تأثیر تنش سولفات مس و تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات بیوشیمیایی بذر کلزا (*Brassica napus* L.)

سید علی طباطبایی [۱]، امید انصاری [۲،*]

[۱] دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد
[۲] دانشجوی دکتری علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه گرگان
[*]پست الکترونیک نویسنده مسئول: ansari_o@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۰۷)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کاربرد سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات پروتئین، کاتالاز و پرولین بذر کلزا تحت شرایط تنش مس، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. عامل اول شامل ۴ سطح تنش سولفات مس (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) و عامل دوم شامل ۴ سطح، پیش‌تیمار بذر با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و بذر بدون پیش‌تیمار (شاهد) بود. نتایج نشان داد با افزایش در سطوح تنش سولفات مس شاخص‌های جوانه‌زنی (درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و بنیه بذر) کاهش یافت و استفاده از سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید و هیدروپرایم سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی شد. بالاترین درصد جوانه‌زنی (۹۴ درصد)، سرعت جوانه‌زنی (۳۰/۷۵ بذر در روز)، درصد گیاهچه طبیعی (۸۶/۱۷ درصد)، طول گیاهچه (۱۰/۵۳ سانتی‌متر) و بنیه بذر (۹/۰۸) از تیمار بذر با اسید سالیسیلیک به‌دست آمد. تنش فلز سنگین مس (سولفات مس) سبب افزایش در میزان پرولین (۳۵ درصد) و آنزیم کاتالاز (۳۷ درصد) و کاهش در میزان پروتئین (۶۵ درصد) شد ولی پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در میزان پرولین و آنزیم کاتالاز و پروتئین در مقایسه با بذر پیش‌تیمار نشده در شرایط تنش و عدم تنش شد. در این پژوهش پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم کاتالاز، پرولین و پروتئین نسبت به تیمار شاهد شد.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، پروتئین، پرولین، کاتالاز

مقدمه

تنش فلزات سنگین از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محسوب می‌شود که می‌تواند منجر به کاهش رشد و تولید انواع رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش در عملکرد گیاهان گردد (صابری و همکاران، ۱۳۸۹). گیاهان تحت تنش فلزات سنگین در طبیعت، در حضور دائمی یون‌های سمی رشد و نمو داشته و آسیب ناشی از سمیت تجمعی را تجربه می‌کنند. علائم متفاوت مسمومیت نشانه‌ای از درجات و سطوح مختلف سازگاری به محیط پرتنش است (گادبولد[1]، ۱۹۹۴). عنصر مس یکی از عناصر کم‌مصرف موردنیاز گیاه است. مس مانند آهن با آنزیم‌های دخیل در واکنش‌های اکسیداسیون-احیا مانند پلاستوسیانین که در انتقال الکترون در طی واکنش‌های مرحله نوری فتوسنتز عمل می‌کند ارتباط دارد (هاهنل[2]، ۱۹۸۴). مس به‌آسانی توسط گیاهان جذب‌شده و به بخش‌های مختلف منتقل می‌شود و

[1] Godbold
[2] Haehnel

Archive of SID

www.SID.ir

سلامت بالقوه انسان‌ها و دام را از طریق زنجیره‌های غذایی تهدید می‌کند (لین[1] و همکاران، ۲۰۰۳). برای اکثر گیاهان در صورتی که غلظت ۲۰ تا ۳۰ میکروگرم مس در گرم ماده خشک باشد به‌خصوص در خاک‌های اسیدی سبب مسمومیت گیاه شده که بارزترین علائم مسمومیت شامل توقف رشد ریشه، کاهش پنجه‌زنی و تغییر رنگ برگ به سبز تیره می‌باشد (مارشنر و ریمینگتون[2]، ۱۹۸۸).

در سال‌های اخیر استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد در بالا بردن میزان محصولات زراعی با افزایش تحمل این گیاهان در برابر تنش‌های محیطی، توجه بسیاری از دانشمندان و پژوهشگران را به خود معطوف ساخته است. پیش‌تیمار بذر یک روش معمول برای افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر تحت شرایط نامساعد محیطی می‌باشد. تحت شرایط نامساعد استفاده از پیش‌تیمار بذرها با استفاده از مواد مختلف، می‌تواند مقاومت در برابر تنش، در گیاهان را افزایش دهد (پاتاده[3] و همکاران، ۲۰۱۱؛ اقبال و اشرف[4]، ۲۰۰۷؛ طویلی و همکاران، ۱۳۹۲). پیش‌تیمار بذر با آب و محلول‌های نمکی در گیاهان مختلف سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش می‌شود (اشرف و رئوف[5]، ۲۰۰۱؛ انصاری[6] و همکاران، ۲۰۱۳). سالسیلیک اسید یکی از ترکیبات فنلی است که در گیاهان تولید می‌شود. ترکیبات این گروه می‌توانند به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد عمل کنند (آبرگ[7]، ۱۹۸۱). از دیگر تنظیم‌کننده‌های رشد، جیبرلین‌ها بوده که شامل گروهی از مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد هستند که بیشترین دخالت مستقیم را در کنترل و تسهیل جوانه‌زنی بذر دارند (افضل[8] و همکاران، ۲۰۰۶). پیش تیمار بذر با غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد اثرات متفاوتی را در ایجاد تحمل شرایط تنش در گیاهان ایجاد می‌کند (بصرا[9] و همکاران، ۲۰۰۶؛ انصاری و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که تنش فلز سنگین سبب کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی خواهد شد (لی[10] و همکاران، ۲۰۰۵؛ طویلی و همکاران، ۱۳۹۲؛ رسولی و همکاران، ۱۳۹۲). اثر تیمار بذر با سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در کلزا نشان داده است که تیمار بذر با این تنظیم‌کننده‌ی رشد سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی تحت شرایط تنش کادمیوم می‌شود (طویلی و همکاران، ۱۳۹۲). گزارش شده است که پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در مصرف مواد ذخیره‌ای بذر شده و از این طریق سبب افزایش رشد و بهبود در شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (انصاری و همکاران، ۲۰۱۲).

گیاهان برای کاهش سمیت فلزات سنگین از سازوکارهای مختلفی استفاده می‌کنند. یکی از سازوکارهای مهم سمیت زدایی فلزات سنگین سمی در اکثر گیاهان تولید پرولین و حذف گونه‌های فعال اکسیژن با استفاده از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت است. تجمع پرولین در گیاهانی که در معرض تنش فلزات سنگین می‌باشند، موجب کاهش آسیب به غشاء و پروتئین‌ها می‌گردد (ورما[11]، ۱۹۹۹؛ جون[12] و همکاران، ۲۰۰۸؛ چراتی آرایی و خانلریان خطیری، ۱۳۸۷). همچنین گیاهان با استفاده از سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی سبب کاهش آسیب به غشاء و پروتئین‌ها می‌گردد (نوکتور و فویر[13]، ۱۹۹۸). استفاده از پیش‌تیمار بذر می‌تواند سبب افزایش در پرولین، پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش و عدم تنش شود (احمدپور دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۱).

کلزا[14] به‌عنوان یکی از گیاهان دانه روغنی مهم و از تیره خردل بوده که در مناطق معتدله دارای طیف نسبتاً وسیعی از سازگاری اقلیمی است (چراتی آرایی و خطیری، ۱۳۸۷). به‌علت میزان روغن موجود در بذرهای گیاه کلزا، این گیاه برای سده‌های پی‌درپی کشت می‌شود. به‌طورکلی گیاهان تیره خردل به‌عنوان بهترین انباشت کننده‌های فلزات سنگین معرفی شده‌اند

[1] Lin
[2] Marschner and Rimmington
[3] Patade
[4] Iqbal and Ashraf
[5] Ashraf and Rauf
[6] Ansari
[7] Aberg
[8] Afzal
[9] Basra
[10] Li
[11] Verma
[12] John
[13] Noctor and Foyer
[14] *Brassica napus* L.

Archive of SID

www.SID.ir

(ساتاک[1] و همکاران، ۱۹۹۷)؛ بنابراین این پژوهش به‌منظور بررسی واکنش جوانه‌زنی و تغییرات بیوشیمیایی بذر کلزا به تنش فلز سنگین مس، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد به‌صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار روی بذر کلزا رقم اکاپی به اجرا درآمد.

در ابتدا بذرها با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد و آب پیش‌تیمار شدند. پیش‌تیمار بذر شامل آبنوشی بذر در سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید با غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام و آب مقطر (هیدروپرایم) به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به همراه بذر خشک به عنوان تیمار شاهد بود. بعد از مدت زمان‌های مشخص شده برای اعمال پیش‌تیمار، بذرها از دماهای پیش‌تیمار خارج و با آب مقطر شستشو شدند، سپس بذرها در دمای اتاق خشک شدند. قبل از کشت بذرها با هیپوکلریت سدیم ۲ درصد ضدعفونی سطحی و تست جوانه‌زنی استاندارد با ۳ تکرار ۵۰ بذری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ روز و به صورت روی کاغذی (ایستا[2]، ۲۰۱۰) و در محتوی غلظت‌های مختلف مس (غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در لیتر $Cu(SO_4)$ (سولفات مس) انجام شد. در هر پتری دیش ۵ سی‌سی از محلول‌های سولفات مس اضافه و پتری‌دیش‌ها جهت جلوگیری از هدر روی آب در کیسه‌های فریزری قرار داده شدند و کیسه‌های فریزری بسته شدند.

شمارش بذرها به‌صورت روزانه انجام و تعداد بذرهای جوانه‌زده تا پایان روز هفتم ثبت شد. در پایان روز هفتم درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه و بنیه بذر (درصد گیاهچه طبیعی × طول گیاهچه) (ایستا، ۲۰۱۰)، میزان پرولین، میزان پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز محاسبه شدند.

برای اندازه‌گیری میزان پرولین از گیاهچه‌های کلزا نمونه‌گیری شد و نمونه‌ها بعد از آماده‌سازی به‌روش بتیس در دستگاه اسپکتوفتومتر مدل UV_160A_SHIMADZO قرار گرفتند و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد (بتیس[3] و همکاران، ۱۹۷۳).

فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به روش اسپکتوفتومتری و به روش جاندا[4] و همکاران (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین بر طبق روش ارائه شده به وسیله بردفورد[5] (۱۹۷۶)، تعیین شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از محلول برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتوفتومتری قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین بر حسب میلی گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

تجزیه‌های آماری با نرم افزار SAS 9.2 انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند؛ و در نهایت نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه، بنیه بذر، پروتئین، کاتالاز و پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اثر متقابل پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر صفات بیان‌شده به جزء درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد و بر روی این دو صفت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲).

[1] Satake
[2] ISTA
[3] Bates
[4] Janda
[5] Bradford

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی بذر کلزا

منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد گیاهچه طبیعی	طول گیاهچه	بنیه بذر
پیش‌تیمار(A)	۳	۵۲۱/۸۹**	۰/۰۵**	۵۹۹/۳۰**	۲/۱**	۴۵۹۲۵/۰۲**
تنش مس(B)	۳	۶۳۳۲/۰۶**	۱/۳۷**	۶۴۷۱/۳۴**	۱۰۱/۴۱**	۱۱۰۹۵۷۳/۵۹**
A × B	۹	۲۷/۵۴*	۰/۰۱**	۸۴/۰۴**	۰/۲۳*	۳۰۴۷**
اشتباه آزمایش	۳۲	۹/۷۵	۰/۰۰۱	۱۶/۳۳	۰/۰۹	۹۲۹/۸۹
ضریب تغییرات (٪)	-	۴/۸۷	۴/۵۳	۷/۶۶	۴/۶	۷/۵۷

* و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر پروتئین، کاتالاز و پرولین کلزا

منبع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین	کاتالاز	پرولین
پیش‌تیمار(A)	۳	۰/۱۴**	۶۲/۸۷**	۰/۰۰۴**
تنش مس (B)	۳	۰/۶۷**	۷۶/۷۸**	۰/۰۰۰۷**
A × B	۹	۰/۰۱**	۰/۹**	۰/۰۰۰۰۱**
اشتباه آزمایش	۳۲	۰/۰۰۷	۰/۲۵	۰/۰۰۰۰۰۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۴/۵۲	۳/۸۱	۳/۶۹

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

روند تغییرات اثر سطوح مختلف تنش فلز سنگین سولفات مس بر درصد جوانه‌زنی و درصد گیاهچه طبیعی نشان داد که با افزایش در سطح تنش سولفات مس درصد جوانه‌زنی و درصد گیاهچه طبیعی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و استفاده از پیش‌تیمار بذری سبب افزایش در درصد جوانه‌زنی و درصد گیاهچه طبیعی شد، بالاترین درصد جوانه‌زنی و درصد گیاهچه طبیعی به‌ترتیب با میانگین ۹۴ و ۸۶ درصد مربوط به پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید و شرایط عدم تنش بود (شکل ۱ و ۲). با افزایش سطح تنش سولفات مس از صفر به ۳۰ میلی‌گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی به ترتیب برای بذر شاهد، هیدروپرایم، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید ۷۴، ۶۰، ۵۲ و ۵۴ درصد (شکل ۱) و برای درصد گیاهچه طبیعی به‌ترتیب ۹۱، ۶۷، ۵۴ و ۵۹ درصد کاهش یافت (شکل ۲). در شکل‌های ۱ و ۲ معادلات رگرسیونی خطی به نقاط مربوط به تیمارهای مختلف بذری در سطوح مختلف تنش سولفات مس برازش داده شده است و ضریب تبیین این معادلات بالای ۰/۹۵ می‌باشد.

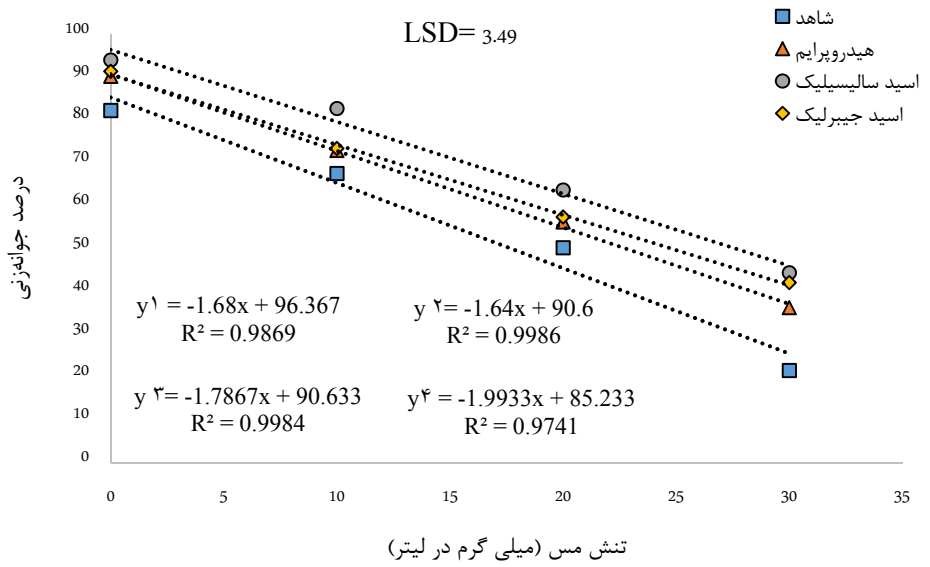
نتایج مقایسه میانگین اثر تنش فلز سنگین مس (سولفات مس) بر طول گیاهچه (شکل ۳)، بنیه بذر (شکل ۴) و سرعت جوانه‌زنی (شکل ۵) نشان داد که با افزایش در سطح تنش این صفات به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند و استفاده از پیش‌تیمار بذری به‌طور معنی‌داری سبب افزایش در این ویژگی‌ها شدند. نتایج نشان داد که بیشترین طول گیاهچه با میانگین ۱۰/۵۳ سانتی‌متر، بنیه بذر با میانگین ۹/۰۸ و سرعت جوانه‌زنی با میانگین ۳۰/۷۵ بذر در روز مربوط به پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید و شرایط عدم تنش بود (شکل‌های ۳، ۴ و ۵). معادلات رگرسیونی برازش داده‌شده به نقاط دارای ضریب تبیین بالای ۰/۹۵ بود.

تحمل گیاهان به تنش فلز سنگین در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به‌عنوان کلید استقرار گیاهان تحت شرایط محدودکننده است. پاسخ به تنش‌های محیطی در گیاهان عالی یک پدیده‌ی پیچیده و غیرقابل‌انکار است. نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی نشان داد که غلظت‌های اعمال شده مس (سولفات مس) اثرات منفی بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشته و موجب اختلال در رشد می‌شوند. نتایج به‌دست آمده با نتایج بسیاری از محققین در رابطه با اثر فلزات سنگین بر جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی هم‌خوانی دارد (صابری و همکاران، ۱۳۸۹؛ رمضانی و همکاران، ۱۳۹۳؛

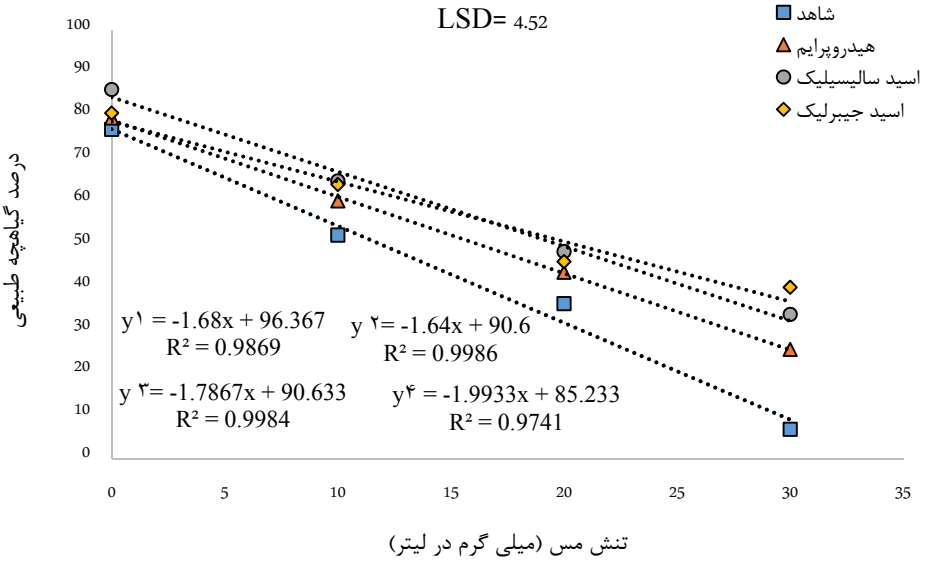
Archive of SID

www.SID.ir

رسولی و همکاران، ۱۳۹۲). در ادامه نتایج نشان داد که پیش‌تیمار بذر سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی تحت شرایط تنش مس (سولفات مس) خواهد شد و اثر پیش‌تیمارهای بذری بر روی درصد جوانه‌زنی و درصد گیاهچه طبیعی در سطوح بالای تنش بیشتر از سطح شاهد بود، نتایج به‌دست آمده با نتایج طویلی و همکاران (۱۳۹۲) در رابطه با اثر سالیسیلیک اسید در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم مطابقت دارد. با افزایش غلظت فلزات سنگین مقدار ABA افزایش خواهد و این

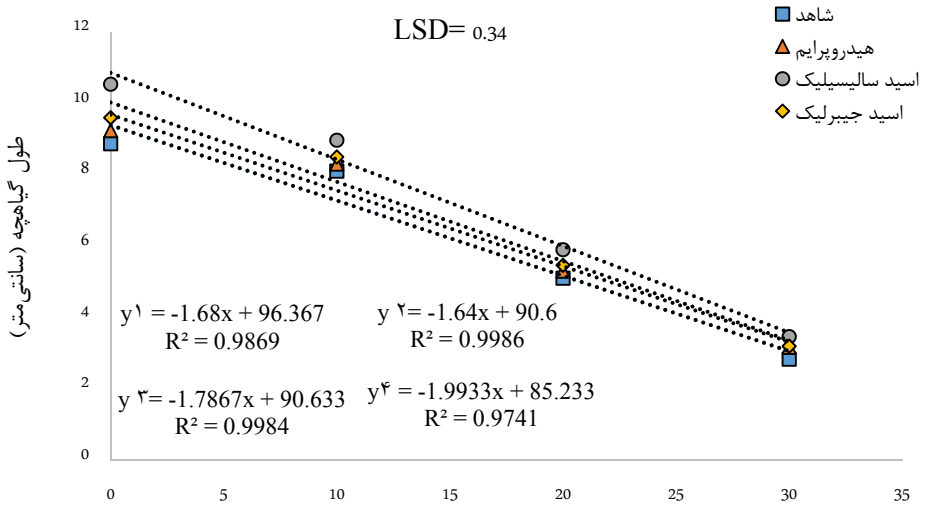


شکل ۱- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر درصد جوانه‌زنی بذر کلزا. y1، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.

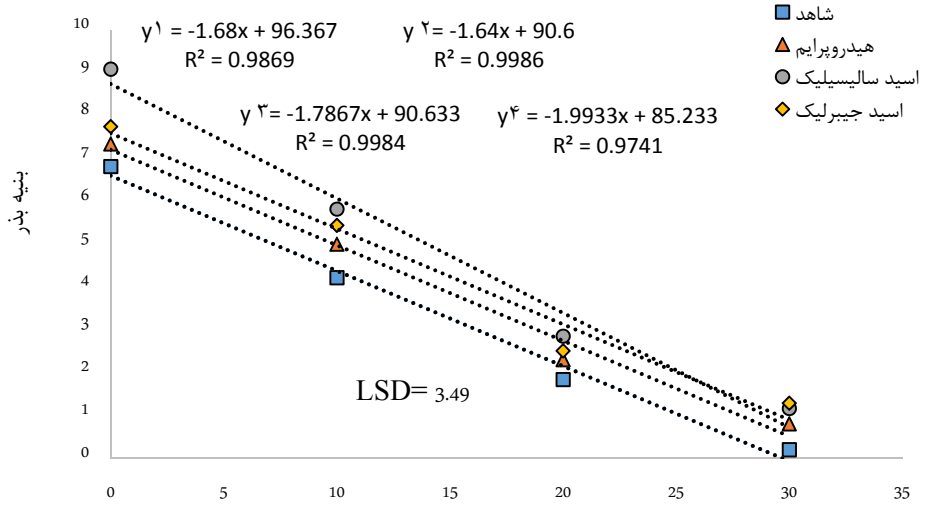


شکل ۲- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر درصد گیاهچه طبیعی بذر کلزا.y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.

www.SID.ir

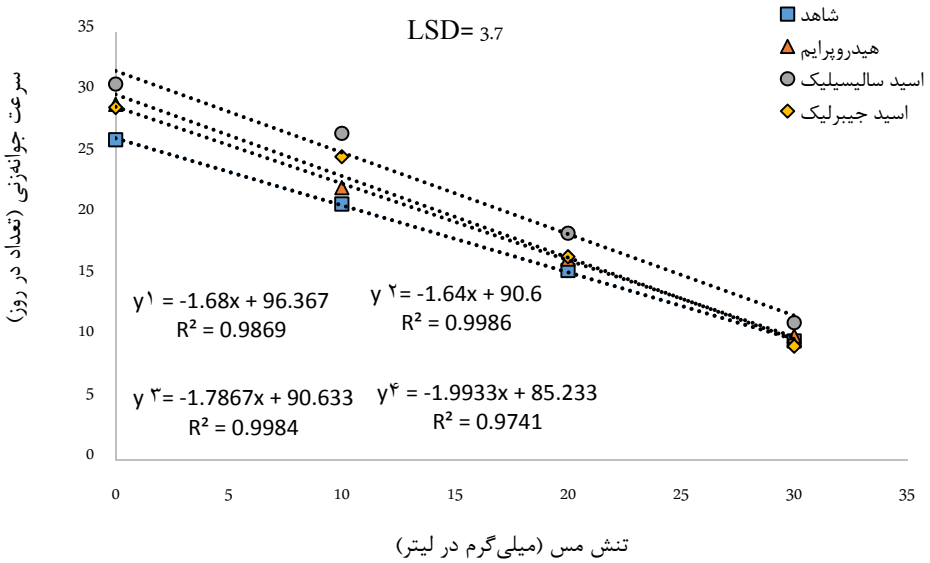


شکل ۳- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر طول گیاهچه کلزا.y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.



شکل ۴- روند تغییرات میانگین اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر بنیه بذر کلزا.y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.

www.SID.ir



شکل ۵- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر سرعت جوانه‌زنی بذر کلزا.y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.

افزایش می‌تواند دلیل کاهش در جوانه‌زنی در حضور فلزات سنگین باشد (مانزروگلو و گکیل[1]، ۲۰۰۲).

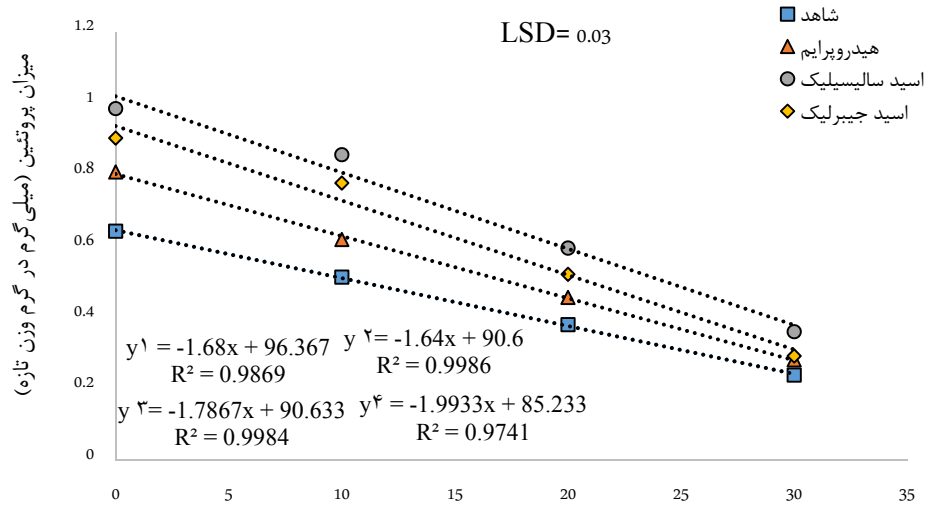
با توجه به نتایج طول گیاهچه در سطوح بالای تنش به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر پیش‌تیمار بذر قرار نگرفت، ولی تأثیر پیش‌تیمار بذر بر بنیه بذر و سرعت جوانه‌زنی بیشتر از طول گیاهچه بود. دلیل افزایش در بنیه بذر می‌تواند افزایش در درصد گیاهچه طبیعی در اثر استفاده از پیش‌تیمار بذر باشد و دلیل آن این است که بنیه بذر از حاصل‌ضرب درصد گیاهچه طبیعی و طول گیاهچه حاصل می‌شود. نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که استفاده از پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خواهد شد که با نتایج به‌دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد (طویلی و همکاران، ۱۳۹۲؛ انصاری و همکاران، ۲۰۱۲؛ انصاری و همکاران، ۲۰۱۳؛ بصرا و همکاران، ۲۰۰۶). تیمار بذر سبب افزایش در انتقال مواد ذخیره‌ای بذر به محور جنینی شده و همچنین فعال شدن تنظیم‌کننده‌های رشد سبب رشد بیشتر محور جنینی و در نتیجه افزایش در جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و در نتیجه افزایش در طول گیاهچه خواهد شد (انصاری و همکاران، ۱۳۹۲).

نتایج مقایسه میانگین اثر تنش مس (سولفات مس) و پیش‌تیمار بذر بر تغییرات بیوشیمیایی کلزا نشان داد که با افزایش در سطوح تنش مس (سولفات مس) میزان پروتئین کاهش ولی فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان پرولین افزایش یافت (شکل‌های ۶، ۷ و ۸). نتایج نشان داد که پیش‌تیمار بذر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش در پروتئین، فعالیت کاتالاز و میزان پرولین شد. اثر پیش‌تیمار بذر بر افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح پایین تنش (شاهد) نسبت به سطوح بالاتر تنش بیشتر بود ولی در مورد پرولین افزایش در پرولین در سطوح بالاتر تنش بیشتر بود. به‌طور کلی نتایج نشان داد که بالاترین میزان پروتئین، فعالیت کاتالاز و میزان پرولین مربوط به پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید بود ولی اثر سالیسیلیک اسید بر تغییرات بیوشیمیایی بیشتر بود (شکل‌های ۶، ۷ و ۸). ضرایب تبیین معادلات رگرسیونی خطی برازش داده شده به نقاط بالای ۰/۹۵ بودند.

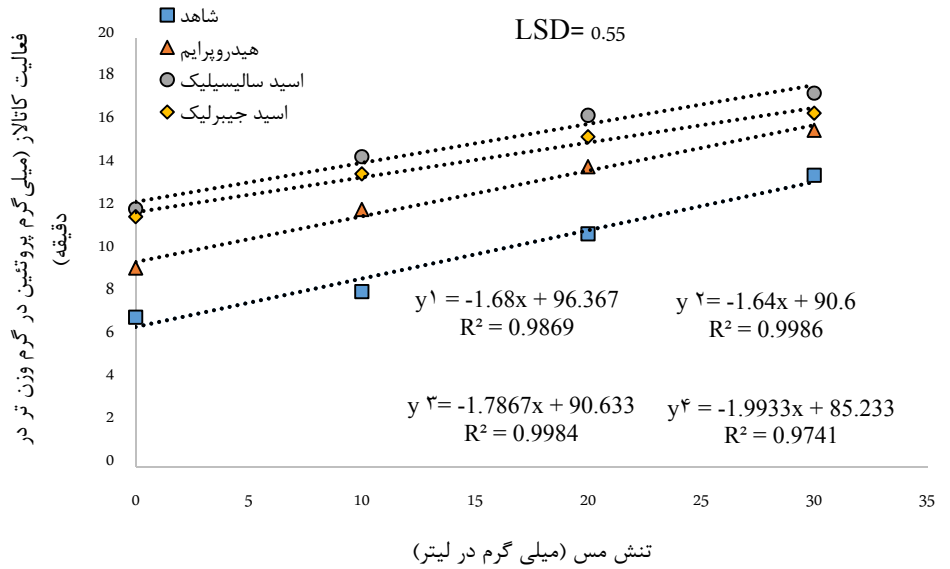
تنظیم‌کننده‌های رشد از درجه اهمیت بالایی برای کاهش اثرات منفی ناشی از اثر فلزات سمی به‌ویژه در مرحله رشد گیاه (جوانه‌زنی و رشد رویشی) برخوردار است. افزایش رشد در حضور سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید در برخی گونه‌های گیاهی گزارش شده

[1] Munzuroglu and Geckil

Archive of SID
www.SID.ir

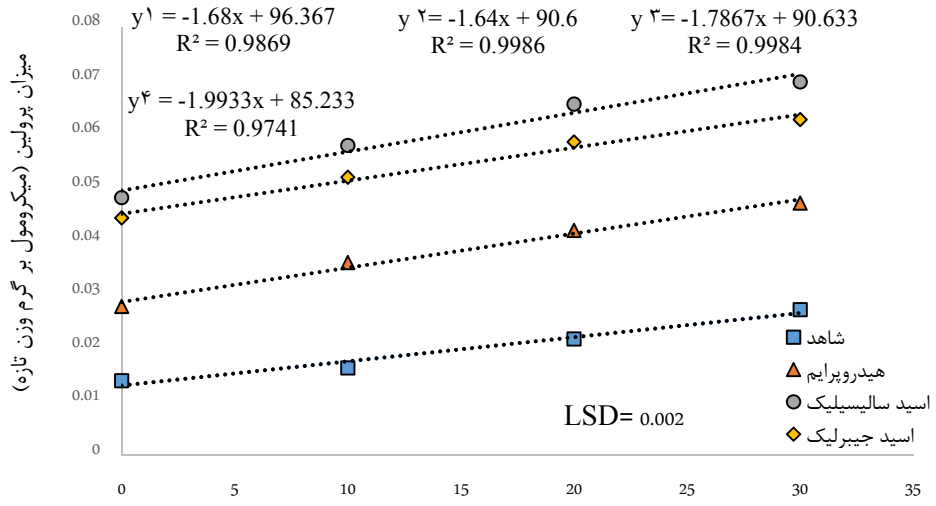


شکل ۶- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر میزان پرولین کلزا. y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.



شکل ۷- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر فعالیت آنزیم کاتالاز کلزا. y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.

www.SID.ir



شکل ۸- روند تغییرات اثر پیش‌تیمار بذر و تنش سولفات مس بر میزان پرولین کلزا. y1 ، y2، y3 و y4 به ترتیب معادلات رگرسیون خطی برای سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید، هیدروپرایم و شاهد را نشان می‌دهند.

است (شاریکووا[1] و همکاران، ۲۰۰۳؛ انصاری و همکاران، ۲۰۱۲). سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک مولکول القایی در سیستم دفاعی گیاهان مطرح است (شاه[2]، ۲۰۰۳؛ آلورز[3]، ۲۰۰۰). از جمله علل کاهش اثرات ناشی از تنش‌ها این است که سالیسیلیک اسید باعث افزایش بعضی از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اکسین و سیتوکنین‌ها و کاهش نشت یونی می‌گردد (شاریکووا و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین سالیسیلیک اسید از راه توسعه واکنش‌های ضد تنشی نظیر افزایش تجمع پرولین باعث تسریع در بهبود رشد پس از رفع تنش می‌شود (شاریکووا و همکاران، ۲۰۰۳) شاید دلیل احتمالی اثرات بیشتر اسید سالسیلیک همین موضوع باشد. سالیسیلیک اسید از طریق سازمان‌دهی مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان، تغییر تعادل تنظیم‌کننده‌ی رشد، افزایش بعضی از تنظیم‌کننده‌های رشد شامل اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها، تجمع پرولین، بی‌تحرکی فلزات سنگین و خروج این فلزات سمی از فرآیندهای متابولیک، کاهش اثر سمیت فلز سنگین را علی‌رغم افزایش غلظت آن در پی دارد (طویلی و همکاران، ۱۳۹۲). به‌طور کلی بیان شده است که استفاده از پیش‌تیمار بذر تحت شرایط تنش سبب افزایش انتقال مواد ذخیره‌ای بذر به جنین شده و این افزایش در انتقال مواد سبب رشد بهتر جنین و در نتیجه افزایش جوانه‌زنی و افزایش در سایر شاخص‌های جوانه‌زنی خواهد شد، در ادامه افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی به افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نسبت داده شد (انصاری و همکاران، ۲۰۱۳).

با افزایش در شدت تنش مس (سولفات مس) میزان پروتئین کاهش، فعالیت کاتالاز و میزان پرولین افزایش یافت. به نظر می‌رسد افزایش در میزان پرولین یکی از راهکارها جهت تحمل بیشتر شرایط تنش در گیاه باشد.

تولید پرولین یکی از سازوکارهای مهم سمیت زدایی فلزات سنگین سمی در اکثر گیاهان بوده و تجمع پرولین در گیاهانی که در معرض تنش فلزات سنگین می‌باشند، موجب کاهش آسیب به غشاء و پروتئین‌ها می‌گردد (چراتی آرایی و خانلریان خطیری، ۱۳۸۷؛ ورما، ۱۹۹۹)؛ بنابراین استفاده از پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در میزان پرولین شده و افزایش میزان پرولین ممکن است از تخریب پروتئین‌ها تحت شرایط تنش فلز سنگین جلوگیری کرده و از این راه سبب افزایش میزان پروتئین در مقایسه با شرایط بدون پیش‌تیمار بذر شود. گزارش شده است که استفاده از پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در پرولین، پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط

[1] Sharikova
[2] Shah
[3] Alvarez

Archive of SID
www.SID.ir

تنش شوری و خشکی و عدم تنش خواهد شد که این تغییرات بیوشیمیایی سبب تحمل گیاه در برابر تنش خواهد شد (احمدی دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۱). کاتالاز در مقایسه با سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حساسیت بیشتری را نسبت به تنش‌های فلز سنگین دارد و احتمال دارد با افزایش تنش فلزات سنگین به بالاتر از حد آستانه و یا در سطوح بسیار بالای تنش به‌دلیل خسارت واردشده به سیستم‌های دفاعی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش یابد (رمضانی و همکاران، ۱۳۹۳).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد با افزایش در سطوح تنش مس (سولفات مس) شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش یافت و استفاده از سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید و هیدروپرایم سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی شد. بالاترین شاخص‌های جوانه‌زنی از تیمار بذر با اسید سالیسیلیک به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که تنش فلز سنگین مس (سولفات مس) سبب افزایش در میزان پرولین به میزان ۳۵ درصد و آنزیم کاتالاز به میزان ۳۷ درصد و کاهش در میزان پروتئین به میزان ۶۵ درصد نسبت به شاهد شد ولی پیش‌تیمار بذر سبب افزایش در میزان پرولین و آنزیم کاتالاز و پروتئین در مقایسه با بذر پیش‌تیمار نشده در شرایط تنش و عدم تنش شد. دلیل افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی در طی شرایط تنش فلز سنگین می‌تواند افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز، پرولین و پروتئین باشد؛ بنابراین با استفاده از پیش‌تیمار بذر با تنظیم‌کننده‌های رشد (سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید) به‌ویژه سالیسیلیک اسید می‌توان صدمات و خسارات ناشی از تنش فلز سنگین مس را تا حدودی کم کرد و تحمل گیاه به شرایط تنش فلز سنگین مس را افزایش داد. به‌طور کلی افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی در اثر استفاده از پیش‌تیمار بذر در شرایط تنش و عدم تنش فلز سنگین می‌تواند به افزایش در آنزیم‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد دخیل در جوانه‌زنی مرتبط باشد.

منابع

احمدپور دهکردی، س. و بلوچی، ح.ر. ۱۳۹۱. اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول گیاهچه سیاه‌دانه تحت تنش خشکی و شوری، مجله الکترونیکی تولید گیاهان زراعی، ۵(۴): ۸۵-۶۳.

انصاری، ا.، توکل افشاری، ر.، شریف‌زاده، ف. و شایانفر، ع. ۱۳۹۲. روند مصرف مواد ذخیره‌ای و جوانه‌زنی بذر چاودار کوهی (*Secale montanum*) تحت تنش شوری و پرایمینگ. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۴(۲): ۱۸۹-۱۸۱.

چراتی آرایی، ع.، خانلریان خطیری، م. ۱۳۸۷. بررسی تأثیر سرب بر جوانه‌زنی، مقدار پروتئین و پرولین و ارزش تحمل به سرب در دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.). علوم محیطی، ۵(۳): ۵۲-۴۱.

رسولی، د.، فاخری، ب.ف فرهادوند، س. و مینایی، آ. ۱۳۹۲. تأثیر سطوح مختلف مس و نیکل بر جوانه‌زنی و رشد گیاه توت روباهی (*Sanguisorba minor* L.). نشریه علمی پژوهشی مرتع، ۷(۳): ۲۱۱-۲۰۲.

رمضانی، ف.، شایان‌فر، ع.، توکل افشاری، ر. و رشایی، ک. ۱۳۹۳. تأثیر نانو ذرات نیکل، روی و روی-مس بر جوانه‌زنی، استقرار و فعالیت آنزیمی بذر گیاه یونجه. نشریه علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۵(۱): ۱۱۸-۱۰۷.

صابری، م.، طویلی، ع.، جعفری، م. و حیدری، م. ۱۳۸۹. تأثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های *Atripex lentiformis* مجله علمی پژوهشی مرتع، ۴(۱): ۱۲۰-۱۱۲.

Archive of SID

www.SID.ir

طویلی، ع.، صابری، م.، شهریاری، ع. و حیدری، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه دانه‌رست *Bromus tomentellus Boiss* در شرایط تنش کادمیوم. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۶(۲): ۲۱۶-۲۰۸.

Aberg, B. 1981. Plant growth regulators. XLI. Monosubstituted benzoic acid. Swedish Journal of Agricultural Research, 11: 93-105.

Afzal, I., Basra. S., Farooq, M., and Nawaz, A. 2006. Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. Agricultural and Biological, 1: 23-37.

Alvarez, M. 2000. Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. Plant Molecular and Biology, 44: 429-442.

Ansari, O., Azadi, M.S., Sharif-Zadeh, F., and Younesi, E. 2013. Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress conditions. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 9(3): 61-71.

Ansari, O., Choghazardi, H.R., Sharif Zadeh, F., and Nazarli, H. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. Cercetări Agronomice în Moldova, 45(2): 43-48.

Ashraf, M., and Rauf, H. 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) through seed priming with chloride salts: growth and ion transport at early growth stages. Acta Physiologiae Plantarum, 23(4): 407-414.

Basra, S.M.A., Farooq, M., Wahid, A., and Khan, M.B. 2006. Rice seed invigoration by hormonal and vitamin priming. Seed Science and Technology, 34(3): 753-758.

Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teave, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Nalytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254.

Godbold, D.L. 1994. Aluminium and heavy metal stress: from the rhizosphere to the whole plant. Effects of Acid Rain on Forest Processes, 12: 231.

Haehnel, W. 1984. Photosynthetic electron transport in higher plants. Annual Review of Plant Physiology, 35(1): 659-693.

International Seed Testing Association. 2010. International rules for seed testing.

Iqbal, M., and Ashraf, M. 2007. Seed treatment with auxins modulates growth and ion partitioning in salt-stressed wheat plants. Journal of Integrative Plant Biology, 49: 1003-1015.

Janda, T., Szalai, G., Tari, I., and Paldi, E. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta, 208(2): 175-180.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. Plant Soil and Environmental, 54(6): 262–270.

Li, W., Khan, M.A., Yamaguchi, S., and Kamiya, Y. 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. Plant Growth Regulation, 46(1): 45-50.

Lin, J., Jiany, W., and Liu, D. 2003. Accumulation of copper by roots, hypocotyls, cotyledons and leaves of sunflower (*Helianthus annus* L.). Bioresource Technology, 86(2): 151-155.

Archive of SID

www.SID.ir

Marschner, H., and Rimmington, G. 1988. Mineral nutrition of higher plants. Plant Cell Environment, 11: 147-148.

Munzuroglu, O., and Geckil, H. 2002. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptiles and hypocotyls growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 43(2): 203-213.

Noctor, G., and Foyer, C. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Biology, 49(1): 249-279.

Patade, V.Y., Maya, K., and Zakwan, A. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal of Seed Science, 4(3): 125-136.

Satake, M., Mido, Y., Yasuhisa, H., Taguchi, S., Sethi, M.S., and Iqbal, S.A. 1997. Environmental Toxicology. New Delhi: Discovery.

Shah, J. 2003. The salicylic acid loop in plant defense. Current Opinion in Plant Biology, 6(4): 365-371.

Sharikova, F., Sakhabutdinova, A., Bezrukova, M., Fatkhutdinova, R., and Fatkhudinova, D. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164(3): 317-322.

Verma, D.P.S. 1999. Osmotic stress tolerance in plants: role of proline and sulfur metabolisms. Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants. R. G. Landes Company, Texas,USA, 1999, pp. 153–168.

Archive of SID

www.SID.ir

Iranian Journal of Seed Research, Vol: 3(1), 2016

Effect of $Cu(SO_4)$ Stress and Plant Growth Regulators on Germination Characteristics and Biochemical Changes of *Brassica napus*

Syyed Ali Tabatabaei [1], Omid Ansari [2, *]

[1] *Associate Professor, Agricultural and Natural Resources Research Center of Yazd, Iran*
[2] *Ph.D Student of Science and Seed Technology, University of Gorgan, Gorgan, Iran*
*Corresponding author, E-mail address: ansari_O@ut.ac.ir

(Received: 20.06.2015 ; Accepted: 29.09.2015)

Abstract

The objective of this research was to evaluate the effect of salicylic acid and gibberellic acid on germination characteristics and changes of proline, protein and catalase activity of *Brassica napus* seedlings under $Cu(SO_4)$ stress. The experimental design was factorial with complete randomized design as a base design with 3 replications. The first factor was 4 levels of $Cu(SO_4)$ stress (0, 10, 20 and 30 mg/l), and the second factor was 4 levels of priming with salicylic acid and gibberellic acid 50 mg/l, hydro prime and control (non-priming). Results showed that with increasing levels of $Cu(SO_4)$ stress, germination characteristics (germination percentage, germination rate, normal seedling percentage, seedling length and seed vigor index) reduced and using of salicylic acid, gibberellic acid and hydro prime increased germination characteristics. The highest germination percentage (94%), germination rate (30.75 seed per day), normal seedling percentage (86.17%) seedling length (10.53 cm) and seed vigor index (9.08) were attained from priming by salicylic acid 50 ppm under non stress conditions. $Cu(SO_4)$ stress increased proline (35%) and catalase (37%) activity but reduced protein (65%) and priming increased proline, protein and catalase activity as compared to unprimed under stress and control conditions. In this study, using priming treatment salicylic acid had usually higher germination characteristics and catalase activity, total proteins and proline content in comparison with untreated or control seeds.

Keywords: Catalase, Gibberellic acid, Proline, Protein, Salicylic acid

Archive of SID

www.SID.ir