Archive of SID

مجله علوم و تکنولوژی بذر، سال دوم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۱

اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی بذر ذرت تحت شرایط تنش خشکی

سیدعلی طباطبایی*[۱]

[۱] استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، یزد

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۰

چکیده

امروزه تکنیک پیش‌تیمار بذر به عنوان عامل بهبود دهنده‌ی جوانه‌زنی و استقرار تحت تنش‌های محیطی معرفی شده است. این تحقیق به منظور بررسی تاثیر پیش تیمار بذر ذرت با جیبرلیک و سالیسیلیک اسید (۲۵ پی پی ام) و آب بر جوانه‌زنی بذر ذرت در شرایط تنش خشکی انجام شد. تیمارها شامل ٤ سطح تنش خشکی (صفر، ۳-، ٦- و ۹- بار) و ٤ سطح (بذرهای تیمار شده با سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید ۲۵ پی پی ام، آب مقطرو شاهد بدون پیش تیمار) با ۳ تکرار بودند. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، مولفه‌های جوانه‌زنی شامل درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، درصد گیاهچه نرمال کاهش و متوسط مدت زمان جوانه‌زنی افزایش یافت. اما میزان این کاهش برای بذرهای تیمار شده کمتر بود. بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید (۸۹/۳۳ درصد) بود. بیشترین شاخص جوانه‌زنی (۳۲/٥٤)، درصد گیاه چه نرمال (۸۵ درصد) و کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۲/۱۳) نیز مربوط به پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید در شرایط بدون تنش بود. همچنین پیش تیمار بذر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربیک پرواکسیداز را در مقایسه با بذر شاهد افزایش داد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که پیش تیمار بذر باعث بهبود مولفه‌های جوانه‌زنی ذرت در شرایط تنش خشکی می‌شود و مقاومت گیاه ذرت را در مقابل تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: آنزیم، پیش تیمار بذر، تنش خشکی، ذرت، شاخص‌های جوانه‌زنی.

مقدمه

جوانه‌زنی به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به‌ویژه دما و رطوبت خاک قرار می‌گیرد (Soltani et al., 2006; Seefeldt et al., 2002). مطالعات مختلف نشان داده است که شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تاثیر تنش‌های مختلف غیرزنده کاهش می‌یابد (Alemansoori et al., 1992; Ashraf & Rauf, 2001; Atak et al., 2006; Kaya et al., 2006). تنش خشکی ٦- بار به‌طور معنی‌داری جوانه‌زنی بذر نخود فرنگی را کاهش می‌دهد (Gamze et al, 2005). Javadi (2004)، دریافت که با افزایش تنش خشکی بر سه گونه‌ی مرتعی جوانه‌زنی هر ۳ گونه مرتعی کاهش می‌یابد. مشخص شده است که تنش‌های غیر زنده مانند شوری و سرما سبب کاهش جوانه‌زنی در بذور *Capsicum* می‌شود (Patade et al, 2011).

*مسئول مکاتبه: tabataba4767@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

پیش تیمار بذر یک استراتژی 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 محلول‌های نمکی، پتانسیل‌های متفاوت اسمزی، استفاده از هورمون‌ها و هیدرو پرایمینگ می‌تواند مقاومت در برابر تنش، در گیاهان را افزایش دهد (Patade et al., 2011; Ansari & Sharif-Zadeh, 2012; Guzman & Olave, 2004). پیش تیمار بذر با آب و محلول‌های نمکی در گیاهان مختلف سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی در شرایط تنش می‌شود (Ashraf & Rauf, 2001; Ansari & Sharif-Zadeh, 2012). تنش‌های محیطی علاوه بر اینکه سبب کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شوند، در روند مصرف مواد ذخیره ای و کاهش در وزن خشک گیاه چه نیز اثر گذار است (Soltani et al., 2006; Ansari & Sharif-Zadeh, 2012). اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر روی بذر چاودار کوهی تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که استفاده از روش‌های مختلف پرایمینگ علاوه بر افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی سبب افزایش مصرف مواد ذخیره‌ای بذر می‌شود که دلیل افزایش شاخص‌های جوانه کارایی بیشتر بذر در مصرف مواد ذخیره‌ای در بذر پرایم شده گزارش شده است (Ansari & Sharif-Zadeh, 2012; Soltani et al., 2006). میزان تجمع شکل‌های مختلف اکسیژن فعال در زمان جوانه‌زنی به وسیله میزان تولید و آزاد شدن گونه‌های اکسیژن فعال و همچنین فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت تعیین می‌شود که تعادل بین انواع اکسیژن فعال و همچنین فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی تعیین کننده میزان خسارت وارده است. سیستم آنتی‌اکسیدانتی شامل آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی‌اکسدانت باعث حذف انواع فعال اکسیژن می‌شوند. متابولیت‌های آنتی‌اکسدانت مانند اسید آسکوربیک، گلوتاتیون، ویتامین E و دیگر ترکیبات است که به‌ویژه در بذرهای خشک نقش بیشتری دارند (Bailly, 200). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ریداکتاز و سایر آنزیم‌ها باعث حذف و غیر فعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Bailly, 2004; McDonald, 1999). پرایمینگ باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل گلوتاتیون و آسکوربات در بذر می‌گردد که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند (Hus & Sung, 1997; Rouhi et al., 2012; Ansari & Sharif-Zadeh, 2012).

این آزمایش به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار بذر ذرت بر روی شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی تحت شرایط تنش خشکی به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ و به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی استان یزد به اجرا درآمد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح مختلف تنش خشکی با پتانسیل‌های صفر، ۳-، ٦- و ۹- بار و تیمارهای مختلف (اسید جیبرلیک، سالیسیلیک، آب مقطر و شاهد بدون پیش تیمار) بود. ابتدا بذرها با اسید جیبرلیک، سالیسیلیک اسید و آب پرایم شدند. تیمارهای پرایمینگ شامل جیبرلیک اسید و سالیسیلیک ۲۵ قسمت در یک لیتر (پی‌پی‌ام) به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و پیش‌تیمار با آب در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۲ ساعت بودند (آب مقطر به پتری‌های حاوی بذر اضافه شد و سپس بذرها در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند). بعد از مدت زمان‌های مشخص شده بذرها با آب مقطر شستشو شدند. بذرهای تیمار شده در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شوند. بعد از خشک شدن، بذرهای تیمار شده و بذر شاهد (بدون پرایم) در ابتدا با محلول هیپوکلریدسدیم به‌مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و سپس با آب

www.SID.ir

Archive of SID

مقطر شستشو شدند و تعداد ۵۰ بذر به پتری‌دیش‌های شیشه ای با قطر ۱۰ سانتی متر حاوی محلول‌های اسمزی منتقل شدند. شمارش جوانه‌زنی به مدت ۷ روز و روزانه انجام شد و ملاک جوانه‌زنی خروج ۲ میلی متر ریشه‌چه بود. در نهایت بعد از پایان روز آخر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه، درصد گیاه چه نرمال، متوسط سرعت جوانه‌زنی طول گیاه چه و درصد گیاه چه‌های نرمال اندازه گیری شدند. سرعت و درصد جوانه‌زنی از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

درصد جوانه‌زنی= (تعداد کل بذور/تعداد بذور جوانه زده تا روز i ام) × ۱۰۰

سرعت جوانه‌زنی= (تعداد بذور جوانه زده در شمارش اول / روز شمارش) +...+

(تعداد بذور جوانه زده در شمارش آخر/ روز شمارش)

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کلیه نمونه‌های بذری شامل بذر تیمار شده و بذر شاهد بعد از اعمال پیش تیمارها و قبل از جوانه‌زنی در نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز ۰/۳ گرم نمونه درهاون چینی به وسیله ازت مایع کاملاً پودر شد و سپس ۳ میلی‌لیتر بافر تریس به آن اضافه شد. سپس محلول به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد بعد از آن محلول رو شناور برای اندازه گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به روش اسپکتوفتومتری و به‌ترتیب با روش‌های Janda et al. (1999) و Johnson & Cunningham(1972) اندازه‌گیری شدند.

تجزیه‌های آماری با نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (دانکن) با یکدیگر مقایسه شدند. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۱) تیمارهای مختلف و تنش خشکی به‌طور معنی‌داری بر صفات مورد ارزیابی تاثیر داشت. اثرات متقابل تیمار و تنش نیز سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در صفات مختلف شد (شکل‌های ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵). در بسیاری از گیاهان نیز نشان داده شده است که تنش خشکی سبب کاهش معنی‌داری در شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Patade et al., 2011; Ashraf & Rauf, 2001; Ansari & Sharif-Zadeh, 2012).

جدول ۱. تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای پیش تیمار شده ذرت تحت شرایط تنش خشکی

منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	شاخص جوانه زنی	متوسط مدت زمان جوانه زنی	درصد گیاهچه نرمال
تیمار	۳	۲۲۷/۰۵**	۴۱/۷۴**	۳/۶۹**	۱۶۴/۶۸**
تنش	۳	۹۳۹۹/۱۶**	۱۱۸۲/۲۴**	۶/۰۹**	۱۳۷۳۷/۷۴**
تیمار × تنش	۹	۴۰/۲۵**	۶/۰۸**	۰/۲**	۲۰/۲۶**
خطای آزمایشی	۳۲	۶/۳۳	۰/۹۲	۰/۰۴	۳/۵۴
ضریب تغییرات (٪)	-	۴/۳	۶/۰۴	۶	۴

** معنی‌داری در سطح یک درصد را نشان می‌دهد.

www.SID.ir

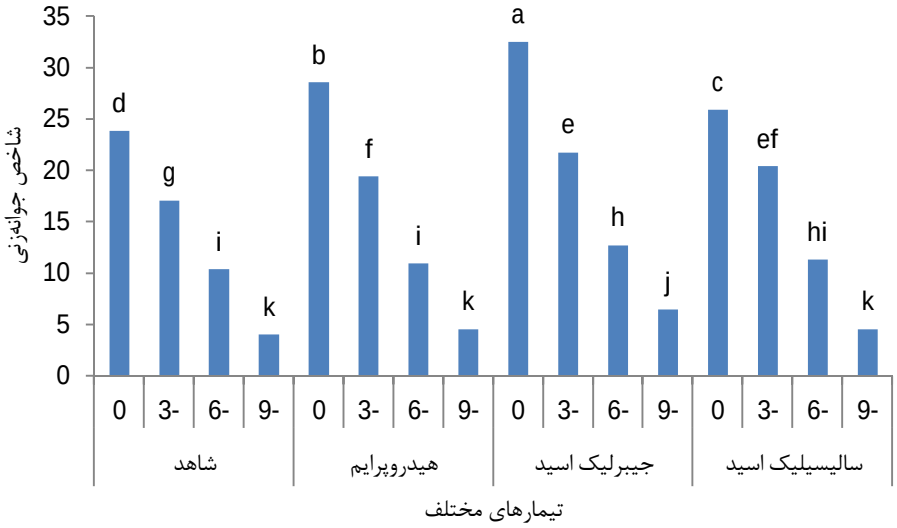
Archive of SID

با افزایش تنش خشکی درصد جوانه‌زنی در بذرهای تیمار شده و شاهد کاهش یافت و این کاهش در بذرهای شاهد بیشتر از بذرهای تیمار شده بود (شکل ۱). پیش تیمارهای اعمال شده سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، درصد گیاهچه نرمال و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد شدند (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ٤). بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به پیش‌تیمار بذر با جیبرلیک اسید (۸۹/۳۳٪) بود (شکل ۱). بیشترین شاخص جوانه‌زنی (۳۲/٥٤)، درصد گیاهچه نرمال (۸٥ درصد) و کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۲/۱۳) نیز مربوط به پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید در شرایط بدون تنش بود (شکل‌های ۲، ۳ و ٤). همچنین در سطوح بالاتر تنش خشکی بیشترین درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، درصد گیاهچه نرمال و کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی از پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید به‌دست آمد (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ٤). کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی در اثر اعمال تنش در دیگر گیاهان نیز گزارش شده است (Soltani et al., 2006; Patade et al., 2011). دیگر محققان نیز گزارش کردند که پیش تیمارهای مختلف بذر سبب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Iqbal & Ashraf, 2007; Guzman & Olava, 2004). کاهش جوانه‌زنی در اثر تنش خشکی می‌تواند با کاهش جذب آب توسط بذرها مرتبط باشد. اگر جذب آب توسط بذر مختل شود یا جذب آب به کندی صورت گیرد فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی به آرامی صورت می‌گیرد، در نتیجه مدت زمانی که ریشه‌چه از بذر خارج می‌شود طولانی‌تر شده و از این رو سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد (Marchner, 1995).

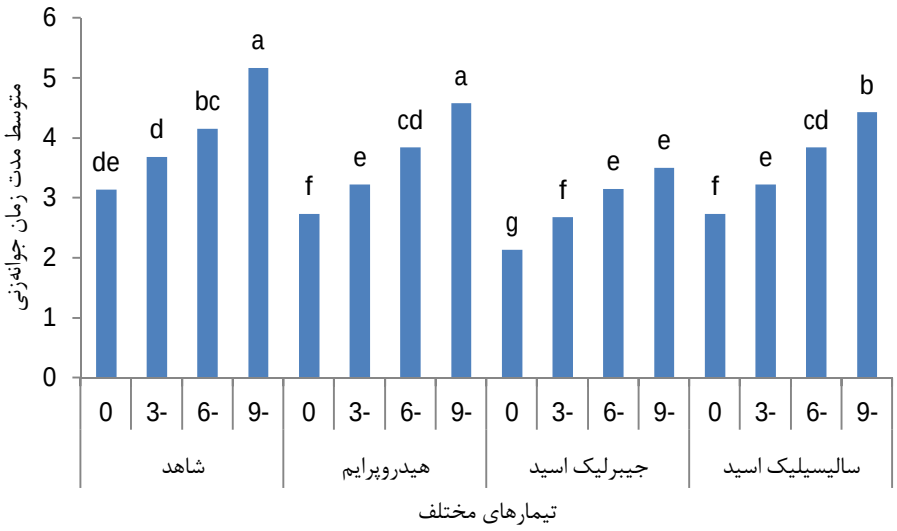
شکل ۱. اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر ذرت بر روی درصد جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی

www.SID.ir

Archive of SID



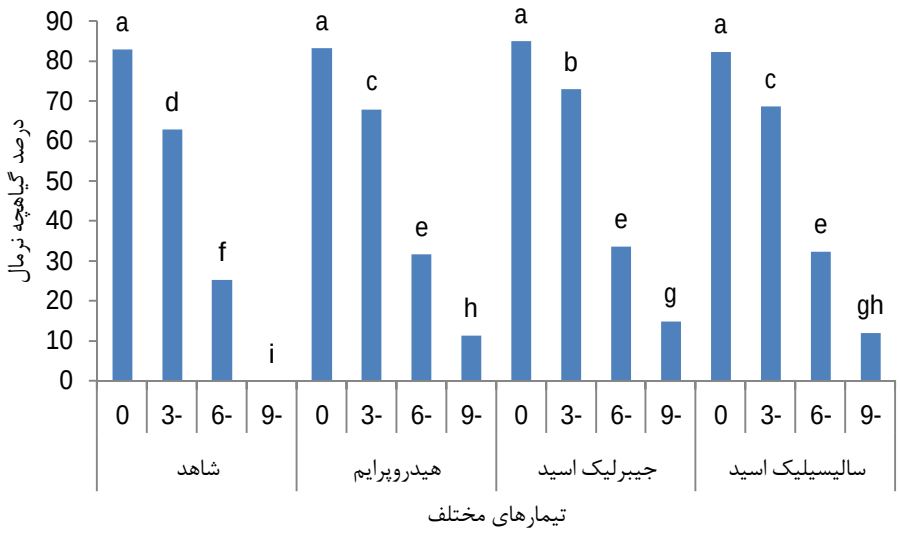
شکل ۲. اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر ذرت بر روی شاخص جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی



شکل ۳. اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر ذرت بر روی متوسط مدت زمان جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی

www.SID.ir

Archive of SID

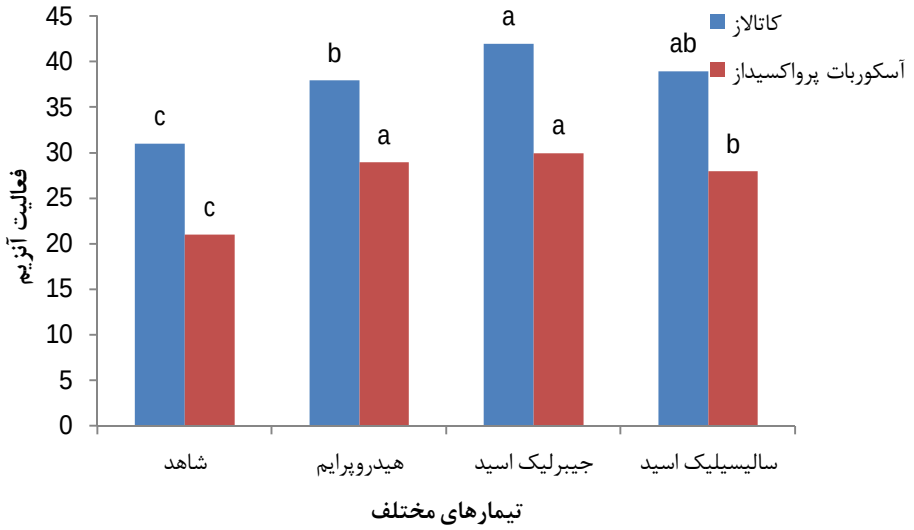


شکل ٤. اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر ذرت بر روی درصد گیاهچه نرمال تحت شرایط تنش خشکی

نتایج این آزمایش نشان داد که پیش‌تیمارهای مختلف سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با بذر شاهد شد (شکل ٥). بیشترین فعالیت کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز مربوط به پیش تیمار بذر با جیبرلیک اسید بود اما از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار بذر با آب و سالیسیلیک اسید نداشت (شکل ٥). میزان تجمع شکل‌های مختلف فعال اکسیژن در زمان جوانه‌زنی بوسیله میزان تولید و آزاد شدن گونه‌های اکسیژن فعال همچنین فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت تعیین می‌شود که تعادل بین انواع فعال اکسیژن و همچنین فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانتی تعیین کننده میزان خسارت وارده است. سیستم آنتی‌اکسیدانتی شامل آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی‌اکسدانت باعث حذف انواع فعال اکسیژن می‌شوند. متابولیت‌های آنتی‌اکسدانت مانند اسید آسکوربیک، گلوتاتیون، ویتامین E و دیگر ترکیبات است که به ویژه در بذرهای خشک نقش بیشتری دارند (Bailly, 2004). تنش اکسیداتیو حاصل افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنش‌های محیطی باشد (Janda et al., 1999). اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر افزایش فعالیت آنزیم‌ها نیز توسط دیگر محققان در گیاهان مختلف گزارش شده است و نشان داده شده است که افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش همراه است (Rouhi et al., 2012; Bailly, 2004; Ansari & Sharif-Zadeh, 2012).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵. اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر ذرت بر روی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که شاخص‌های جوانه‌زنی و همچنین فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذرهای پرایم شده افزایش می‌یابد. با افزایش در سطح تنش اعمال شده شاخص‌های جوانه‌زنی نیز کاهش یافتند. کاهش درصد جوانه‌زنی می‌تواند مرتبط با کاهش وزن مواد مصرف شده، و درصد کاهش مواد ذخیره‌ای باشند. تیمار بذر با جیبرلیک اسید بیشترین اثر را بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشت. در بذرهای پرایم شده فعالیت آنزیم‌ها افزایش یافت که این افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شاید دلیلی بر برتری بذرهای پرایم شده در شرایط تنش در مقایسه با بذر شاهد باشد.

References

Almansouri, M., Kinet, J.M., and Lutts, S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant Soil. 231: 243-254.

Atak, M., Kaya, M.D., Kaya, G., Cıkılı, Y., and Ciftçi, C.Y. 2006. Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. Turk. J. Agric. Fore. 30: 39-47.

Ansari, O., and Sharif-Zadeh, F. 2012. Osmo and hydro priming improvement germination characteristics and enzyme activity of Mountain Rye (Secale montanum) seeds under drought stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 8 (4): 253-261.

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. Physiol.Plant. 23, 407 414.

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

Gamze, O., Kaya, M.D., and Atak, M. 2005. Effect of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth of Pea (*Pisum sativum* L.). Turk. J. Agric For. 29: 237-242.

Hus, J.L., and Sung, J.M. 1997. Antioxidant role of glutathione associated with accelerated aging and hydration of triploid Waremelon seeds. Physiological plantrum. 100: 967- 974.

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.

www.SID.ir

Archive of SID

Javadi, M. 2004. Effect of drought stress on germination three solanacea species. M.Sc. Seminar of university Natural of Tehran. 123pp.

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: 175- 180.

Johnson, L.B., and Cunningham, B. A. 1972. Peroxidase activity in healthy and leaf-rustinfected wheat leaves. Phytochemistry. 11:547–551.

Guzman, M., and Olave, J. 2004. Effect of N-form and saline priming on germination and vegetative growth of Galia-type melon (Cucmis melol. Cv. Primal) under salinity. Acta. Hort. 659: 253- 260.

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

Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants .Second reprint. Academic Press. pp:6-73.

McDonald, M. B. 1999. Seed deterioration physiology, repair and assessment. Seed Science and Technoly. 27: 177-237.

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. Res. J. Seed. Sci, 4 (3): 125 -136.

Rouhi, H.R., Aboutalebian, M.A., Moosavi, S.A., Karimi, F.A., Karimi, F., Saman, M., and Samadi, M. 2012. Change in several antioxidant enzymes activity of Berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) by priming. International Journal of AgriScience. 2(3): 237- 243.

Seefledt, S.S., Kidwell, K.K., and Waller, J.E. 2002. Base growth temperature, germination rate and growth response of contemporary spring wheat cultivars from the USA Pacific North West. Field Crop Research. 75: 47- 52.

Soltani, A., Gholipoor, M., and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany. 55: 195–200.

www.SID.ir