

تأثیر حذف غلاف بذر بر تحمل تنش شوری یونجه یک‌ساله (*Medicago scutellata* L.) در مرحله جوانه‌زنی

فرزانه فخاری، حسین صادقی*

بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط‌زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
*پست الکترونیک نویسنده مسئول: sadeghih@shirazu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۶)

چکیده

علی‌رغم اهمیت وجود یا حذف غلاف در بذر یونجه‌های یک‌ساله، متأسفانه پژوهش‌های چندانی در این مورد انجام نشده است. به‌منظور بررسی نقش حذف غلاف بر جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در یونجه یک‌ساله (*Medicago scutella* L.) در شرایط تنش شوری، آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۳ انجام شد. فاکتور اول شامل وجود یا حذف غلاف در بذر و فاکتور دوم تنش شوری در ۵ سطح شامل ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر با نمک کلرید سدیم و آب شهر به‌عنوان شاهد (۰/۶۲ دسی زیمنس بر متر) اعمال شد. نتایج نشان داد که تنش شوری سبب تغییر در ویژگی‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسیداز دیسموتاز و آسکوربیک پراکسیداز شد. با افزایش سطوح تنش شوری کاهش معنی‌داری در سرعت و درصد جوانه‌زنی و همچنین در طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن گیاهچه مشاهده شد. با این وجود؛ افزایش سطوح تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در بذرهای بدون غلاف بیشتر از بذرهای با غلاف بود؛ اما در مورد فعالیت آنزیم‌ها بین بذرهای با غلاف و بدون غلاف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ به‌جز فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز که در بذرهای بدون غلاف به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذرهای با غلاف بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاشت بذرهای بدون غلاف دارای مزیت‌های جوانه‌زنی و رشدی به‌ویژه در شرایط تنش شوری است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، طول ساقه‌چه، وزن گیاهچه

مقدمه

به‌طور معمول کلرید سدیم بیشترین شوری را تشکیل می‌دهد. یون‌های سدیم برای بسیاری از گیاهان سمی هستند، برخی از گیاهان یون‌های کلرید را مهار می‌کنند. نمک بالا نشان‌دهنده کمبود آب و یا تنش اسمزی به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی موجود در خاک است (ژو^۱، ۲۰۰۷). پاسخ گیاهان به تنش شوری بسیار پیچیده است. این پاسخ از غلظت نمک، نوع یون‌ها، عوامل مختلف محیطی و مرحله رشد و

شوری پس از خشکی مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش محیطی در ایران و جهان است و از عوامل عمده‌ای است که در حال حاضر تولید محصولات زراعی را کاهش می‌دهد. بالغ بر ۸ میلیون هکتار از زمین‌های جهان تحت تأثیر شوری قرار دارند (مصطفوی و حیدریان، ۱۳۹۱). به دلیل قرار داشتن ایران در منطقه آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک نزدیک به ۵۰٪ سطح زیر کشت محصولات کشاورزی به درجه‌های مختلف با مشکل شوری و قلیایی روبه‌رو می‌باشد (میر محمدی میبیدی و قره یاضی، ۱۳۸۱).

¹ Zhu

یونجه‌های یک‌ساله توانایی رشد و تطبیق در مناطق با پراکنش نامناسب بارندگی و معمولاً همراه با نوسانات سالیانه زیاد را دارند. لذا این گیاهان با مکانیسم‌های گوناگونی از جمله تولید بذر سخت و همچنین تولید بذر فراوان با خشکی مقابله می‌نمایند (صادقی و خانی، ۱۳۹۱). این گیاهان (یونجه‌های یک‌ساله) دارای پوشش بذر می‌باشند و زمانی که شرایط محیطی نامساعد باشد سرعت جوانه‌زنی آن‌ها پایین است (خائف^۲ و همکاران، ۲۰۱۱) از تغییرات بیوشیمیایی مهمی که تحت تنش شوری اتفاق می‌افتد تولید انواع اکسیژن فعال مانند سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌باشد. گیاه برای مقابله با این عوامل، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آن تغییر پیدا می‌کند. از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان به کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز اشاره کرد که در طی تنش میزان آن‌ها افزایش پیدا می‌کند (مونس و همکاران^۳، ۱۹۹۵). مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان یک راهکار دفاعی در گیاه افزایش پیدا می‌کند. کاتالاز سبب می‌شود این مولکول‌ها به آب و اکسیژن تبدیل شود. نتایج پرمون و همکاران (۱۳۹۲)، در بابونه، نشان داد با افزایش شدت تنش بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها افزوده گردیده به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت این دو آنزیم در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شده است. شواهد زیادی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز توسط تنش شوری گزارش شده است، شواهدی نیز مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شوری وجود دارد. تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز در سایر تنش‌ها نیز مشخص گردیده است (صادقی و رباتی^۴، ۲۰۱۵).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر وجود یا حذف غلاف بذر و برهمکنش آن با تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر، رشد اولیه گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در یونجه یک‌ساله (*Medicago scutellata* L.) بود.

نموی گیاه تأثیر می‌پذیرد. از یک‌سو، تنش اسمزی تحت شرایط شوری باعث آنگیری بافت‌های گیاهی می‌شود و بدین دلیل آن را خشکی فیزیولوژیک هم می‌نامند. از سوی دیگر، مسمومیت یونی در اثر تجمع یون‌های خاص به‌ویژه سدیم ایجاد می‌گردد که موجب اختلال در واکنش‌های متابولیک گیاه می‌شوند. (قوامی و همکاران، ۱۳۸۳).

اثرهای منفی شوری بر رشد گیاه، به علت پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک (تنش اسمزی)، اثرهای ویژه یونی (تنش شوری)، عدم تعادل عناصر غذایی یا مجموعه این عوامل ایجاد می‌شود (آذری و همکاران، ۱۳۹۱). خسارت شوری در گیاهان از طریق اثر اسمزی، اثر سمیت ویژه یون‌ها و اختلال در جذب عناصر غذایی می‌باشد (سلامی و همکاران، ۱۳۸۵). اگرچه گیاهان ممکن است هیچ علامتی برای کمبود آب و یا مواد غذایی و یا واکنش‌های متابولیکی در شوری‌های ملایم و کم از خود بروز ندهند ولی اثری اضافی که صرف بقای گیاه در این شرایط می‌گردد باعث محدود شدن محصولات فتوسنتزی برای رشد گیاه می‌گردد (قوامی و همکاران، ۱۳۸۳). از آنجا که تنش‌ها از مهم‌ترین عوامل کاهش رشد و عملکرد در گیاهان زراعی هستند؛ بنابراین، شناسایی گیاهان مقاوم به این شرایط با عملکرد مطلوب و همچنین مطالعه سازوکارهای مقاومت آن‌ها حائز اهمیت می‌باشد (قمری زارع و همکاران، ۱۳۸۷). شناخت خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان تحت تأثیر تنش شوری، شامل یون‌های سمی، پتانسیل اسمزی، عدم تعادل عناصر، سایر اختلالات فیزیولوژیکی و شیمیایی و همچنین تعامل بین این تنش‌های مختلف نیز حائز اهمیت است (قدس^۱، ۲۰۱۱).

گونه‌های یونجه یک‌ساله دارای ارزش زراعی بالایی هستند، تثبیت نیتروژن و کیفیت علوفه از خصوصیات لگوم‌هاست، بسیاری از لگوم‌های یک‌ساله ویژگی‌هایی دارند که آن‌ها را به‌طور ویژه‌ای با محیط‌های خشک سازگار کرده است. لگوم‌های یک‌ساله در مدیریت سیستم‌های چرای مناطق با بارندگی کم با اقلیم مدیترانه‌ای استفاده موفقیت‌آمیزی دارند. همچنین برای برنامه‌های کنترل فرسایش و احیا زمین استفاده می‌شوند.

² Khaef

³ Munns

⁴ Sadeghi and Robati

¹ Qados

مواد و روش‌ها

در این معادله GR سرعت جوانه‌زنی، N تعداد بذرهای جوانه‌زده در یک روز و D تعداد روزها از زمان شروع جوانه‌زنی است. برای تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از روش بریتون و مهلی^۲ (۱۹۵۵)، سوپر اکسیداز دیسموتاز از روش بی‌چامپ و فریدوویچ^۳ (۱۹۷۱) و اسکوربیک پراکسیداز از روش ناکانو و اسادا^۴ (۱۹۸۱) و از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biochrom Ltd, Biowave S2100, Cambridge, UK) استفاده شد. برآورد خطای استاندارد (Standard Error) داده‌ها برای مقایسه میانگین‌ها با برنامه SAS ver. 9.1 صورت گرفت.

نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه‌زنی

درصد جوانه‌زنی در هر دو نوع بذرهای با غلاف و بدون غلاف با افزایش شوری کاهش یافت (شکل ۱) ولی این مقدار در بذرهای بدون غلاف بیشتر از با غلاف است. در تنش شوری بین بذرهای با و بدون غلاف اختلاف معنی‌دار است و بیشترین درصد جوانه‌زنی ابتدا مربوط به بذرهای بدون غلاف تیمار شاهد (آب شهر) که مقدار آن ۱۰۰٪ بود و بعد از آن مربوط به بذرهایی که با آب ۳ دسی زیمنس بر متر آبیاری شدند برابر با ۹۷/۵ در صد است. کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط است به بذرهای با غلاف که با آب ۱۲ دسی زیمنس بر متر آبیاری شدند، برابر با ۳۷/۵ درصد بود.

سرعت جوانه‌زنی در هر دو نوع بذرهای با و بدون غلاف با افزایش تنش شوری کاهش یافت (شکل ۲). در تنش شوری، سرعت جوانه‌زنی بین بذرهای با و بدون غلاف، اختلاف معنی‌دار است. بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۱/۹۴) مربوط به بذرهای بدون غلاف بود که در شرایط شاهد قرار داشتند و کمترین مقدار سرعت جوانه‌زنی (۰/۴) در بذرهای دارای غلاف دیده شد که در شرایط شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر قرار گرفته بودند. شوری با کاهش پتانسیل اسمزی محلول

این آزمایش با هدف تعیین تأثیر وجود با حذف غلاف بر تحمل به شوری در گیاهچه‌های یونجه یک‌ساله (*Medicago scutellata* L.) در آزمایشگاه بخش مدیریت مناطق بیابانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در سال ۱۳۹۳ انجام شد. این پژوهش به صورت یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل دو سطح وجود یا حذف غلاف و پنج سطح تنش شوری آب شهر (۰/۶۲ به عنوان شاهد)، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود.

محلول‌ها از آب مقطر و نمک NaCl تهیه و با یک EC-meter پرتابل سطح آن‌ها کنترل شد. جهت ضدعفونی پتری دیش‌ها ابتدا در محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم (وایتکس) به مدت دو دقیقه قرار داده شده سپس توسط آب شسته شده و با استفاده از الکل ضدعفونی شدند. بذرهای پاکان بذر اصفهان تهیه شد. در هر کدام از پتری دیش‌ها ۲۰ عدد بذر بر روی دو عدد کاغذ صافی واتمن شماره ۲ کاشته شد و با محلول‌های تهیه‌شده آبیاری گردید. برای اعمال تیمارهای موردنظر ۲ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه‌شده به پتری دیش‌ها اضافه و برای ممانعت از تبخیر آب، آن‌ها را داخل پلاستیک سیاه‌رنگی جاسازی و کاملاً بسته شد و پس از آن پتری دیش‌ها تا پایان جوانه‌زنی بذر، در ژرمیناتور و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

تعداد بذر جوانه‌زده به‌طور روزانه تا روز ۱۲۰م ثبت‌شده و پس از پایان آزمایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه اندازه گرفته شد. برای تعیین وزن گیاهچه ۱۰ عدد گیاهچه به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از ترازوی دقیق دیجیتالی توزین شدند. درصد و سرعت جوانه‌زنی بر اساس رابطه‌های ۱ و ۲ زیر تعیین گردید (پیرسته انوشه و همکاران^۱، ۲۰۱۱).

$$G\% = \frac{GN}{N} \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

در این معادله، G% درصد جوانه‌زنی، GN تعداد بذر جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای کاشته شده بود.

$$GR = \sum \frac{N}{DN} \quad \text{رابطه ۲:}$$

² Britton and Mehley

³ Beauchamp and Fridorich

⁴ Nakano and Asada

¹ Pirasteh Anoshe

نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری طول ساقچه در هر دو نوع بذر دارای غلاف و بدون غلاف کاهش یافت (شکل ۴). از نظر طول ساقچه بین بذره‌های دارای غلاف و بدون غلاف اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بیشترین طول ساقچه (۳۱ میلی‌متر) مربوط به بذره‌های بدون غلاف بود که تحت تیمار شاهد قرار داشتند در حالی که کمترین طول (۱۰/۴۵ میلی‌متر) در بذره‌های دارای غلاف دیده شد که تحت تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر قرار گرفته بودند.

با افزایش تنش شوری وزن گیاهچه در هر دو نوع بذر دارای غلاف و بدون غلاف کاهش یافت (شکل ۵). بین بذره‌های دارای غلاف و بدون غلاف از نظر وزن گیاهچه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین وزن گیاهچه، ۰/۷۵ گرم مربوط به بذره‌های بدون غلاف و در تیمار شاهد و کمترین وزن، ۰/۰۵ گرم مربوط به بذره‌های با غلاف که با شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر آبیاری شدند. با افزایش تنش طول ساقچه و ریشه‌چه کاهش می‌یابد که با نتایج حسینی و رضوانی‌مقدم (۱۳۸۵) بر روی گیاه اسفزه، سلامی و همکاران (۱۳۸۵) بر روی گیاه زیره و سنبل‌الطیب، مصطفوی و حیدریان (۱۳۹۱) بر روی گیاه آفتابگردان، سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی یونجه (*Medicago sativa* L.)، میری و میرجلیلی (۲۰۱۳) بر روی (*Echinacea purpurea*)، معصومی زواریان و همکاران (۱۳۹۲) بر روی ماریغال (*Silybum marianum* L.) مطابقت داشت. دلیل کاهش طول ریشه‌چه و ساقچه در سطوح بالای کلرید سدیم به واسطه اثرات منفی کلرید سدیم بر روی غشای سلولی و ایجاد مسمومیت یونی و تخریب غشای سیتوپلاسمی می‌باشد. همچنین کلرید سدیم می‌تواند موجب اختلال در فعالیت برخی از آنزیم‌های مؤثر بر رشد گیاه شده و از این طریق موجب کاهش طول ریشه‌چه و ساقچه گردد (معصومی زواریان و همکاران، ۱۳۹۲).

با افزایش تنش شوری وزن گیاهچه در هر دو نوع بذره‌های با و بدون غلاف کاهش یافت که با نتایج مصطفوی و حیدریان (۱۳۹۱) بر روی گیاه آفتابگردان

و تولید یون‌های سمی جوانه‌زنی گیاه را کاهش می‌دهد و غلظت نمک و یون‌های تشکیل‌دهنده محلول، فاکتورهای اساسی در کاهش درصد جوانه‌زنی هستند. (آذری و همکاران، ۱۳۹۱). در غلظت‌های متوسط یا کم، کاهش پتانسیل اسمزی عامل محدودکننده جوانه‌زنی است. ولی در غلظت‌های بالا سمیت یونی و در ادامه آن با افزایش جذب یون‌ها، به‌خصوص کلرور سدیم، عدم تعادل بین عناصر غذایی از عوامل مهم ایجاد اختلال و کاهش درصد جوانه‌زنی محسوب می‌شوند (معصومی زواریان و همکاران، ۱۳۹۲). در آزمایش حاضر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی با افزایش تنش شوری افزایش یافته که با نتایج حسینی و رضوانی‌مقدم (۱۳۸۵) بر روی گیاه اسفزه (*Plantago ovate*)، کاظم‌زاده حقیقی (۱۳۸۹) بر روی سورگوم علوفه‌ای، میری و میرجلیلی^۱ (۲۰۱۳) بر روی گیاه (*Echinacea purpurea*)، سلامی و همکاران (۱۳۸۵) بر روی گیاه زیره و سنبل‌الطیب، صادقی و خانی (۱۳۹۱) بر روی یونجه یک‌ساله (*Medicago polymorpha*) و پرمون و همکاران (۱۳۹۲) بر روی گیاه بابونه مطابقت داشت. درصد جوانه‌زنی در بذره‌های بدون غلاف از بذره‌های با غلاف بیشتر بود که با نتایج صادقی و خانی (۱۳۹۱) یکسان است، طبق نظر تیلر^۲ و همکاران (۱۹۸۴) دلیل آن وجود پوسته سختی است که عامل اصلی دوره خواب در آن‌هاست که سازوکار جوانه‌زدن و ظهور گیاهچه در بذور یونجه‌های یک‌ساله را با مشکل مواجه می‌کند (صادقی و خانی، ۱۳۹۱).

رشد گیاهچه

در شکل ۳ نشان داده شده است که با افزایش تنش شوری طول ریشه‌چه در هر دو نوع بذر دارای غلاف و بدون غلاف کاهش یافت. بیشترین مقدار طول ریشه‌چه (۷۲/۳ میلی‌متر) مربوط به بذره‌های بدون غلاف بوده که تحت تیمار شاهد قرار داشتند در حالی که کمترین طول ریشه‌چه (۱۴/۷ میلی‌متر) در بذره‌های دارای غلاف دیده شد که تحت تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر قرار گرفته بودند.

¹ Miri and Mirjalili

² Taylor

۵۱۲/۴۳ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به بذرهای بدون غلاف با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین فعالیت آن (۳۱۱/۲۱) میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به بذرهای با غلاف و در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنان که نتایج ارائه شده در این پژوهش نشان داد با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیداز دسمیوتاز در هر دو نوع بذر دارای غلاف و بدون غلاف افزایش یافت. با افزایش تنش شوری و افزایش غلظت NaCl فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاتالاز، پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیداز دسمیوتاز در هر دو نوع بذرهای با و بدون غلاف افزایش یافت. با افزایش شوری، سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه فعال شده و با افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز به‌عنوان اولین سد دفاعی در مقابل رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارات ناشی از تنش شوری مقاومت می‌نماید (ثابت تیموری و همکاران، ۱۳۸۶). دهقانی و مستاجران (۱۳۸۹) با مطالعه روی گیاه زنجبیل گزارش دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز روی ساقه و برگ کاهش یافت. فعالیت آنزیم سوپراکسیداز در گندم رقم سرداری با افزایش تنش شوری افزایش یافت و در رقم الوند در تمامی سطوح تنش ثابت بود (اسفندیاری^۱ و همکاران، ۲۰۰۷) ثابت تیموری و همکاران (۱۳۸۶) با مطالعه تأثیر سطوح مختلف شوری بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ بر روی کنجد (*Sesamum indicum* L.) گزارش دادند که در تمامی آنزیم‌های مورد بررسی، سطح فعالیت آنزیم با افزایش سن گیاه و گذر از دوره رشد رویشی افزایش نشان داد که دلیل آن اهمیت این دوره از رشد گیاه در جهت تداوم بقا می‌باشد و با گذر از مرحله رشد رویشی، مجدداً فعالیت آنزیم‌های دفاعی کاهش یافت، این می‌تواند به دلیل این باشد که گیاه در مواجهه با تنش انرژی کمتری صرف فعالیت‌های دفاعی نمود.

و سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی یونجه (*Medicago sativa* L.) مطابقت دارد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو نوع بذر دارای غلاف و بدون غلاف افزایش یافت (شکل ۶). در تمامی سطوح تنش شوری بین بذرهای دارای غلاف و بذرهای بدون غلاف اختلاف معنی‌داری از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز وجود نداشت. با افزایش تنش شوری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو نوع بذر دارای غلاف و بدون غلاف افزایش یافت (شکل ۷). در تمامی سطوح تنش بین بذرهای با و بدون غلاف اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به بذرهای بدون غلاف، ۴۸/۸۷ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین و پس از آن با غلاف، ۴۸/۳۲ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر است. کمترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به بذرهای با غلاف، ۱۱/۳۵ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین و پس از آن، ۱۲/۲۲ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین بدون غلاف و در تیمار شاهد دیده شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسمیوتاز در هر دو نوع بذرهای با و بدون غلاف افزایش یافته است (شکل ۸). در تمامی سطوح تنش اختلاف معنی‌داری بین بذرهای با غلاف و بدون غلاف وجود ندارد. بیشترین فعالیت این آنزیم در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر برای بذرهای با غلاف (۱۹۸/۶۴) میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین و بذرهای بدون غلاف (۱۹۶) میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین و کمترین فعالیت آنزیم (۱۰۲/۳۲) میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین برای بذرهای با غلاف و (۱۰۴/۰۶) میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین برای بذرهای بدون غلاف و در تیمار شاهد دیده شد. به‌طور کلی نتایج جدول تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نشان داد که اثر متقابل تنش و حذف غلاف بر صفات مورد بررسی معنی‌دار بود (جدول ۱).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذرهای با و بدون غلاف افزایش یافته است (شکل ۹). بین بذرهای با غلاف و بدون غلاف به غیر از تیمار شاهد در بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار است. بیشترین فعالیت این آنزیم،

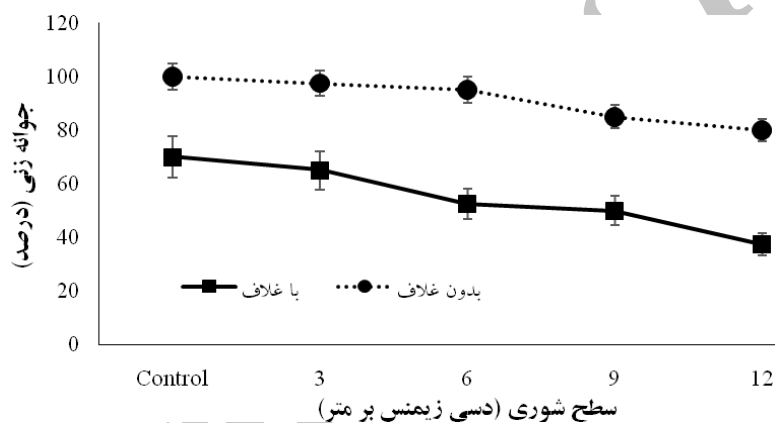
¹ Esfandiari

فخاری و صادقی: تأثیر حذف غلاف بذر بر تحمل تنش شوری یونجه یکساله...

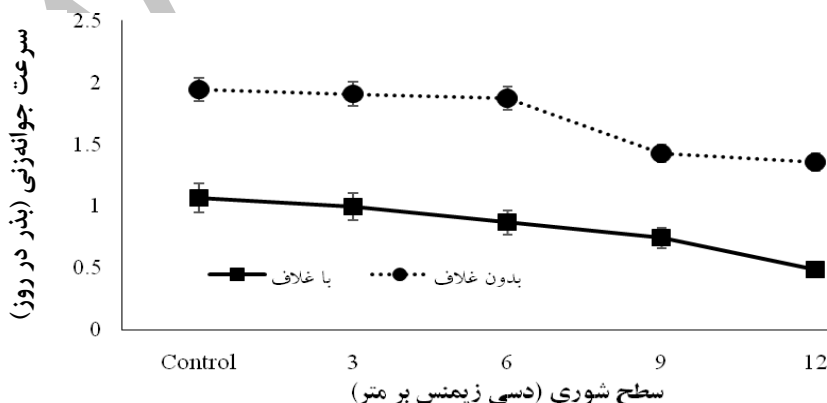
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات بذر یونجه یکساله در سطوح مختلف شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	وزن خشک گیاه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه
نوع غلاف	۱	۷۴/۸۵۲ ^{NS}	۱۷/۰۱۴ ^{NS}	۰/۴۲۵ ^{NS}	۰/۹۳۷ ^{NS}	۰/۰۱۸۳ ^{NS}	۰/۰۱۳۵ ^{NS}	۰/۰۰۰۶ ^{NS}
سطوح تنش	۴	۳۲۱/۷۹۶*	۴۷/۰۱۹*	۰/۷۴۴*	۰/۷۱۱**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۱۲۳۸ ^{NS}	۰/۰۰۰۱ ^{NS}
اثر متقابل	۴	۱۴۸/۶۸۵*	۰/۰۰۸*	۲/۱۵۱**	۰/۱۳۵**	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۲۳۱*	۰/۰۰۰۱**
خطا	۱۲	۳۹۶/۲۸۳	۰/۰۰۷	۰/۳۲۰	۰/۰۵۹	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۲
ضریب تغییرات (%)		۱۴/۶۶	۱۸/۰۴	۱۹/۰۱	۱۸/۶۶	۱۹/۵۶	۱۷/۰۲	۲۰/۴۸

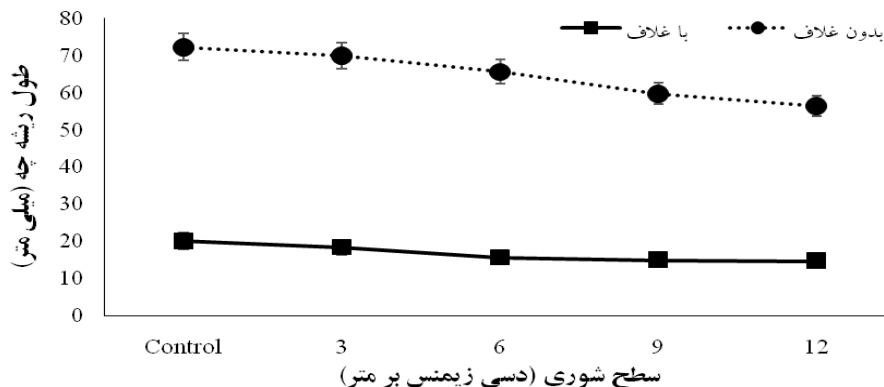
NS و *، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار



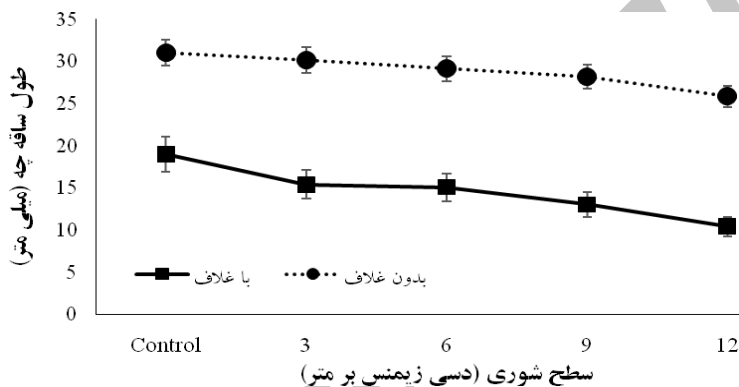
شکل ۱- تأثیر تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یکساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.



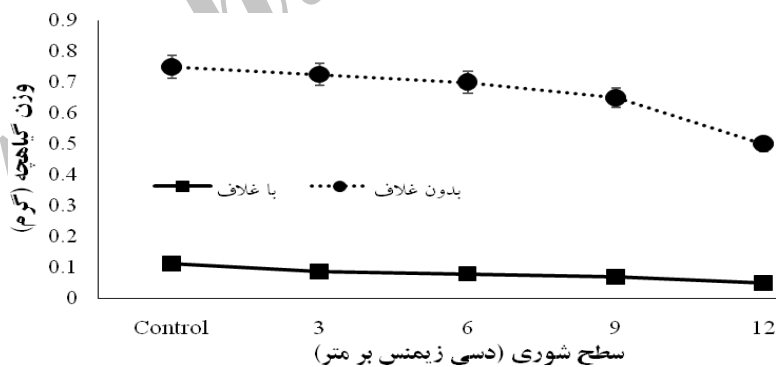
شکل ۲- تأثیر تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یکساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۳- تأثیر تنش شوری بر طول ریشه در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

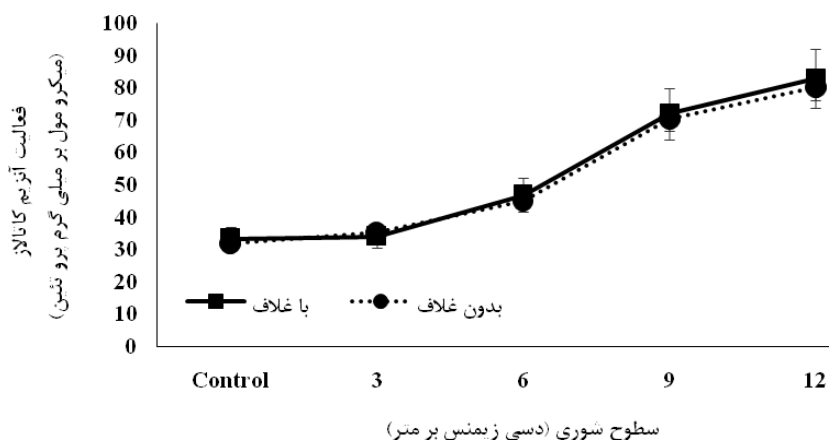


شکل ۴- تأثیر تنش شوری بر طول ساقچه در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

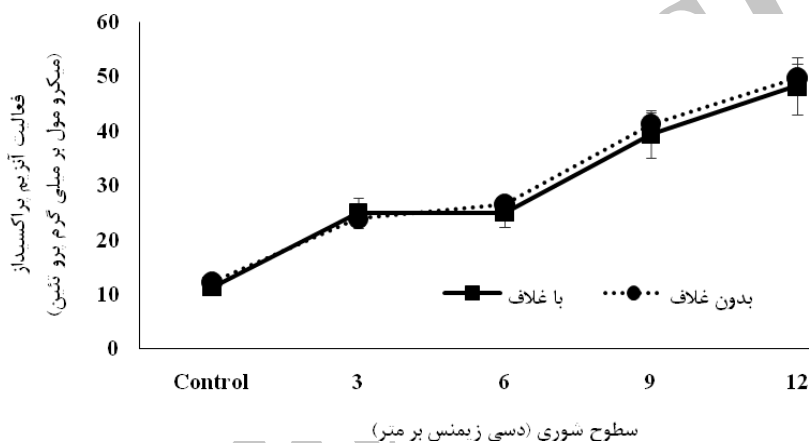


شکل ۵- تأثیر تنش شوری بر وزن گیاهچه در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

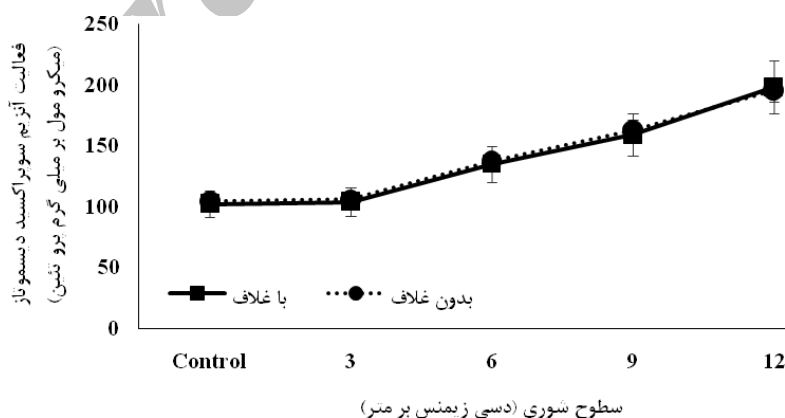
فخاری و صادقی: تأثیر حذف غلاف بذر بر تحمل تنش شوری یونجه یک‌ساله...



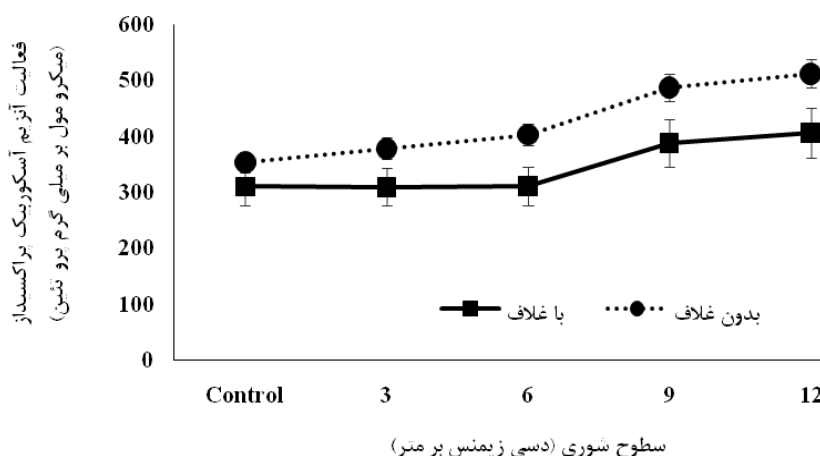
شکل ۶- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۷- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۸- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۹- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بذرهای با غلاف و بدون غلاف یونجه یک‌ساله میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

و اسکوربیک پراکسیداز در شرایط بیشترین تنش و کمترین فعالیت آنزیم‌ها در شرایط بدون تنش (آب شهر) مشاهده گردید. از نظر میزان فعالیت آنزیم بین بذرهای با و بدون غلاف، به غیر از آنزیم اسکوربیک پراکسیداز، در تمامی سطوح تنش اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین مشاهده شد که زدودن غلاف موجب جوانه‌زنی و رشد بهتر و افزایش به تحمل شوری در یونجه گردید.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی تنش شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه و ریشه‌چه و وزن گیاهچه گردید. به‌طوری که بیشترین مقادیر برای صفات مذکور در شرایط بدون تنش (آب شهر) و کمترین آن در شرایط بیشترین تنش مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیداز دیسموتاز

منابع

- آذری، ا.، ع. مدرس ثانوی، ح. عسکری، ف. قناتی، ا. ناجی و علیزاده، ب. ۱۳۹۱. اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brassica napus and B. rapa*). مجله علوم زراعی ایران، ۱۴: ۱۳۵-۱۲۱.
- پرمون، ق.، عبادی، ع.، قوی‌عظم، ع. و میری، م. ۱۳۹۲. اثر پیش تیمار بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بامونه در شرایط شوری. نشریه تولید گیاهان زراعی، ۶(۳): ۱۶۴-۱۴۵.
- ثابت تیموری، م.، خزایی، ح.، نظامی، ا. و نصیری محلاتی، م. ۱۳۸۶. تأثیر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کنجد (*Sesamum indicum L.*). آب، خاک و گیاه در کشاورزی، ۱۴: ۱۱۹-۱۰۹.
- حسینی، ح. و رضوانی‌مقدم، پ. ۱۳۸۵. اثر تنش خشکی و شوری بر جوانه‌زنی اسفرزه (*Plantago ovata*). مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۱: ۱۵-۲۲.
- دهقانی، ا. و مستاجران، ا. ۱۳۸۹. اثر تنش شور بر رشد رویشی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale Roscoe.*). فصلنامه داروهای گیاهی، ۱(۱): ۱۰-۱.
- سلامی، م.ر.، صفرنژاد، ع. و حمیدی، ح. ۱۳۸۵. اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*). پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی، ۷۲: ۸۳-۷۷.

- سلطانی، آ.، خدارحم‌پور، ز. و اشرف جعفری، ع. ۱۳۹۱. بررسی تنوع ژنتیکی تحمل به تنش شوری در ارقام یونجه (*Medicago sativa* L.) بر اساس رشد گیاهچه. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۴(۱۰): ۲۹-۴۵.
- صادقی، ح. و خانی، ک. ۱۳۹۱. اثر سطوح مختلف خشکی و شوری بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و میزان پرولین یونجه یک‌ساله (*Medicago polymorpha* L.). مجله علوم کشاورزی دیم ایران، ۲: ۱۳-۱.
- قمری زارع، ع.، رضوانی، س. و فروتن، م. ۱۳۸۷. اثر تنش خشکی ناشی PEG در چند گونه یونجه یک‌ساله در شرایط آب‌کشت (*Aquaculture*). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۶(۲): ۱۸۲-۱۹۷.
- قوامی، ف.، ملبولی، م.ع.، قنادها، م.ر.، یزدی صمدی، ب.، مظفری، ج. و آقایی، م.ج. ۱۳۸۳. بررسی واکنش ارقام متحمل گندم ایرانی به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۵(۲): ۴۴۴-۴۵۳.
- کازم‌زاده حقیقی، ع. ۱۳۸۹. ارزیابی تحمل به شوری بر اساس جوانه‌زنی در ۹ رقم سورگوم علوفه‌ای. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، ۵(۳): ۷۴-۸۱.
- مصطفوی، خ. و حیدریان، ع. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی و شاخص‌های آن در چهار رقم گیاه آفتابگردان. مجله زراعت و اصلاح نباتات، ۸(۴): ۱۳۱-۱۲۳.
- معصومی زواریان، ا.، یوسفی‌راد، م. و شریف مقدسی، م. ۱۳۹۲. اثرات تنش شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی فعالیت و آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پراکسیداز بذر گیاه دارویی ماریتیغال (*Silybum marianum* L.). دومین کنگره کشاورزی ارگانیک و مرسوم. دانشگاه محقق اردبیلی.
- میرمحمدی میبدی، ع.م. و قره یاضی، ب. ۱۳۸۱. جنبه‌های فیزیولوژیک به‌نژادی تنش شوری گیاهان. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲۸۸ صفحه.
- Beauchamp, C., and Fridorich, I. 1971. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Britton, C., and Mehley, A.C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Method in enzymology*, 2: 764-775.
- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F., Esfandiari, M. 2007. The effect salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seeding. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35(1): 48-56.
- Khaef, N., Sadeghi, H., and Taghvaei, M. 2011. Effects of new strategies for breaking dormancy of two annual medics (*Medicago scutellata* and *Medicago polymorpha*). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 11: 626-632.
- Miri, Y., and Mirjalili S.A. 2013. Effects of salinity stress on seed germination and some physiological traits in primary stages of growth in purple coneflower (*Echinacea Purpurea*). *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(1): 142-146.
- Munns, R., Schachtman, D.P., and Condon, A.G. 1995. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Functional Plant Biology*, 22(4): 561-569.
- Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5): 867-880.
- Pirasteh Anosheh, H., Sadeghi, H., and Emam, Y. 2011. Chemical priming with urea and KNO₃ enhances maize hybrids (*Zea mays* L.) seed viability under abiotic stress. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14(4): 289-295.
- Qados, A.M.A. 2011. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(1): 7-15.

- Sadeghi, H., and Robati, Z. 2015. Response of *Cichorium intybus* L. to eight seed priming methods under osmotic stress conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4): 443-448.
- Taylor, G.B, Rossiter, R.C., and Palmer, M.J. 1984. Long term patterns of seed softening and seedling establishment from single seed crop of subterranean clover. *Animal Production Science*, 24: 200-212.
- Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(2): 66-71.

Archive of SID

The Effect of Seed Pod Removal on Salinity Tolerance of Annual Medic (*Medicago scutellata* L.) at The Germination Stage

Farzaneh Fakhari, Hossein Sadeghi*

Department of Natural Resources and Environmental Engineering, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

*Corresponding author, E-mail address: sadeghih@shirazu.ac.ir

(Received: 17.10.2015 ; Accepted: 26.01.2016)

Abstract

There have been a little studies on removing the seed pods in annual medics, despite its importance. To investigate the role of pod removal on seed germination, seedling growth and antioxidant enzyme activities in annual medic (*Medicago scutellata* L.) Under salt stress, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with four replications in 2014. Salinity at 5 levels: 0.62 (tap water as control), 3, 6, 9 and 12 dS m⁻¹ was applied using sodium chloride. The results showed that salt stress caused changes in the characteristics of germination, seedling growth and antioxidant enzyme activities. With increasing in salinity levels, rate and percentage of germination as well as root length, shoot length and seedling weight was significantly decreased. However, increasing salinity levels increased the activity of antioxidant enzymes. Germination and growth in seed without pod was greater than those in seeds with pod; however, there were no significant differences between antioxidant enzyme activity; except about ascorbic peroxide that was significantly higher in seed without a pod. In general, salinity reduced germination and growth and increased antioxidant enzyme activity of annual medics. The results showed that planting seeds without pod had advantages for better germination and growth, especially under saline conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, Shoot length, Seedling weight