

## مقایسه اثر روش‌های آماده‌سازی بذر اسپرس بر بهبود تحمل تنش قلیایی و بازیابی آن

محمد دلاویز<sup>۱</sup>، حسین صادقی<sup>۱</sup>، هادی پیرسته انوشه<sup>۲\*</sup>، غلامحسین رنجبر<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

<sup>۲</sup> استادیار، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: [h.pirasteh@areeo.ac.ir](mailto:h.pirasteh@areeo.ac.ir)

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۴)

### چکیده

جوانه‌زنی اولین و از مهم‌ترین مراحل زندگی اسپرس (*Onobrychis viciifolia*) است که حساسیت ویژه‌ای به تنش‌های محیطی مانند تنش قلیایی دارد. پژوهش حاضر، به منظور بررسی اثر روش‌های مختلف آماده‌سازی بذر بر بهبود تحمل گیاه اسپرس به تنش قلیایی در مرحله جوانه‌زنی، رشد اولیه و بازیابی آن به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام شد. فاکتور اول شامل چهار روش آماده‌سازی بذر (بذر غلاف‌دار، بذر بدون غلاف، پیش تیمار سرمای بذر بدون غلاف و هیدروپرایمینگ بذر بدون غلاف) و فاکتور دوم شامل پنج سطح تنش قلیایی (با pH های ۶/۷، ۷/۹، ۸/۹، ۹/۸ و ۱۰/۷) بود. سطوح تنش قلیایی از ترکیب دو نمک خنثی ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ) و دو نمک قلیائی ( $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) به دست آمد. نتایج نشان داد که با افزایش قلیائیت (pH) درصد جوانه‌زنی کاهش یافت به طوری که در سطوح ۹/۸ و ۱۰/۷ هیچ بذری جوانه نزد. تنش قلیایی در سطح pH ۸/۹ موجب کاهش جوانه‌زنی اولیه (۵۱/۹ درصد)، درصد جوانه‌زنی نهایی (۵۱/۸ درصد)، طول ساقچه (۵۵/۷ درصد) و طول ریشه‌چه (۷۲/۲ درصد) گردید. در همه شرایط قلیائی، کمترین جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه در بذره‌ای با غلاف و پس از آن در تیمار پیش تیمار سرما مشاهده شد؛ در حالی که بیشترین جوانه‌زنی و رشد در تیمار هیدروپرایمینگ به دست آمد. بیشترین بازیابی در بذره‌ای بدون پوسته و پس از آن در هیدروپرایمینگ به دست آمد. به طور کلی، تیمارهای پیش تیمار سرما و بذره‌ای با غلاف تا سطح pH ۷/۹ و تیمارهای هیدروپرایمینگ و بذره‌ای بدون غلاف تا سطح pH ۸/۹ توانستند بخشی از اثرات منفی تنش قلیایی را بازیابی کنند؛ که پس از این سطوح توانایی بازیابی مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: حذف غلاف، سرمادهی، شاخص بازیابی، هیدروپرایمینگ

### مقدمه

محیطی است که روی رشد شاخساره و ریشه و همچنین توسعه گیاهان در طول چرخه زندگی اثر می‌گذارد. تنش قلیائی علاوه بر اثرات اسیدیته بالا، تنش اسمزی و اختلال در جذب و انتقال یون‌ها را نیز شامل می‌شود (گوان<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۱۱؛ گائو<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۱۲). جوانه‌زنی اولین و مهم‌ترین مرحله در چرخه زندگی گیاهان است که تحت تأثیر بسیاری از فاکتورهای

تنش‌های قلیائی و شوری خاک به طور جدی بر تولید گیاهان در ۹۳۲ میلیون هکتار از اراضی دنیا و ۱۰۰ میلیون هکتار از اراضی آسیا اثر گذاشته است. تنش قلیایی یکی از فاکتورهای اصلی محدودکننده رشد بسیاری از گونه‌های مرتعی است (لی<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۰ الف). اسیدیته خاک یکی از مهم‌ترین عامل متغیر

<sup>2</sup> Guan

<sup>3</sup> Gao

<sup>1</sup> Li

محیطی از جمله قلیایی بودن خاک قرار می‌گیرد. سطوح قلیایی بالا می‌تواند فاکتور بسیار مهمی در محدود کردن جوانه‌زنی بذر باشد (شی و وانگ<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵). این تنش به‌طور مؤثری بر رشد و جوانه‌زنی تأثیر می‌گذارد که گیاهان مختلف به‌طور متفاوتی واکنش نشان می‌دهند (شی و یین<sup>۲</sup>، ۱۹۹۳).

در پژوهشی گوان و همکاران، (۲۰۰۹) با مطالعه واکنش رشد بذرهای *Medicago ruthenica* به تنش قلیائیت بیان کردند که تقریباً نصف بذرها در قلیائیت بالا جوانه زدند، در حالی که بذرهای جوانه نزده در شرایط بازیابی (هنگامی که تنش قلیائیت برطرف شده بود)، توانستند جوانه بزنند. در پژوهشی دیگر (گوان و همکاران، ۲۰۱۱) مشخص شد که اسیدیته بالا در ترکیب با شوری به‌شدت درصد و سرعت رشد گونه‌های *Suaeda salsa* را کاهش داد. بذرهای جوانه نزده در اثر تنش، وقتی تنش‌های بالای شوری و قلیایی برطرف شدند به‌خوبی توانایی جوانه‌زنی را داشتند. طول ریشه به‌طور مؤثری با افزایش اسیدیته کاهش یافت؛ درحالی‌که زیست‌توده گیاهچه اولیه تحت تأثیر معنی‌دار سطوح اسیدیته قرار نگرفت. گائو و همکاران (۲۰۱۲) اثرات دو نوع تنش‌های قلیایی  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  و  $\text{NaHCO}_3$  را بر تعادل یونی سلول، تنظیم اسمزی، اسیدیته، مواد فتوسنتزی و رشد در یولاف (*Avena sativa* L.) مقایسه کردند. آن‌ها بیان کردند که ریشه واکنش مشابهی نسبت به ساقه به هر دو تنش دارد، اما مقاومت بیشتری به تنش‌های  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  داشت. به‌علاوه اگرچه هر دو نوع تنش وزن خشک ریشه را کاهش داد، اما تأثیر معنی‌داری بر رشد ریشه نداشت.

یکی از راه‌های کاهش اثرات مضر تنش‌های محیطی مانند قلیائیت، پرایمینگ بذر است. پرایمینگ به تعدادی از روش‌های مختلف بهبوددهنده بذرهای اطلاق می‌شود که در انواع هیدروپرایمینگ آن‌ها آبدی کنترل‌شده بذر اعمال می‌شود (فاروق<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۶). در این روش اجازه داده می‌شود بذرهای مقداری آب جذب کنند به‌طوری که مراحل اولیه جوانه‌زنی انجام شود، اما

ریشه‌چه خارج نشود. بعد از تیمار، بذرهای خشک‌شده و همانند بذرهای تیمار نشده کشت می‌شوند (مک‌دونالد<sup>۴</sup>، ۱۹۹۹). هدف کلی پرایمینگ بذر، آبدی جزئی آن‌ها می‌باشد؛ به‌طوری که بذرها در مرحله اول (جذب فیزیکی آب) و دوم (شروع فرایندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها) جوانه‌زنی را پشت سر گذاشته ولی از ورود به مرحله سوم جوانه‌زنی (مصرف قند توسط جنین و رشد ریشه‌چه) بازمی‌ماند (اشرف و فولاد<sup>۵</sup>، ۲۰۰۵). رایج‌ترین روش‌های پرایمینگ شامل هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ می‌باشد. در روش هیدروپرایمینگ بذر با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده شیمیایی تیمار می‌شوند که این نوع پرایمینگ بسیار ساده و ارزان بوده و مقدار جذب آب از طریق مدت‌زمانی که بذر در تماس با آب هستند کنترل می‌شود (اشرف و فولاد، ۲۰۰۵؛ فاروق و همکاران، ۲۰۰۶). پرایمینگ بذر با آماده‌سازی بذر، بهبود جوانه‌زنی و استقرار گیاه موجب مقاومت بیشتر گیاه نسبت به تنش‌ها می‌گردد (پیرسته انوشه و حمیدی<sup>۶</sup>، ۲۰۱۳).

نتایج اکثر پژوهش‌ها نشان داده است که برخی بذر بلاأخص بذر گیاهان مرتعی، علف‌های هرز و سایر گونه‌های وحشی به دلیل سازگاری اکولوژیک دارای مکانیسم‌های مختلف خواب مانند پوسته سخت، فیزیولوژیکی، القایی و غیره می‌باشند (دلایز، ۱۳۹۲). پژوهشگران و انجمن‌های تخصصی بذر روش‌های مختلفی را جهت شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر گیاهان، پیشنهاد داده‌اند. از مهم‌ترین این روش‌ها می‌توان سرمادهی، خراش‌دهی به روش‌های مکانیکی یا شیمیایی، استفاده از محلول‌های مختلف تحریک‌کننده جوانه‌زنی (جیبرلین، نیترات پتاسیم، اسید نیتریک، تیوره، پلی‌اتیلن گلاکول، اتانول و...) به‌صورت پرایمینگ بذر، تناوب‌های نوری، دمایی و غیره را اشاره نمود (اشرف و فولاد، ۲۰۰۵؛ پیرسته انوشه و حمیدی، ۲۰۱۳). اگرچه پژوهش‌های بی‌شماری در مورد اثر پرایمینگ بر تعدیل اثرات تنش‌های محیطی صورت گرفته است، اما مطالعات در مورد اثر روش‌های متفاوت

<sup>4</sup> McDonald

<sup>5</sup> Ashraf and Foolad

<sup>6</sup> Pirasteh-Anosheh and Hamidi

<sup>1</sup> Shi and Wanh

<sup>2</sup> Shi and Yin

<sup>3</sup> Farooq

لی و همکاران (۲۰۱۰ الف) استفاده شد. اعمال تیمار قلیایی به صورت آبیاری با محلول‌های تهیه شده با سطوح اسیدیته متفاوت بود. آبیاری پتری دیش‌ها در اولین آبیاری به میزان ۵ میلی‌لیتر و در آبیاری‌های بعدی در حدود ۳ میلی‌لیتر صورت گرفت. کاغذهای صافی به منظور جلوگیری از تجمع نمک‌ها به صورت یک روز در میان تعویض می‌شدند.

در این پژوهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بازیابی، طول ساقچه‌چه و طول ریشه‌چه اندازه‌گیری شد. شمارش بذور جوانه‌زده به صورت روزانه و ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش آغاز شد. معیار جوانه‌زنی بذور، خروج ریشه‌چه و قابل‌رؤیت بودن آن حداقل به طول ۲ میلی‌متر در نظر گرفته شد. برای تعیین توانایی بازیابی، پس از پایان آزمایش (۱۳ روز پس از کشت)؛ بذرها از محلول‌های قلیایی خارج شده و پس از دو بار شستشو با آب مقطر در پتری دیش‌های جدید کاشته شد و با آب مقطر آبیاری شدند.

سرعت جوانه‌زنی (GR) درصد جوانه‌زنی اولیه (Gi)، شاخص بازیابی (RI) و درصد جوانه‌زنی نهایی (Gf) نیز با استفاده از رابطه‌های زیر (لی و همکاران، ۲۰۱۰ الف؛ پیرسته انوشه و همکاران، ۲۰۱۱) تعیین شدند:

$$GR = \sum \frac{G}{t}$$

که در این رابطه G تعداد بذر جوانه‌زده در روز t بعد از کاشت می‌باشد.

$$Gi(\%) = \frac{b}{c} \times 100$$

$$RI(\%) = \frac{a-b}{c-b} \times 100$$

$$Gf(\%) = \frac{a}{c} \times 100$$

در این رابطه‌ها نیز؛ a مجموع بذر جوانه‌زده در محلول قلیایی و آن‌هایی که از محلول قلیایی بازیابی شدند؛ b مجموع بذور جوانه‌زده در محلول قلیایی و c مجموع بذوری که کاشته شدند، می‌باشند. تجزیه واریانس داده‌ها و برآورد خطای استاندارد میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS به دست آمد.

آماده‌سازی بذر بر تعدیل اثرات تنش قلیایی و افزایش تحمل یک گونه مرتعی مانند اسپرس (*Onobrychis sp*) بسیار اندک است؛ بنابراین در این پژوهش اثر چهار روش آماده‌سازی بذر بر جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاه اسپرس در پنج شرایط متفاوت قلیایی و همچنین در شرایط بازیابی از تنش بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش برای تعیین اثر روش‌های آماده‌سازی بذر گونه اسپرس بر تحمل به تنش قلیایی در مرحله جوانه‌زنی و رشد اولیه در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام گرفت. بذرها به صورت نمونه‌گیری بذر از ایستگاه تحقیقاتی حسین‌آباد شیراز جمع‌آوری شد. این مطالعه به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. فاکتور اول چهار روش آماده‌سازی بذر شامل: بذر غلاف‌دار، بذر بدون غلاف، پیش تیمار سرمای بذر بدون غلاف به مدت ۲۴ ساعت و هیدروپرایمینگ بذر بدون غلاف به مدت ۲۴ ساعت و فاکتور دوم پنج سطح تنش قلیایی توسط آب آبیاری با اسیدیته‌های ۶/۷، ۷/۹، ۸/۹، ۹/۸ و ۱۰/۷ بود.

پیش از شروع آزمایش تیمارهای مربوط به روش‌های آماده‌سازی بذر اعمال گردید. پیش تیمار سرما به صورت قرار دادن بذرها در یخچال با دمای ۵- تا ۶- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و هیدروپرایمینگ به صورت قرار دادن بذرها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت و پس از خشک کردن تا رسیدن به وزن اولیه بود. به منظور ضدعفونی کردن بذرها اسپرس از هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه استفاده شد و سپس دو بار با آب مقطر مورد شستشوی سطحی قرار گرفتند. ۲۵ عدد بذر در هر پتری دیش با قطر ۹ سانتی‌متر و بر روی دولایه کاغذ صافی کشت شدند. پتری دیش‌ها در ژرمیناتور با دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد به رطوبت نسبی ۵۵±۳ درصد و ۱۴ ساعت روشنایی (ترکیبی از لامپ‌های فلوسنت و مهتابی) قرار گرفتند. برای ایجاد سطوح تنش قلیایی، از ترکیب دو نمک خنثی (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl) و دو نمک قلیایی (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>) در نسبت‌های مختلف با استفاده از روش

## نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر روش آماده‌سازی، تنش قلیایی و برهمکنش آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی اولیه و نهایی معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تنش قلیایی تأثیر منفی بر درصد جوانه‌زنی داشت، به طوری که با افزایش اسیدیته درصد جوانه‌زنی اولیه و نهایی کاهش یافت (شکل ۱ و ۲). در اسیدیته‌های ۹/۸ و ۱۰/۷ هیچ بذری جوانه نزد. در همه شرایط قلیایی کمترین درصد جوانه‌زنی در بذور غلاف‌دار مشاهده شد که در اسیدیته ۶/۷ تفاوت معنی‌داری با بذره‌های بدون غلاف با پیش تیمار سرما نداشتند. همچنین به جز در اسیدیته ۸/۹، تفاوت معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی بذره‌های بدون غلاف با و بدون هیدروپرایمینگ وجود نداشت (شکل‌های ۱ و ۲). تنش قلیایی، به ویژه در برهمکنش با تنش شوری موجب کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی اولیه گیاه *Spartina alterniflora* گردید (لی و همکاران، ۲۰۱۰ ب). در مطالعه پنگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۸) نیز مشخص شد که اسیدیته بالا با کاهش درصد جوانه‌زنی گیاهچه‌های یونجه همراه بود. کاهش جوانه‌زنی گیاه *Puccinellia tenuiflora* در مطالعه شی و وانگ (۲۰۰۵) و گیاه *Aneurolepidium chinense* در مطالعه شی و بین (۱۹۹۳) نیز نشان داده شد. تفاوت در پاسخ به تحمل تنش قلیایی می‌تواند به دلیل توانایی در تولید پروتئین‌های متفاوت بود. پروتئین *PKS<sub>5</sub> kinase* یکی از تنظیم‌کننده حیاتی برای واکنش گیاه در محیط‌های با اسیدیته بالا است که تعیین‌کننده اصلی مقاومت گیاه در برابر تنش‌های قلیایی به شمار می‌رود و می‌تواند باعث بهبود جوانه‌زنی بذر در این شرایط شود (شی و وانگ، ۲۰۰۵؛ لی و همکاران، ۲۰۱۰ الف).

نتایج به دست آمده حاکی از تأثیر مثبت هیدروپرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی است (شکل‌های ۱ و ۲). هیدروپرایمینگ باعث افزایش جوانه‌زنی، خروج یکنواخت‌تر و سریع‌تر گیاهچه‌ها، افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی هنگام کاشت و افزایش قدرت نمو گیاه می‌شود (پیرسته انوشه و همکاران، ۲۰۱۴ الف).

تنش قلیایی در سطح ۹/۸ موجب کاهش ۴۸/۵، ۵۰/۰، ۶۶/۰ و ۷۷/۸ درصدی جوانه‌زنی نهایی اسپرس در شرایط پیش تیمار بذره‌های بدون غلاف، هیدروپرایمینگ بذره‌های بدون غلاف، بذره‌های بدون غلاف و بذره‌های غلاف‌دار گردید. این نشان‌دهنده این موضوع است که حذف غلاف به طور معنی‌داری موجب افزایش تحمل تنش قلیایی است. در مطالعه لی و همکاران (۲۰۱۰ الف) مشخص شد که اگرچه جوانه‌زنی بذر گیاه *Spartina alterniflora* تحت تأثیر قلیاییت کاهش پیدا کرد، ولی جوانه‌زنی نهایی آن با انتقال به محیط بازیابی با تیمارهای شاهد برابر شد.

اگرچه در مورد تأثیر روش‌های آماده‌سازی بذر بر تحمل تنش قلیایی تاکنون گزارشی مشاهده نشده است، ولی در مورد سایر تنش‌ها مطالعات بی‌شمار است. مرادی و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی تأثیر پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه علف گندمی بلند (*Agropyron elongatum*) در شرایط تنش خشکی نتیجه گرفتند که پرایمینگ بذر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه را افزایش داد و منجر به کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی شد. حساس‌ترین مراحل از فرایند جوانه‌زنی به تنش‌های غیرزنده شامل مراحل: یک (جذب فیزیکی آب) و دو (شروع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها) جذب آب می‌باشند. اگر که در این مراحل آب به صورت کنترل شده در اختیار بذر قرار گیرد اثر تنش کاهش یافته و بذر به خوبی جوانه می‌زند (پیرسته انوشه و همکاران، ۲۰۱۱؛ ۲۰۱۴ الف). در طی پرایمینگ، بذر مراحل یک و دو جوانه‌زنی را کامل کرده و فقط به یک شیب مطلوب جذب آب به منظور شروع رشد ریشه‌چه نیازمند است (اشرف و فولاد، ۲۰۰۵).

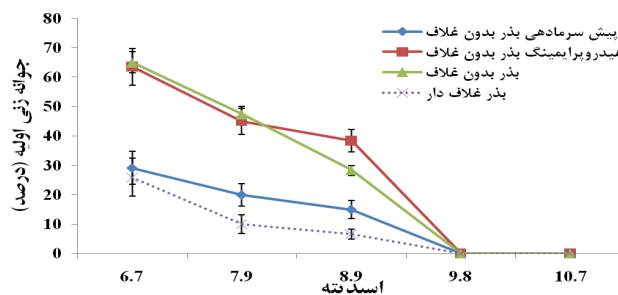
شاخص بازیابی تحت تأثیر معنی‌دار روش آماده‌سازی، تنش قلیایی و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱). تنش قلیایی همچنین بر شاخص بازیابی بذره‌های اسپرس تأثیر منفی داشت؛

<sup>1</sup> Peng

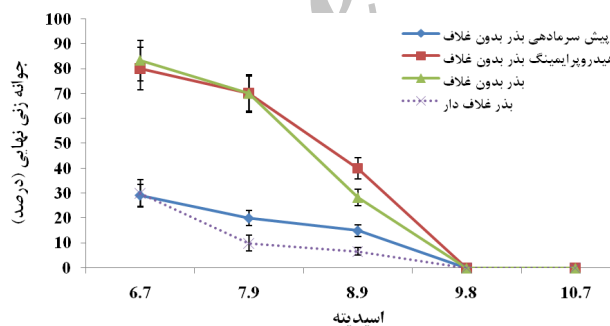
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس روش‌های آماده‌سازی بذر، تنش قلیایی و برهمکنش آن‌ها

| منابع تغییر      | درجه آزادی | میانگین مربعات  |                 |             |             |
|------------------|------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|
|                  |            | جوانه‌زنی اولیه | جوانه‌زنی نهایی | طول ریشه‌چه | طول ساقه‌چه |
| آماده‌سازی       | ۳          | ۳۱/۷۵۹*         | ۷۳/۷۴۳**        | ۰/۷۹۱*      | ۰/۶۸۳*      |
| قلیابیت          | ۴          | ۵۴/۹۴۴**        | ۶۹/۳۷۵**        | ۰/۸۰۷*      | ۰/۹۵۵**     |
| برهمکنش          | ۱۲         | ۶۳/۸۲۱**        | ۶۲/۱۵۲**        | ۲/۳۳۰**     | ۱/۱۳۵**     |
| خطا              | ۴۰         | ۶/۳۹۸           | ۸/۱۰۴           | ۰/۱۴۹       | ۰/۱۲۱       |
| ضریب تغییرات (/) |            | ۱۲/۸۲۶          | ۱۱/۸۰۱          | ۵/۸۱۶       | ۹/۲۲۵       |
|                  |            | ۱۳/۴۴۰          |                 |             |             |

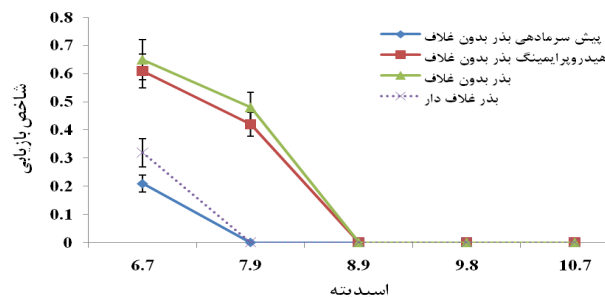
\* و \*\* معنی‌دار به ترتیب در سطوح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۱- تأثیر روش‌های متفاوت آماده‌سازی بذر بر درصد جوانه‌زنی اولیه اسپرس. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارد

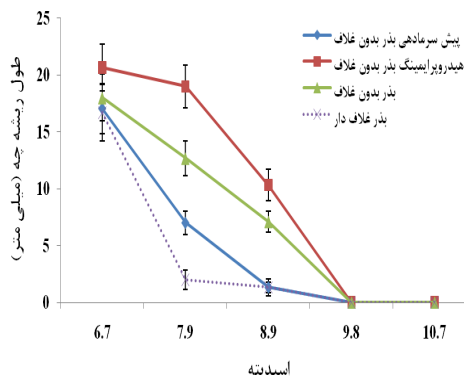


شکل ۲- تأثیر روش‌های متفاوت آماده‌سازی بذر بر درصد جوانه‌زنی نهایی اسپرس. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارد.

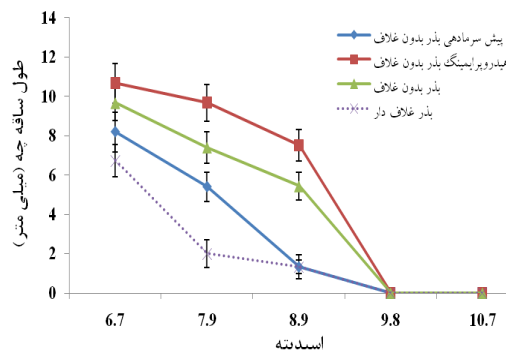


شکل ۳- تأثیر روش‌های متفاوت آماده‌سازی بذر بر شاخص بازبایی اسپرس. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارد.

## دلاویز و همکاران: مقایسه اثر روش‌های آماده‌سازی بذر اسپرس بر بهبود تحمل تنش قلیایی و بازیابی آن



شکل ۵- تأثیر روش‌های متفاوت آماده‌سازی بذر بر طول ریشه‌چه اسپرس. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارد.



شکل ۴- تأثیر روش‌های متفاوت آماده‌سازی بذر بر طول ساقه‌چه اسپرس. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارد.

بازیابی به برگ‌های جدید انتقال پیدا کرده است (آلارسون و همکاران، ۱۹۹۳). تجمع کربوهیدرات به دلیل کاهش مصرف در دوره تنش می‌تواند به‌عنوان منبعی از انرژی برای توانایی بازیابی گیاه مورد استفاده قرار گیرد (دلارسدا و همکاران، ۲۰۰۵).

در پژوهش حاضر با افزایش شدت تنش قلیایی توان بازیابی جوانه نیز کاهش یافت این نتایج با یافته‌های پیشین مطابقت دارد. پیرسته انوشه و همکاران (۲۰۱۴) ب) گزارش کردند که تیمارهای بازیابی توانست بخش از افت ناشی از تنش در مورد همه صفات جبران کند، ولی با افزایش تنش شوری توان بازیابی بذرهای جو کاهش یافت. در مطالعه گوان و همکاران (۲۰۰۹) نصف بذرهای یونجه که در تنش قلیایی جوانه نزدند در شرایط بازیابی توانایی جوانه‌زنی را داشتند. همچنین گوان و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهش دیگری نشان دادند که بذرهای جوانه زده گونه‌های *Suaeda salsa* تحت تأثیر تنش قلیایی، در شرایط بازیابی به‌خوبی توانایی جوانه‌زنی را از خود نشان دادند. تأثیر روش آماده‌سازی، تنش قلیایی و برهمکنش آن‌ها بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه معنی‌دار بود (جدول ۱)؛ به‌طوری‌که رشد گیاهچه‌های اسپرس تحت تأثیر منفی تنش قلیایی قرار گرفتند. با افزایش اسیدیتته، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش یافت، به‌طوری‌که در همه تیمارهای آماده‌سازی بذر در اسیدیتته ۹/۸ هیچ گیاهچه‌ای سبز نشد (شکل‌های ۴ و ۵).

به‌طوری‌که در همه تیمارهای آماده‌سازی بذر شاخص بازیابی با افزایش اسیدیتته کاهش یافت (شکل ۳)، با این تفاوت که در تیمارهای بذرهای غلاف‌دار و بذرهای بدون غلاف با پیش تیمار سرما شاخص بازیابی در اسیدیتته‌های ۷/۹ و بیشتر به صفر رسید؛ درحالی‌که شاخص بازیابی بذرهای بدون غلاف با و بدون هیدروپرایمینگ در اسیدیتته‌های ۸/۹ و بیشتر صفر شد. کمترین شاخص بازیابی در بذرهای بدون غلاف با پیش تیمار سرما مشاهده شد (شکل ۳). جبران اثرات منفی تنش‌های محیطی در بازیابی مانند افزایش رشد و غلظت پتاسیم و یا کاهش غلظت سدیم در طول دوره بازیابی توسط سایر پژوهشگران در گیاهان جو (احمد و جونز<sup>۱</sup>، ۱۹۷۹؛ پیرسته انوشه و همکاران، ۲۰۱۴ ب)، سورگوم (دلارسدا<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۵) و سایر گیاهان (آلارسون<sup>۳</sup> و همکاران، ۱۹۹۳؛ پاردوسی<sup>۴</sup> و همکاران، ۱۹۹۸) نیز گزارش شده است. این موضوع احتمالاً در نتیجه تعادل منفی بین فرآیندهای واردات آوند چوبی برگ و صادرات آوند آبکشی بعد از تغییر وضعیت نمک‌های محلول در بافت گیاه در طول دوره بازیابی می‌باشد (دلارسدا و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد که بخش قابل‌توجهی از یون‌های جذب‌شده در طول دوره تنش، در دوره‌ی

<sup>1</sup> Ahmad and Jones

<sup>2</sup> DeLacerda

<sup>3</sup> Alarcon

<sup>4</sup> Pardossi

## نتیجه‌گیری

از آنجا که افزایش اسیدیتته بیشتر از ۶/۷ موجب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های اسپرس گردید؛ لذا می‌توان اسیدیتته بیشتر از این مقدار را به‌عنوان تنش قلیایی در نظر گرفت. افزایش تنش قلیایی نیز موجب کاهش بیشتر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های اسپرس گردید، به‌طوری‌که توقف کامل جوانه‌زنی بذرها در اسیدیتته ۹/۸ مشاهده گردید. جداسازی غلاف از بذرها موجب افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گردید، ولی پیش‌تیمار سرما موجب کاهش توان جوانه‌زنی و رشد اولیه گردید. شاخص بازیابی در بذرهای بدون غلاف با و بدون هیدروپرایمینگ به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای با غلاف و بدون غلاف با پیش‌تیمار سرما بود. هیدروپرایمینگ ۲۴ بذرهای بدون غلاف اسپرس موجب بهبود جوانه‌زنی و سبز شدن و همچنین تحمل بیشتر تنش قلیایی گردید. مطالعه تأثیر هیدروپرایمینگ بر رشد و تولید بذر در بذرهای بدون غلاف اسپرس و مطالعه صفات بیوشیمیایی به‌منظور درک بهتر مکانیسم‌های اثر آماده‌سازی بذر توصیه می‌شود.

بیشترین و کمترین مقدار هم برای طول ساقچه و هم برای طول ریشه‌چه به ترتیب در تیمارهای هیدروپرایمینگ بذرهای بدون غلاف و بذرهای با غلاف به دست آمد. روند تأثیر روش‌های آماده‌سازی بذر بر طول ساقچه (شکل ۴) و طول ریشه‌چه (شکل ۵) نسبتاً مشابه بود. اسیدیتته بالای محیط اطراف ریشه می‌تواند با اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک ریشه و تخریب ساختار سلول ریشه، باعث شود که جذب و حتی انتقال عناصر کاهش یابد (لی و همکاران، ۲۰۱۲ ب)؛ بنابراین توانایی یک گیاه برای حفظ تعادل بین عناصر برای رشد بهتر ریشه تعیین‌کننده مقاومت بهتر در برابر تنش قلیایی است (گانو و همکاران، ۲۰۱۲).

نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های شی و وانگ (۲۰۰۵)، گوان و همکاران (۲۰۰۹)، گوان و همکاران (۲۰۱۱) و همچنین گانو و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت. در پژوهش حاضر بهترین رشد گیاهچه‌های اسپرس در تیمار هیدروپرایمینگ بذر به دست آمد. پرایمینگ بذر موجب تغییرات زیستی و فیزیولوژیک زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می‌گردد، به‌طوری‌که نتیجه این عمل در جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول قابل مشاهده می‌باشد (پاردوسی و همکاران، ۱۹۸۹).

## منابع

- دلایز، م. ۱۳۹۲. تأثیر دوره‌های خشکی و بازیابی آن بر رشد و تغییرات بیوشیمیایی گونه‌های آتریپلکس. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته مدیریت مناطق بیابانی. دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز.
- مرادی، ع.، شریف‌زاده، ف.، توکل افشاری، ر. و معالی امیری، ر. ۱۳۸۹. تأثیر پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه علف گندمی بلند (*Agropyron elongatum*) در شرایط بهینه رطوبتی و تنش خشکی. مجله مرتع، ۴(۳): ۴۷۳-۴۶۲.
- Ahmad, N., and Jones, R.W. 1979. Glycinebetaine, proline and inorganic ion levels in barley seedlings following transient stress. *Plant Science Letters*, 15(3): 231-237.
- Alarcon, J.J., Sanchez-Blanco, M.J., Bolarin M.C., and Torrecillas, A. 1993. Water relation and osmotic adjustment in *Lycopersicum esculentum* and *L. pinnelli* during short-term of salt exposure and recovery. *Physiologia Plantarum*, 89(3): 441-447.
- Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment – a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advances in Agronomy*, 88: 223-271.
- De Lacerda, C.F., Cambraia, J., Oliva, M.A., and Ruiz, H.A. 2005. Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 54(1): 69-76.

- Farooq, M., Basra, S.M.A., and Wahid, A. 2006. Priming of field sown rice seed enhances germination, seedling established, allometry and yield. *Plant Growth Regulation*, 49(2-3): 285-294
- Gao, Z.W., Zhang, J.T., Liu, Z., Xu, Q.T., Li, X.J., and Mu, C.S. 2012. Comparative effects of two alkali stresses, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and NaHCO<sub>3</sub> on cell ionic balance, osmotic adjustment, pH, photosynthetic pigments and growth in oat (*Avena sativa* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 6(6): 995.
- Guan, B., Yu, J., Lu, Z., Xie, W., Chen, X., and Wang, X. 2011. The ecological effects of *Suaeda salsa* on repairing heavily degraded coastal saline-alkaline wetlands in the Yellow River Delta. *Acta Ecologica Sinica*, 31: 4835-4840.
- Guan, B., Zhou, D., Zhang, H., Tian, Y., Japhet, W., and Wang, P. 2009. Germination responses of *Medicago ruthenicaseeds* to salinity, alkalinity, and temperature. *Journal of Arid Environments*, 73(1): 135-138.
- Li, R., Shi, F., and Fukuda, K. 2010a. Interactive effects of salt and alkali stresses on seed germination recovery and seedling growth of a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *South African Journal of Botany*, 76(2): 380-387
- Li, R.L., Shi F., and Fukuda, K. 2010b. Interactive effects of various salt and alkali stresses on growth, organic solutes, and cation accumulation in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Environmental and Experimental Botany*, 68(1): 66-74.
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Environmental and Experimental Botany*, 27(1): 177-237.
- Pardossi, A., Malorgio, F., Oriolo, D., Gucci, R., Serra, G., and Tognoni, F. 1998. Water relations and osmotic adjustment in *Apium graveolens* during long-term NaCl stress and subsequent relief. *Physiologia Plantarum*, 102(3): 369-376.
- Peng, Y.L., Gao, Z.W., Gao, Y., Liu, G.F., Sheng, L.X., and Wang, D.L. 2008. Eco-physiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt-alkaline stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(1): 29-39
- Pirasteh-Anosheh, H., and Hamidi, R. 2013. Does seed chemical priming improves germination and early growth of oil rapeseed. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(4): 805-808.
- Pirasteh-Anosheh, H., Emam, Y., and Ashraf, M. 2014a. Impact of cycocel on seed germination and growth in some commercial crops under osmotic stress conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(9): 1277-1289.
- Pirasteh-Anosheh, H., Ranjbar, G., Emam Y., and Ashraf, M. 2014b. Salicylic acid-induced recovery ability in salt-stressed *Hordeum vulgare* plants. *Turkish Journal of Botany*, 38(1): 112-121.
- Pirasteh-Anosheh, H., Sadeghi, H., and Emam, Y. 2011. Chemical priming with urea and KNO<sub>3</sub> enhances maize hybrids (*Zea mays* L.) seed viability under abiotic stress. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14(4): 289-295.
- Shi, D.C., and Wang, D.L. 2005. Effects of various salt-alkaline mixed stresses on *Aneurolepidium chinense* (Trin.) Kitag. *Plant and Soil*, 271(1-2): 15-26.
- Shi, D.C., and Yin, L.J. 1993. Difference between salt (NaCl) and alkaline (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb.) Scribn. et Merr. plants. *Acta Botanica Sinica-Chinese Edition*, 35: 144-144.



## Comparing the Effect of Seed Pre-Treatment Methods on Improving Alkali Stress Tolerance of Sainfoin and its Recovery

Mohammad Delaviz<sup>1</sup>, Hossein Sadeghi<sup>1</sup>, Hadi Pirasteh-Anosheh<sup>2,\*</sup>, Gholamhassan Ranjbar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduated M.Sc. Student and Associate Professor, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran

\*Corresponding author, E-mail address: [h.pirasteh@areeo.ac.ir](mailto:h.pirasteh@areeo.ac.ir)

(Received: 01.06.2015 ; Accepted: 24.01.2016)

### Abstract

Germination is the first and the most stages for sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) growth; which it has specially sensitivity to environmental stresses such as alkalinity. The current study was conducted to evaluate the effectiveness of seed pre-treatment methods on improving of sainfoin tolerance to alkali stress in germination, early growth and its recovery as a factorial experiment based on a completely randomized design in College of Agriculture, Shiraz University in 2013. The first factor was four seed pre-treatment methods (seed with pod, seed without the pod, pre-chilling of seed without pod and hydro-priming of seed without pod) and the second factor was five alkali stress levels (pH= 6.7, 7.9, 8.9, 9.8 and 10.7). Alkali stress levels were prepared using two neutral salts ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and  $\text{NaCl}$ ) and two alkaline salt ( $\text{NaHCO}_3$  and  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). The results showed that germination percentage was decreased as alkalinity (pH) levels were enhanced; so that, there were no germinated seeds in 9.8 and 10.7 treatments. Alkali stress reduced initial germination percentage (51.9%), final germination percentage (51.8%), plumule length (55.7%) and radicle length (72.2%). Under all alkalinity conditions, the lowest seed germination and seedling growth were observed in with pod seed, followed by pre-chilling treatments; while their highest were achieved in without pod seeds and hydro-priming treatments. The highest recovery was observed in without the pod, followed by hydro-primed seeds. Recovery was observed in Pre-chilled and with pod speeds up to 7.9 and in hydro-primed and without pod speeds up to 8.9.

**Keywords:** *Hydro-priming, Pod removal, Pre-chilling, Recovery index*