی، تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و نیز اثرات متقابل تنش شوری در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک قرار گرفت. اما، اثرمتقابل دوگانه فرسودگی در تنش شوری و اثرمتقابل سه‌گانه فرسودگی در تیمار بذر با اسید آسکوربیک در تنش شوری روی این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). در شرایط بدون تنش شوری، درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی (شاهد و پیش‌تیمار شده) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمارهای اعمال تنش شوری بود (شکل ۱ (A)). نتایج این پژوهش با یافته‌های خواجه‌حسینی و همکاران (Khajeh-hosseini *et al.*, 2003) در بذور سویا مطابقت دارد. میانگین درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی، با افزایش شدت تنش شوری کاهش یافت. کاهش درصد جوانه‌زنی بذور در شرایط تنش شوری را می‌توان به کاهش سرعت جذب اولیه آب و همچنین تاثیر منفی پتانسیل‌های اسمزی کم و سمیت یون‌های کلرید سدیم بر فرآیندهای بیوشیمیایی مراحل کاتابولیک (هیدرولیز آنزیمی مواد ذخیره‌ای بذر) و آنابولیک (ساخت بافت‌های جدید با استفاده از مواد هیدرولیز شده در مرحله‌ی اول) جوانه‌زنی نسبت داد (Khajeh-hosseini *et al.*, 2003). سلطانی و همکاران (Soltani *et al.*, 2006) گزارش کردند درصد و سرعت جوانه‌زنی از مهم‌ترین عوامل تاثیرپذیر در شرایط تنش شوری می‌باشند. شوری بر کارایی و نفوذپذیری غشای پلاسمایی و دیواره سلولی تاثیر منفی می‌گذارد و ورود و خروج یون‌ها را به داخل سلول مختل می‌کند. همچنین کاهش درصد جوانه‌زنی در اثر تنش شوری در بذور آفتابگردان (Kaya *et al.*, 2006) و بذور گندم (Soltani *et al.*, 2006) گزارش شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات فرسودگی، پیش‌تیمار بذر و تنش شوری بر جوانه‌زنی، رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی

Table 1- Analysis of variance of the deterioration, seed priming and salinity stress effects on seed germination, growth and biochemical traits of borage seedling

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Squares					
		درصد جوانه‌زنی Germination persentage	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	وزن خشک گیاهچه Seedling Dry Weight	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase Activity	فعالیت آنزیم پر کسیداز Peroxidase Activity	پرولین Proline
فرسودگی (Deterioration)	2	3576.22**	0.27**	0.0263**	0.0008**	255.49**	0.75**
تنش شوری (Salinity stress)	3	690.59**	0.0243**	0.0054**	0.0004**	204.62**	0.014**
پیش‌تیمار بذر (Seed priming)	1	3042**	0.1208**	0.1064**	0.0605**	7587.88**	.64**
فرسودگی × تنش شوری (Deterioration×Salinity stress)	6	13.26^{ns}	0.00017^{ns}	0.00017**	0.0000002^{ns}	11.35^{ns}	.084^{ns}
تنش شوری × پیش‌تیمار بذر (Salinity Stress×Priming)	3	36.37**	0.0026**	0.0002**	0.000001^{ns}	12.12^{ns}	0.23**
فرسودگی × پیش‌تیمار بذر (Deterioration×Priming)	2	112.66**	0.0177**	0.0019^{ns}	0.0009**	226.38**	0.154**
فرسودگی × شوری × پیش‌تیمار (Deterioration×Priming× Salinity Stress)	6	11.04^{ns}	0.00024^{ns}	0.00004^{ns}	0.0000005^{ns}	10.41^{ns}	0.00005^{ns}
خطا (Error)	48	7.55	0.00031	0.00004	0.00002	26.07	0.0002
(CV) (%)		4.96	3.42	5.16	4.42	11.58	0.45

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪

ns and **: non significant and significant at 1% level, respectively

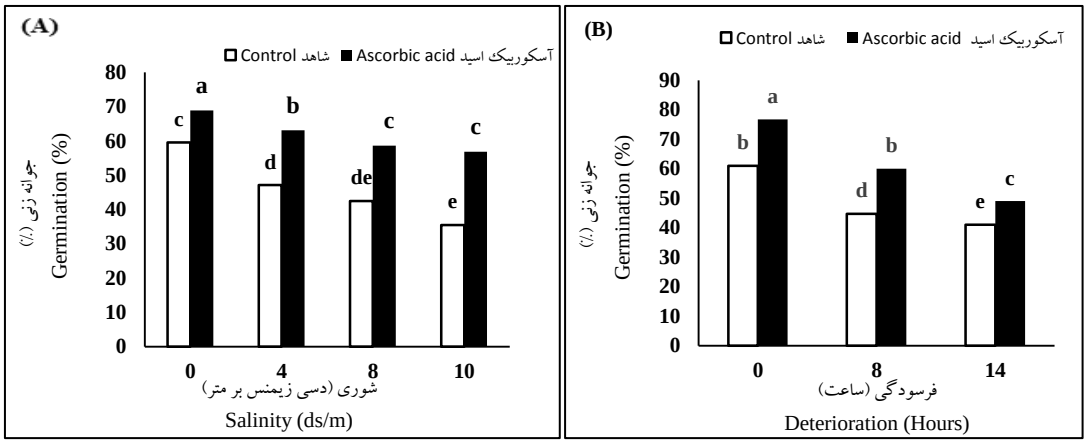
اگرچه با افزایش شدت تنش شوری درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی کاهش یافت، اما، در تمام سطوح تنش شوری (صفر تا ۱۰ دسی زیمنس بر متر) درصد جوانه‌زنی بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسیدآسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از بذور شاهد بود. بطوری که در تمام سطوح تنش شوری (۰ تا ۱۰ دسی زیمنس بر متر)، پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک موجب افزایش ۱/۱ تا ۱/۶ برابری درصد جوانه‌زنی بذور نسبت به شاهد گردید (شکل ۱ (A)). آرمین و همکاران (Armin *et al.*, 2010) نیز گزارش کردند علی‌رغم کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای هندوانه پیش‌تیمار شده و شاهد در نتیجه تنش شوری، پیش‌تیمار بذر با اسیدآسکوربیک موجب کاهش تاثیر منفی شوری بر این صفت گردید.

با افزایش شدت فرسودگی، درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون فرسودگی مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از درصد جوانه‌زنی سایر سطوح فرسودگی بود (شکل ۱ (B)). به نظر می‌رسد فرسودگی بذر از طریق افت قدرت بذر و کاهش مصرف مواد ذخیره‌ای بذر موجب کاهش رشد جنین و انتقال مواد ذخیره‌ای بذر به جنین می‌شود، در نتیجه با تداوم

www.SID.ir

Archive of SID

فرسودگی بذر، شرایط محیطی که بذرها در آن جوانه خواهند زد، محدودتر و میزان جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد (Mohammadi *et al.*, 2011). در تمام سطوح فرسودگی درصد جوانه‌زنی بذور پیش‌تیمار شده با اسید آسکوربیک به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از بذور شاهد به دست آمد (شکل ۱ (B)). اگرچه فرسودگی بذور موجب کاهش درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی گردید، اما پیش‌تیمار بذور با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت موجب افزایش ۱/۲ تا ۱/۳ برابری درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی در تمام سطوح فرسودگی گردید. هسو و همکاران (Hsu *et al.*, 2003) در بررسی تأثیر فرسودگی و پیش‌تیمار آبی بر بذور کدوی تلخ گزارش کردند که اگر چه فرسودگی بذر سبب افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی در دوره آب‌نوشی بذور می‌شود، اما پیش‌تیمار بذر باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد. فاروق و همکاران (Farooq *et al.*, 2006) نیز گزارش کردند که اسید آسکوربیک موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی در بذور برنج می‌گردد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.



شکل ۱- تاثیر شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (A) و فرسودگی و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (B) بر درصد جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی

Figure 1- The effects of salinity stress and seed priming with ascorbic acid (A) and seed deterioration and priming with ascorbic acid (B) on the germination of borage seeds

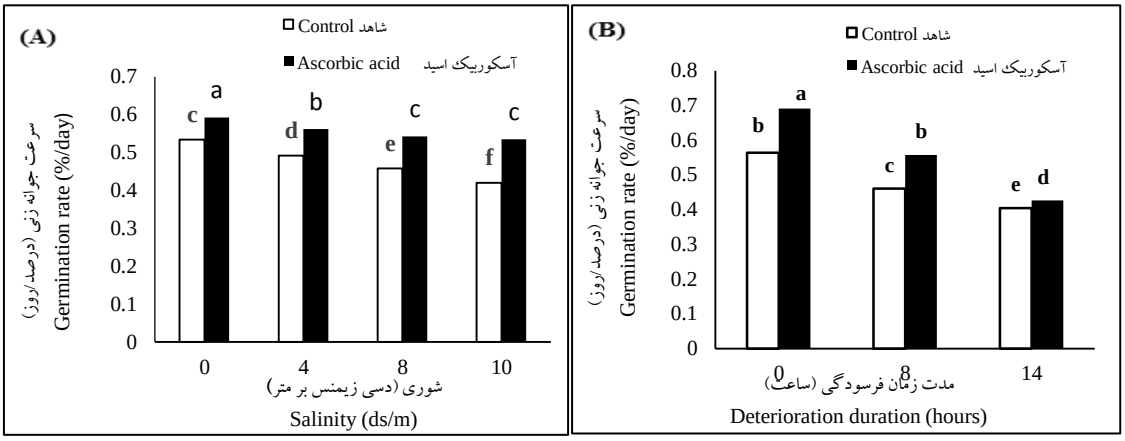
سرعت جوانه‌زنی

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر فرسودگی، تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و نیز اثرات متقابل تنش شوری در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک روی صفت سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). بذور گاوزبان اروپایی در شرایط بدون تنش شوری (شاهد) از سرعت جوانه‌زنی بالاتری نسبت به تیمارهای اعمال تنش شوری برخوردار بودند (شکل ۲ (A)). با افزایش غلظت نمک از ۴ به ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، سرعت جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی، کاهش یافت. کاهش سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری، ناشی اختلال در فرآیندهای متابولیکی و شیمیایی در بذر به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی و کاهش جذب آب به داخل بذر در مرحله‌ی آب‌نوشی می‌باشد (Ayaz *et al.*, 2000). کایا و همکاران (Kaya *et al.*, 2006) در بذور آفتابگردان و جمیل و همکاران (Jamil *et al.*, 2006) در بذور چغندرقند گزارش نمودند که شوری سبب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و تأخیر در ظهور و رشد گیاهچه‌ها می‌گردد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. پیش‌تیمار نمودن بذور با

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت موجب افزایش معنی‌دار (در حدود ۱/۱ تا ۱/۳ برابری) سرعت جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی در تمام سطوح تنش شوری نسبت به بذور شاهد گردید. با افزایش شدت تنش شوری از ۴ به ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور شاهد معنی‌دار بود، در حالیکه این کاهش در بذور پیش‌تیمار شده با اسید آسکوربیک در سطوح تنش شوری ۸ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر معنی‌دار نبود (شکل ۲ (A)). این امر نشان می‌دهد که پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک موجب کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شوری در سطوح بالای تنش گردیده و حتی موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی در این شرایط می‌گردد. آرمین و همکاران (Armin *et al.*, 2010) گزارش کردند که با افزایش سطح شوری، بذرهای پیش‌تیمار شده در مقایسه با شاهد کارایی بهتری نشان دادند و حتی سرعت جوانه‌زنی در این شرایط نیز افزایش یافته است.



شکل ۲- تاثیر شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (A) و فرسودگی و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (B) بر سرعت جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی

Figure 2- The effects of salinity stress and seed priming with ascorbic acid (A) and seed deterioration and priming with Ascorbic acid (B) on the germination rate of borage seeds

با افزایش شدت فرسودگی سرعت جوانه‌زنی بذور گاوزبان اروپایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲ (B)). بطوری که کمترین و بیشترین سرعت جوانه‌زنی در بذور گاوزبان اروپایی به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و فرسودگی بذور به مدت ۱۴ ساعت بود. از آنجایی که فرسودگی بذور می‌تواند موجب تخلیه ذخایر غذایی، پراکسیداسیون لیپیدها، نابودی اندامک‌ها و غشاها، فعال شدن آنزیم‌های هیدرولیز کننده و یا تجمع مواد سمی گردد، بنابراین این امر موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور می‌گردد (McDonald, 1999). بنابراین، کشت بذرهای فرسوده شده به دلیل پایین بودن سرعت جوانه‌زنی از غیر یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن نیز برخوردار خواهند بود که در نهایت استقرار ضعیف گیاهچه‌ها را به همراه خواهد داشت. اگر چه فرسودگی بذور گاوزبان اروپایی موجب شد تا سرعت جوانه‌زنی در حدود ۶۲ تا ۷۲ درصد کاهش یابد، با این وجود، در تمام سطوح فرسودگی، پیش‌تیمار بذور با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت موجب افزایشی در حدود ۱/۲ برابری سرعت جوانه‌زنی در بذور قوی (بدون فرسودگی) و ۱/۰۵ و ۱/۲ برابری سرعت جوانه‌زنی به ترتیب در بذور فرسوده شده به مدت ۸ و ۱۴ ساعت نسبت به شاهد گردید (شکل ۲ (B)). تسریع جوانه‌زنی در بذور پیش‌تیمار شده می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده مثل آلفا-آمیلاز، افزایش مقدار ATP،

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش سنتز RNA و DNA و بهبود فعالیت متابولیکی جهت جوانه‌زنی باشد (Afzal *et al.*, 2002). در بررسی اثر پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور برنج (Farooq *et al.*, 2006) و بذور کلزا (Alivand *et al.*, 2011) گزارش شده است که پیش‌تیمار با استفاده از اسید آسکوربیک موجب بهبود کیفیت بذور فرسوده شده گردیدکه این امر باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی این بذور نسبت به بذور شاهد شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

وزن خشک گیاهچه

وزن خشک گیاهچه بطور معنی‌داری تحت تاثیر فرسودگی بذر، تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و نیز اثرات متقابل فرسودگی در تنش شوری و تنش شوری در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک قرار گرفت. اما اثر متقابل دوگانه فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و اثر متقابل سه‌گانه فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک در تنش شوری روی این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). اگرچه تنش شوری موجب کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها گردید، اما پیش‌تیمار بذر با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت حتی تحت تنش شوری نیز موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه‌ها نسبت به تیمار شاهد گردید. بطوری که در شرایط بدون تنش با پیش‌تیمار نمودن بذور گاوزبان اروپایی وزن خشک گیاهچه‌ها در حدود ۱/۶ برابر و در شرایط اعمال تنش شوری (۴، ۸ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر شوری) در حدود ۱/۸ تا ۱/۹ برابر نسبت به شاهد بیشتر بود (شکل ۳ (A)). برتری بذور پیش‌تیمار شده از نظر تولید گیاهچه‌های بزرگ‌تر را می‌توان به سرعت جوانه‌زنی بالاتر (شکل ۲) نسبت داد. با توجه به این که بذرهای پیش‌تیمار شده سرعت جوانه‌زنی بالاتری نسبت به بذرهای شاهد داشتند، این امر موجب شد تا در یک زمان معین، سریع جوانه زده و گیاهچه‌های حاصله طویل‌تر و وزن خشک بیش‌تری نسبت به بذور شاهد تولید کنند که این امر موجب استقرار بهتر و تولید گیاهچه‌های قوی‌تری می‌شود (Shekari *et al.*, 2010). سیوریتپ و همکاران (Sivritepe *et al.*, 2003) گزارش کردند که تأثیر پیش‌تیمار بذر در افزایش رشد گیاهچه‌های حاصل از بذور خربزه تحت تنش بیش‌تر است که با نتایج حاصل شده مطابقت می‌کند.

مطابق شکل ۳ (B)، با اعمال تنش شوری، وزن خشک گیاهچه‌ها بطور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری که بیش‌ترین میانگین وزن خشک گیاهچه در شرایط بدون تنش (شاهد) مشاهده شد. کاهش وزن خشک گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی تحت تنش شوری در حدود ۷۵ تا ۷۸ درصد بود (شکل ۳ (B)). توکل افشاری و همکاران (Tavakkol Afshari *et al.*, 2012) گزارش نمودند که با افزایش غلظت کلرید سدیم وزن خشک گیاهچه‌های چاودار کوهی کاهش یافت. همچنین در تمام سطوح تنش شوری، با افزایش شدت فرسودگی میانگین وزن خشک گیاهچه‌ها بطور معنی‌داری کاهش یافت. بطوری که در این شرایط، وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور قوی (بدون فرسودگی) بطور معنی‌داری بیشتر از وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده شده به مدت ۸ و ۱۴ ساعت بود. علت این امر ناشی از پایین بودن سرعت جوانه‌زنی بذور ضعیف می‌باشد (شکل ۳ (B)). فرسودگی بذور از طریق کاهش سرعت جوانه‌زنی موجب کاهش وزن خشک گیاهچه‌ها گردید که با نتایج بسرا و همکاران (Basra *et al.*, 2003) روی پنبه مطابقت دارد.

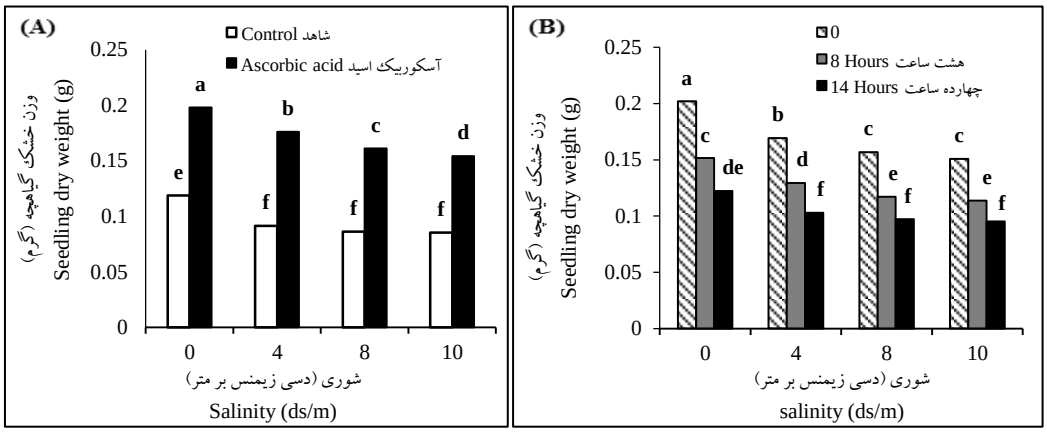
فعالیت آنزیم کاتالاز

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ها، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح فرسودگی، تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و نیز اثر متقابل فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک قرار گرفت (جدول ۱). اما، تأثیر فرسودگی در تنش شوری، تنش شوری در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و فرسودگی در تنش شوری در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک بر این صفت معنی‌دار نبود. با افزایش شدت تنش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز

www.SID.ir

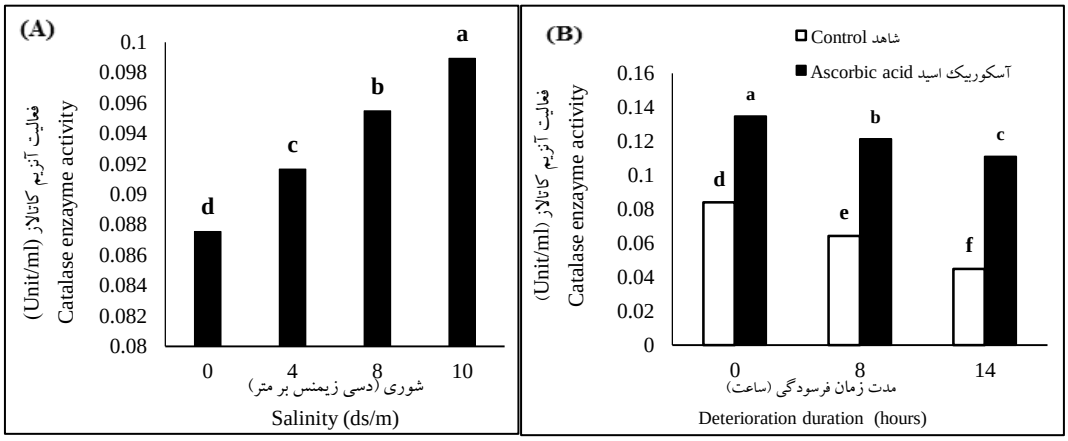
Archive of SID

گیاهچه‌های حاصل از بذور گاوزبان اروپایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ها در شرایط تنش ۱۰ میلی زیمنس بر متر مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سطوح تنش بود. کمترین فعالیت این آنزیم نیز در تیمار بدون تنش شوری مشاهده گردید (شکل ۴ (A)). اعمال تنش شوری با غلظت‌های ۴ تا ۱۰ میلی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم، موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در حدود ۱/۰۴ تا ۱/۱۳ برابری نسبت به شرایط بدون تنش گردد که با نتایج اشرف و علی (Ashraf and Ali, 2008) مطابقت دارد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را تحت تنش شوری روی گیاه جو نیز گزارش شده‌است که این افزایش فعالیت نمایانگر مقاومت گیاه در مقابل شوری است (El-Tayeb, 2005). گزارش شده که ROSهای تولیدی در شرایط تنش شوری باعث تخریب پروتئین‌ها می‌شود، لذا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کربونیک آنیدراز نقش مهمی را برای خنثی نمودن و تخریب ROSها ایفا می‌کنند (Caruso *et al.*, 2009).



شکل ۳- تاثیر شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (A) و فرسودگی و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (B) بر وزن خشک گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی

Figure 3- The The effects of salinity stress and priming with ascorbic acid (A) and seed deterioration and salinity stress (B) on the dry weight of borage seedling



شکل ۴- تاثیر تنش شوری (A) و فرسودگی و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (B) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی

Figure 4- The effects of salinity stress (A) and seed deterioration and priming with ascorbic acid (B) on the activity of catalase enzayme in the borage seedling

www.SID.ir

Archive of SID

با افزایش شدت فرسودگی بذور، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذور گاوزبان اروپایی (شاهد و پیش‌تیمار شده با اسید آسکوربیک) بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۴ (B)). از آنجایی که آنزیم‌ها ماهیت پروتئینی دارند، با تخریب پروتئین‌ها در اثر فرایند فرسودگی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز نیز کاهش می‌یابد. بطوریکه، انصاری و همکاران (Ansari *et al.*, 2013) کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان از جمله کاتالاز در نتیجه فرسودگی بذور چاودار کوهی را ناشی از افزایش آسیب رادیکال‌های آزاد می‌دانند. سعادت و همکاران (Seiadat *et al.*, 2012) در بذور ذرت گزارش نمودند که در اثر فرسودگی بذور فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ها کاهش یافت که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در تمام سطوح فرسودگی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد بطور معنی‌داری کمتر از میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده بود. فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با اسید آسکوربیک در شرایط بدون فرسودگی (بذور قوی) در حدود ۱/۶ برابر و در شرایط فرسودگی بذور به مدت ۸ و ۱۴ ساعت به ترتیب در حدود ۱/۹ تا ۲/۵ برابر بیشتر از تیمار شاهد گردید (شکل ۴ (B)). آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین اجزای سیستم آنتی اکسیدان می‌باشد که با افزایش شدت تنش افزایش می‌یابد بطوری که استفاده از پیش‌تیمار بذرها سبب افزایش بیشتر میزان فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های تحت تنش را نسبت به گیاهچه‌های پیش‌تیمار نشده می‌شود (Moosavi *et al.*, 2009).

فعالیت آنزیم پرکسیداز

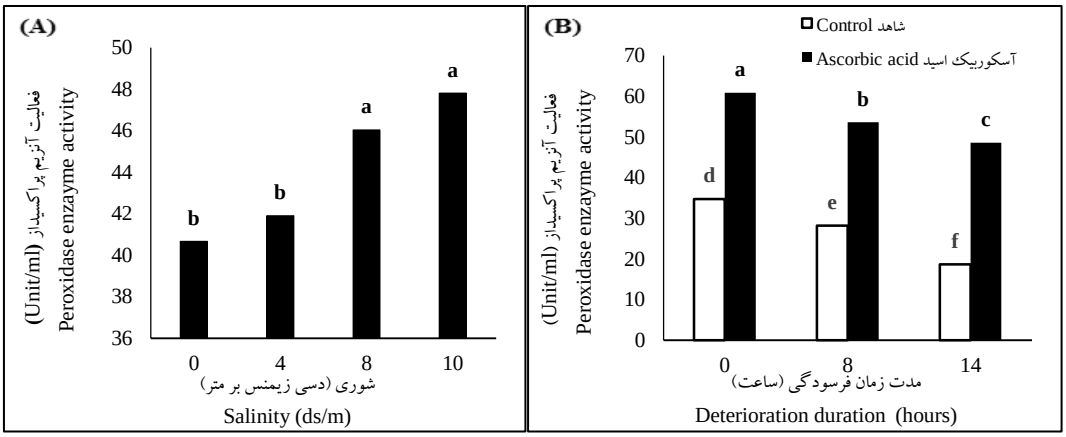
فعالیت آنزیم پرکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح فرسودگی، پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک ، تنش شوری و اثر متقابل فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک قرار گرفت (جدول ۱). با اعمال تنش شوری، فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی افزایش یافت. فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌ها در شرایط تنش شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سطوح تنش بود اما اختلاف معنی‌داری با غلظت ۸ دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم را نداشت. کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌ها در شرایط بدون تنش مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۴ دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم نداشت (شکل ۵ (A)). افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌ها در اثر تنش شوری در پنبه (Meloni *et al.*, 2003) نیز گزارش شده است. این افزایش تحت تاثیر تنش شوری منجر به کاهش تخریب غشای سلولی و آسیب به گیاهچه‌های در حال رشد می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان از جمله کاتالاز و پراکسیداز به عنوان عامل کلیدی جهت حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری بشمار می‌آید (Meloni *et al.*, 2003).

همانطور که در شکل ۵ (B) مشاهده می‌شود، اگرچه با افزایش مدت فرسودگی بذر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بطور معنی‌داری کاهش یافت. اما، با پیش‌تیمار نمودن بذور قوی و فرسوده شده‌ی گاوزبان اروپایی با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت، موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌ها نسبت به تیمار شاهد گردید. در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده، بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط بدون فرسودگی به‌دست آمد. (شکل ۵ (B)). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان از جمله کاتالاز و پراکسیداز در اثر فرسودگی بذر ناشی از آسیب رسیدن به سنتز RNA و در نتیجه کاهش تولید پروتئین‌ها است. از طرف دیگر، افزایش توسط میزان گونه‌های فعال اکسیژن است که موجب تخریب این آنزیم‌ها می‌شود (Basra *et al.*, 2003; Bailly *et al.*, 2004). استفاده از پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌های گاوزبان

www.SID.ir

Archive of SID

اروپایی می‌شود (شکل‌های ۴ و ۵) این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند (Ansari *et al.*, 2013) که این امر موجب بهبود درصد (شکل ۱) و سرعت جوانه‌زنی (شکل ۲) در بذرها می‌شود. آسکوربیک اسید یک آنتی اکسیدان کوچک قابل حل در آب است که در سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه پراکسید هیدروژن نقش دارد به علاوه به‌طور مستقیم در خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید، اکسید منفرد یا سوپراکسید به عنوان یک آنتی اکسیدان ثانویه نقش ایفا می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر افزایش فعالیت آنزیم‌ها نیز توسط ورما و همکاران (Verma *et al.*, 2003) در بذور کلزا و سریواستا (Srivastava *et al.*, 2001) در بذور نخودفرنگی گزارش شده است.



شکل ۵- تاثیر تنش شوری (A) و فرسودگی و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (B) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی

Figure 5- The effects of salinity stress (A) and seed deterioration and priming with ascorbic acid (B) on the activity of peroxidase enzayme activity in the borage seedling

پرولین

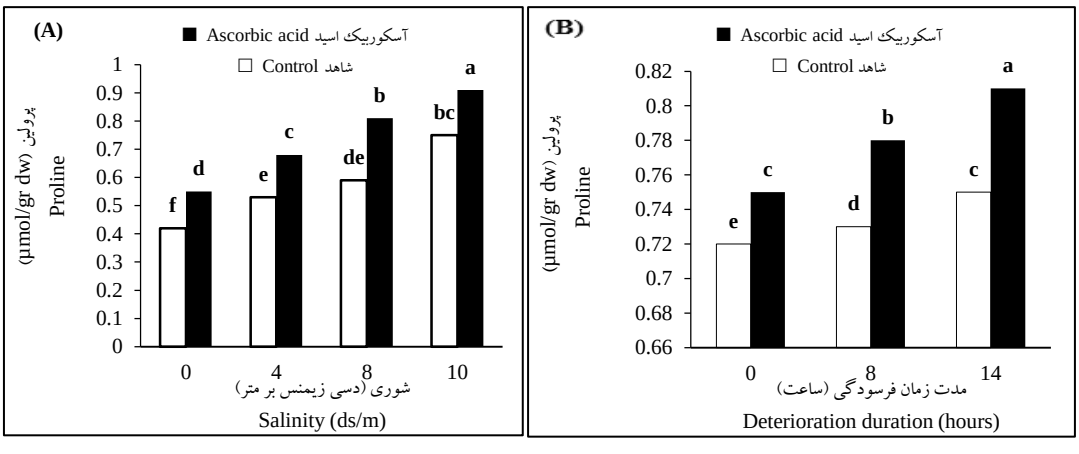
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که محتوای پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح فرسودگی، تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک، اثرات متقابل دوگانه تنش شوری در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک و فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک قرار گرفت. ولی اثر متقابل دوگانه فرسودگی در تنش شوری و اثر متقابل سه‌گانه فرسودگی در پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک در تنش شوری روی این صفت معنی‌دار نبود. افزایش شدت تنش شوری موجب افزایش میزان پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی شد به‌طوری که بیشترین میزان پرولین گیاهچه‌ها در شرایط تنش ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر سطوح تنش شوری بود (شکل ۶ (A)). در شرایط تنش شوری محتوای پرولین به دلیل تحریک یا فعال شدن بیوسنتز پرولین، کاهش در اکسیداسیون آن افزایش می‌یابد (Khan *et al.*, 2010). همچنین پرولین بعنوان یک اسمولیت عمل کرده و پتانسیل اسمزی سلول را کاهش داده و یون‌های سمی را جذب می‌کند (Woodward and Bennett, 2005) و نقش مهمی را در حفاظت گیاهچه‌ها از تنش اسمزی بازی می‌کند (Khan *et al.*, 2010). گزارش‌هایی مبنی بر افزایش میزان اسید آمینه پرولین تحت تنش شوری در گیاهچه‌های برنج (Summart *et al.*, 2010) و لوبیا چشم بلبلی (Patel *et al.*, 2010) وجود دارد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در تمام سطوح تنش شوری (صفر تا ۱۰ میلی زیمنس بر متر)، میزان اسید آمینه پرولین

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با اسید آسکوربیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان این اسیدآمینه در گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد بود (شکل ۶ (A)). پیش‌تیمار نمودن بذور گاوزبان اروپایی با استفاده از غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت موجب افزایش محتوای پرولین گیاهچه‌ها در حدود ۱/۲ تا ۱/۳ برابر در تیمارهای بدون تنش شوری و اعمال تنش شوری (۴ تا ۱۰ زیمنس بر متر) نسبت به شاهد گردید. پاسخ های سلولی کوتاه مدت و بلند مدت به تنش شوری در گیاهان شامل سنتز و تجمع ترکیبات اسمزی محافظی است که این ترکیبات موجب افزایش پتانسیل اسمزی سلول می‌شود. پرولین به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی بسیار فعال از طریق تنظیم اسمزی سیتوپلاسمی موجب ثبات غشاء و پروتئین در شرایط تنش شوری می‌گردد (Çelik and Atak, 2012; Abraham *et al.*, 2003; Tabatabaei and Naghibalghora, 2014). به همین دلیل یکی از مکانیسم‌های مقاومت به تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری افزایش میزان پرولین سلول در جهت حفاظت ساختارهای سلولی از اثرات سو تنش می‌باشد.

همانطور که در شکل ۶ (B) مشاهده می‌شود میزان اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذور گاوزبان اروپایی (پیش‌تیمار شده با اسید آسکوربیک و شاهد) با افزایش مدت فرسودگی بطور معنی‌داری افزایش یافت. میزان اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذور فرسوده شده به مدت ۱۴ ساعت بطور معنی‌داری بیشتر از سایر سطوح فرسودگی بودند. پیش‌تیمار نمودن بذور گاوزبان اروپایی با اسید آسکوربیک موجب افزایش معنی‌دار مقدار پرولین گیاهچه‌ها در بذور قوی و فرسوده (۸ و ۱۴ ساعت) شد. پیش‌تیمار نمودن بذور فرسوده شده به مدت ۱۴ ساعت با آسکوربیک اسید سبب افزایش در حدود ۱/۱ برابری در محتوای پرولین این گیاهچه‌ها نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده گردید (شکل ۶ (B)). بنابراین، پیش‌تیمار بذور گاوزبان اروپایی با استفاده از اسیدآسکوربیک موجب افزایش محتوای پرولین به نسبت به شاهد گردید. فرهودی و همکاران (Farhoudi *et al.*, 2011) با بررسی پیش‌تیمار بذور با کلرید سدیم به این نتیجه رسیدند که گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده دارای پرولین بیشتری نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد هستند.



شکل ۶- تاثیر شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (A) و فرسودگی و پیش‌تیمار بذر با اسید آسکوربیک (B) بر میزان پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی

Figure 6- The effects of salinity stress and seed priming with ascorbic acid (A) and seed deterioration and priming with ascorbic acid (B) on proline content of borage seedling

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری کلی

با توجه به اثرات منفی تنش شوری و فرسودگی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی، پیش تیمار بذر با استفاده از غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید آسکوربیک به مدت ۴۸ ساعت موجب بهبود جوانه‌زنی بذرها، رشد گیاهچه‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی می‌شود. به‌عبارت دیگر، بذرهای پیش‌تیمار شده گاوزبان اروپایی با استفاده از اسید آسکوربیک از طریق افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و محتوای اسیدآمینه پرولین موجب افزایش قدرت و کیفیت بذرهای فرسوده شده گاوزبان اروپایی و بهبود جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها تحت شرایط تنش شوری گردید. این افزایش دلیلی بر برتری این بذرها نسبت به شاهد در شرایط تنش شوری و فرسودگی است.

منابع

Reference

Abraham, E., G. Rigo, G. Szekely, R. Nagy, C. Koncz and L. Szabados, **2003.** Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis. Plant Mol. Biol. 51(3): 363-372.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121–126.

Afzal, I., N. Ahmad, S.M.A. Basra and R. Ahmad, 2002. Effect of different seed vigour enhancement techniques on hybrid maize (*Zea mays* L.). Pakistan J. . Agric. Sci. 39: 109-112.

Alivand, R., R. Tavakkol Afshari and F. Sharifzadeh, 2011. Effects of gibberellin, salicylic acid, and ascorbic acid on improvement of germination characteristics of deteriorated seeds of *Brassica napus*. (In Persian, with English abstract.) Iranian J. Field Crop Sci. 439: 561-571.

Allakhverdiev, S.L., A. Sakamoto, Y. Nishiyama, M. Inaba and N. Murata, 2000. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystem I and II in *Synechococcus* sp. J. Plant Physiol. 123(3): 1047- 1056.

Al-qurainy, F. 2007. Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. Res. J. Agric. Biol. Sci. 3: 714-722.

Ansari, O., F. Sharifzadeh, A. Moradi, M.S. Azadi and E. Younesi, 2013. Heat shock treatment can improve some seed germination indexes and enzyme activity in primed seeds with gibberellin of Mountain Rye (*Secale montanum*) under accelerated aging conditions. Cercetări Agronomice în Moldova. 4(156): 21-30.

Armin, M., M. Asgharipour and M. Razavi-Omrani, 2010. The effect of seed priming on germination and seedling growth of watermelon (*Citrullus Lanatus*). Adv. Environ. Biol. 4 (3), 501-505.

Ashraf, M., and Q. Ali, 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.

Ashrafi, E., J. Razmjoo, and M. Zahedi. 2015. The effect of salt stress on biochemical traits and relation with salt tolerant of alfalfa cultivars in field. (In Persian, with English abstract.) Agron. J. (Pajouhesh & Sazandegi). 108: 43-56.

Ayaz, F.A., A.R. Kadioglu, and R. Turgut. 2000. Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa*. Can. J. Plant Sci. 80(2): 373-378.

Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Sci. Res. 14(2): 93- 107.

Basra, S.M.A., N. Ahmad, M.M. Khan, N. Iqbal and M.A. Cheema, 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated ageing. Seed Sci. Technol. 31(3): 531-540.

www.SID.ir

Archive of SID

Bates, L.S., R.P. Waldren, and I.D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205–207.

Cakmak, T., O. Atici, G. Agar and S. Sunar, 2010. Natural aging-related biochemical changes in alfalfa (*Medicago Sativa* L.) seeds stored for 42 years. Int. Res. J. Plant Sci. 1(1): 1-6.

Caruso, G., C. Cavaliere, P. Foglia, R. Gubbiotti, R. Samperi and A. Lagana, 2009. Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. Plant Sci. 177: 570–576.

Çelik, Ö., and Ç. Atak, 2012. The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. Turk. J. Biol. 36: 339-356.

Chance, B., and A.C. Maehly, 1955. Assay of catalases and peroxidase. Methods Enzymol. 2: 764–775.

Chang, C.J., and C.H. Koa, 1988. H_2O_2 metabolism during sense scene of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. Plant Growth Regul. 25: 11–15.

Coolbear, P. 1995. Mechanisms of seed deterioration. p. 223-277. In A.S. Basra (ed.) Seed quality, basic mechanisms and agricultural implications. Food Products Press, New York.

Ellis, R.H., and E.H. Roberts, 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. p. 605-635. In P.D. Hebblethwaite (ed.) Seed production. Butterworths, London.

El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect salinity and salicylic acid. J. Plant Growth Regul. 45: 215-225.

Farhoudi, R., S. Saeedipour and D. Mohammadreza, 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. Afr. J. Agric. Res. 6(6): 1363-1370.

Farooq, M., S.M.A. Basra, I. Afzal and A. Khaliq, 2006. Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. Seed Sci. Technol. 34: 507- 512.

Ghahremani, S., M. Sedghi and R. Seyed Sharifi, 2017. Effect of different seed deterioration treatments and germination under different temperatures on the activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seedlings. (In Persian, with English abstract.) Iranian J. Seed Sci. Technol. 6(1): 205-218.

Ghassemi-Golezani, K. and B. Dalil. 2011. Seed germination and vigor test. first Edition. Jahad Daneshgahi- Mashhad. (In Persian)

Ghoohestani, A., H. Gheisary, Se. M. Zahedi and A. Dolatkhahi, 2012. Effect of Seed Priming of Tomato with Salicylic Acid, Ascorbic Acid and Hydrogen Peroxideon Germination and Plantlet Growth in Saline Conditions. Int. J. Agron. Plant Prod. 3: 700-704.

Hassen, A., S. Maher and H. Cherif, 2014. Effect of Salt Stress (NaCl) on Germination and Early Seedling Parameters of Three Pepper Cultivars (*Capsicum annuum* L.). J. Stress Physiol. Biochem. 10(1): 14-25.

Hsu, C.C., C.L. Chen, J.J. Chan and J.M. Sung, 2003. Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. Scientica Horticulturae. 98(3): 201–212.

International Seed Testing Association (ISTA). 2010. International rules for seed testing, Seed vigour testing, Chapter 15: 1-20.

Jamil, M., D.B. Lee, K.Y. Jung, M. Ashraf, S.C. Lee and E.S. Rha, 2006. Effec of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. J. Cent. Eur. Agric. 7(2): 273-282.

Kaya, M.D., G. Okcu, M. Atak, Y. Cikili and O. Kolsarici, 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Eur. J. Agron. 24(4): 291-295.

Khajeh-hosseini, M., A.A. Powell and I.J. Bingham, 2003. The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soybean seeds. Seed Sci. and Technol. 31(3): 715-725.

Khan, M.N., M.H. Siddiqui, F. Mohammad, M. Naeem and M.M.A. Khan, 2010. Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation. Acta Physiol. Plant. 32(1): 121-132.

www.SID.ir

Archive of SID

Koca, H., M. Bor, F. Ozdemir and I. Turkan, 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and prolin content of sesame cultivars. Environ. Exp. Bot. 60: 344-351.

McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. Seed Sci. Technol. 27: 177-237.

McDonald, M.B. 2000. Seed priming. p. 287-325. In M. Black and J.D. Bewley (eds.) Seed Technology and Its Biological Basis. Sheffield Academic Press, England.

Meloni, D.A., M.A. Oliva, C.A. Martinez and J. Cambraia, 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environ. Exp. Bot. 49(1): 69-76.

Mohamed, M. M.M. Azooz, A.M. Alzahrani and M.M. Youssef, 2013. The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.). Aust. J. Crop Sci.7(13): 2091-2100.

Mohammadi, H., A. Soltani, H.R. Sadeghipour, and H. Zeinali. 2011. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. Int J Plant Prod. 5(1): 65-70.

Moosavi, A., R. Tavakkol Afshari, F. Sharifzadeh and A. Aynehband, 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenoloxidase and peroxidase activities of four amaranth cultivars. J. Food, Agric. Environ. 7(3-4): 353- 358.

Murthy, U.M.N., P.P. Kumar and W.Q. Sun, 2003. Mechanisms of seed ageing different storable conditions for *Vigina radiata* L. wilczek: lipid peroxidation, sugar hydrolysis, maillard rections and their relationship to glass state transition. J. Exp. Bot. 54(384): 1057-1067.

Najafi Navaey, H., M. Yousefi Hzari, R. Ali Nezhad Seraji and H. Eslami, 2014. Germination reduce in Borage (*Borago officinalis* L.) seed under seed deteriorating conditions. Int. J. Farming Allied Sci. 3(4): 358-361.

Noctor, G., and C.H. Foyer, 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 249-279.

Ouji, A., S. El-Bok, M. Mouelhi, M.B. Younes and M. Kharrat, 2015. Effect of salinity stress on germination of five tunisian lentil (*Lens culinaris* L.) Genotypes. Eur. Sci. J. 11: 63-75.

Patel, R.P., S.S. Kajal, V.R. Patel, V.J. Patel and S.M. Khristi, 2010. Impact of salin water stress on nutrient uptake and growth of cowpea. Braz. J. Plant Physiol. 22 (1): 43-48.

Rauf, M., M. Munir, M.U. Hassan, M. Ahmad and M. Afzal, 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. Afr. J. Biotechnol. 6(8): 971-975.

Salehi Surmaghi, M.H. 2009. Medicinal plants and phytotherapy. (3th ed.). Publications nutrition. (In Persian)

Seiadat, S.A., A. Moosavi and M. Sharafizadeh, 2012. Effect of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different ageing treatments. Res. J. Seed Sci. 5(2): 51-62.

Shalata, A. and P.M. Neuman. 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. J. Exp. Bot. 52: 2207-2211.

Sharma, A.D., M. Thakur, M. Rana and K. Singh, 2004. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphatase activities in *Sorghum bicolor* L. Moench seeds. Afr. J. Biotechnol. 3(6): 308-312.

Shekari, F., R. Baljani, J. Saba, K. Afsahi and F. Shekari, 2010. Effect of seed priming with salicylic acid on growth characteristics of borage (*Borago officinalis* L.) plants seedlings. (In Persian, with English abstract.) Agroecol. J. 6(1): 47-53.

Sivritepe, N., H.O. Sivritepe and A. Eris, 2003. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. Scientia Horticulturae. 97(3-4): 229-237.

Soltani, A., M. Gholipoor and E. Zeinali, 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environ. Exp. Bot. 55(1-2): 195-200.

Srivastava, K., K.N. Tiwari, R. Singh, B.D. Singh and H.K. Jaiswal, 2001. Shoot regeneration from immature cotyledons of *Cicer arietinum*. Biol. Plant. 44: 333-337.

www.SID.ir

Archive of SID

Summart, J., P. Thanonkeo, S. Panichajakul, P. Prathepha and M.T. McManus, 2010. Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice, Khao Dawk Mali 105, callus culture. Afr. J. Biotechnol. 9(2): 145-152.

Tabatabaei, S.A. and S.M. Naghibalghora. 2014. The effect of salinity stress on germination characteristics and changes of biochemically of sesame seeds. Cercetări Agronomice în Moldova. 47(2): 61-68.

Tavakkol Afshari, R., O. Ansari, F. Sharifzade and A. Shayanfar, 2012. The role of priming on seed reserve utilization and germination of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under salinity stress. (In Persian, with English abstract.) Iranian J. Field Crop Sci. 2, 181-189.

Verma, S.S., U. Verma and R.P.S. Tomer, 2003. Studies on seed quality parameters in deteriorating seeds in Brassica (*Brassica campestris*). Seed Sci. Technol. 31(2): 389-396.

Woodward, A.J., and I.J. Bennett, 2005. The effect of salt stress and abscisic acid on proline production, chlorophyll content and growth of in vitro propagated shoots of *Eucalyptus camaldulensis*. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 82: 189-200.

Yamaguchi, T., and E. Blumwald, 2005. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. Trends Plant Sci. 10(12):615-620.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir