Archive of SID

پاسخ‌های فیزیولوژیکی و رشدی دوازده ژنوتیپ رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) به پتانسیل آب در مرحله‌ی جوانه‌زنی

احسان عسکری[1]، پرویز احسان زاده[1*] و حسین زینلی[2]

[1]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، [2]عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

(تاریخ دریافت: ١٣٩٣/٠٩/٠٦، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٣/١٢/١٠)

چکیده:

کمبود آب از مشکلات رو به تزاید کشاورزی ایران است و تهدیدی برای آینده این صنعت و امنیت غذایی کشور محسوب می‌شود. جوانه‌زنی یکی از مراحل حساس در طول دوره رشد گیاهان است که اغلب تحت تاثیر تنش‌های محیطی بویژه خشکی قرار می‌گیرد. در این تحقیق، اثر چهار سطح پتانسیل آب (٠/٠، ٠/٢-، ٠/٤- و ٠/٦- مگاپاسکال) بر روی جوانه‌زنی، صفات گیاهچه‌ای، محتوی کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و پلی‌فنول‌ها، و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دوازده ژنوتیپ رازیانه مورد مطالعه قرار گرفت. با تشدید خشکی (کاهش پتانسیل آب) از درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، طول ساقه‌چه و فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاسته شد، در حالیکه بر طول ریشه‌چه، محتوی قندهای محلول، پلی‌فنول‌ها و پرولین، و فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز افزوده شد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس درصد جوانه‌زنی و بر مبنای میزان کاهش آن در پتانسیل ٠/٦- مگاپاسکال نسبت به شاهد، به سه گروه متحمل (شیراز، یزد، کرمان و مشهد)، نیمه‌حساس (همدان، کاشان، بوشهر و ارومیه) و حساس به خشکی (بیرجند، اردبیل، ابن سینا و اصفهان) تقسیم‌بندی شدند. ژنوتیپ مشهد در بین دوازده ژنوتیپ مورد مطالعه، با داشتن بالاترین درصد جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، طول ریشه‌چه، محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین، و فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز متحمل‌ترین ژنوتیپ بود. نتایج برگرفته از این مطالعه، اطلاعات ارزشمندی درباره صفات مرتبط با تحمل خشکی گیاه رازیانه در مرحله جوانه‌زنی ارائه می‌دهد، به طوریکه تلفیق این نتایج با داده‌های حاصل از آزمایشات مزرعه‌ای شناختی کاربردی از کشت این گیاه دارویی در مناطق کم آب را فراهم می‌سازد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، پلی‌اتیلن‌گلایکول، پلی‌فنول، جوانه‌زنی، قندهای محلول

مقدمه:

درصد بالایی از جمعیت هفت میلیاردی جهان برای بهبود سلامتی، دارو و غذا به گیاهان دارویی وابسته‌اند. بازار بین المللی گیاهان دارویی در جهان بیش از ٦٠ میلیارد دلار است و نرخ رشد این بازار سالانه ٧ درصد می‌باشد (Hashmi *et al.*, 2012). در بین گیاهان دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) از موقعیت ممتازی برخوردار است و پراکندگی وسیعی حتی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان دارد. رازیانه گیاهی دیپلوئید (٢n = ٢٢) و از خانواده چتریان (Apiaceae) است. این گیاه معطر به صورت یک، دو و یا چند ساله کشت می شود و ارتفاع آن تا ٢ متر می‌رسد. ظاهر کلی این گیاه به خصوص برگ‌های آن شبیه به گیاه شوید است ولی عطر و طعم متفاوت، ساقه مرتفع و ریشه ضخیم گیاه به سهولت آن را از شوید متمایز می‌سازد. گل‌های آن زرد رنگ و مجتمع به

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ehsanp@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

صورت چتر مرکب است. قسمت‌های مورد استفاده این گیاه ریشه ضخیم، برگ و میوه آن است. این گیاه بومی جنوب غرب آسیا، جنوب اروپا و شمال آفریقا می‌باشد و منشاء آن را منطقه مدیترانه می‌دانند (رنجبریان و همکاران، ۱۳۸۳). رازیانه از سالیان دور در ایران مصارف غذایی و دارویی داشته است. امیر تیموری و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعه‌ای که بر اساس آمارهای فائو بین سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۸ انجام شده بود، ایران را در بین ۱۰ کشور صادر کننده عمده رازیانه در جهان قرار داده و با توجه به شاخص‌های مزیت نسبی، اعلام کردند که ایران رتبه هفتم را در مزیت نسبی صادرات رازیانه در بین ۱۰ کشور عمده صادر کننده این محصول (افغانستان، بلغارستان، چین، مصر، آلمان، هند، ایران، سنگاپور، سوریه و ترکیه) دارد و در نتیجه این محصول قدرت رقابتی در سطح بین المللی را دارا می باشد. میوه رازیانه در قیاس با دیگر قسمت های گیاه از اسانس بسیار بالاتری برخوردار است. ترکیب‌های شاخص در اسانس این گیاه ترانس‌آنتول، لیمونن، فنچون و میتل کاویکول هستند (Darzi *et al.*, 2005).

از آنجایی که کمبود آب و تنش خشکی حاصل از آن، یکی از بزرگترین موانع تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک از جمله ایران به حساب می‌آید، شناختی جامع از واکنش گیاهان به این تنش در مراحل مختلف رشدی و معرفی ارقام یا توده‌هایی که در شرایط خشکی بهتر از دیگر ارقام عمل کنند، حیاتی به نظر می‌رسد. بسیاری از گیاهان دارویی به طور طبیعی در زیست بوم‌های مختلف و حتی در مناطق خشک و نیمه خشک پراکندگی وسیعی دارند. به دلیل آنکه کشت صنعتی گیاهان دارویی قدمت زیادی ندارد، بنابراین فشار بر روی گونه ها به منظور اصلاح و معرفی ارقام پرمحصول بسیار کم بوده است. از این رو شاهد گونه‌های وسیعی از گیاهان دارویی هستیم که در قیاس با گیاهان اصلاح شده زراعی، مصرف آب کمتری دارند و تا حد زیادی مقاومت بهتری در برابر تنش‌های محیطی از خود نشان می‌دهند. با توجه به شرایط کم آبی که در کشور وجود دارد، حمایت از توسعه کشت و کار گیاهان دارویی منطقی به نظر می‌رسد. جوانه‌زنی یکی از مراحل حساس در چرخه رشدی گیاهان به حساب می آید به طوریکه این مرحله دوام، استقرار، تراکم و عملکرد نهایی گیاهان را تا حد زیادی متأثر می‌سازد (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2006).

برخی از گیاهان ممکن است در مراحل پس از استقرار، متحمل به تنش‌هایی چون شوری و خشکی محسوب شوند، ولی این بدان معنی نیست که لزوما از ابتدا و در مرحله جوانه زنی در مقابل تنش‌های محیطی مقاوم هستند. به فرض مثال بابونه در مراحل رشد رویشی متحمل به خشکی است، در حالیکه در مرحله جوانه‌زنی حساس به خشکی است و کمبود آب خسارت زیادی به آن وارد می‌کند (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2006). همچنین Masoumi و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی و همچنین کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در ژنوتیپ‌های مختلف نخود شده است. در زمان خشکی اسمولیت‌هایی نظیر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به منظور تنظیم اسمزی و حفظ تورژسانس در سلول‌های گیاهی تجمع پیدا می‌کنند. پرولین در سلول نقش کلیدی برای تنظیم اسمزی و همچنین پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن بازی می کند (Mittler, 2002)، در حالی که کربوهیدرات‌ها برای حفظ متابولیسم سلول و ذخیره انرژی در دوره خشکی به کار می روند (Khalid *et al.*, 2010). تنش خشکی با تولید گونه‌های فعال اکسیژن، شروع‌کننده تنش دیگری به نام تنش اکسیداتیو است (Parida *et al.*, 2007). گونه‌های فعال اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و تخریب کلروفیل می‌شوند. گیاهان برای جمع‌آوری و پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن مکانیسم‌های ویژه‌ای چون فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند کاروتنوئیدها، گلوتاتیون، آسکوربیک اسید و پرولین را به کار می‌بندند (Mittler, 2002). مقایسه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ارقام مقاوم و حساس به خشکی در گیاهان مختلف نشان داده است که مقاومت به خشکی همبستگی بالایی با سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمد دارد (Azooz, 2009).

www.SID.ir

Archive of SID

خاکشور مقدم و همکاران (۱۳۹۰)، نشان دادند که تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و نسبت وزن خشک ریشه‌چه به ساقه‌چه را در گیاه شوید به طور معنی‌داری کاهش داد. آنها در آزمایش جداگانه‌ای بر روی شوید، گزارش کردند که با افزایش سطوح خشکی، میزان پرولین و قندهای محلول بخش هوایی و ریشه و همچنین نسبت پرولین و قندهای محلول بخش هوایی به ریشه افزایش پیدا کرد. مرادی و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی اثرات خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول روی رازیانه گزارش کردند که تنش خشکی، درصد جوانه‌زنی، وزن گیاهچه و طول ساقه‌چه را کاهش داد، در حالی که تنش ملایم، طول ریشه‌چه را افزایش داد.

به نظر می‌رسد مجموعه‌ای از صفات فیزیولوژیکی از قبیل محتوی اسمولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به همراه برخی از صفات رشدی نظیر وزن خشک گیاهچه و طول ریشه‌چه تعیین کننده‌ی میزان تحمل خشکی گیاهان در مرحله ی گیاهچه‌ای باشند. بنابراین هدف از انجام این پژوهش در درجه‌ی اول ارزیابی تحمل خشکی دوازده ژنوتیپ رازیانه در مرحله‌ی جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای و معرفی ژنوتیپ های متحمل به خشکی در این مرحله، و در درجه‌ی دوم بررسی روابط موجود بین برخی از صفات رشدی و فیزیولوژیکی با تحمل خشکی گیاهچه‌های رازیانه بود. اگر ژنوتیپ‌هایی که در مرحله‌ی گیاهچه‌ای متحمل به خشکی هستند در مراحل بعدی رشد نیز به خشکی مقاوم باشند، بنابراین می‌توان از صفاتی که با تحمل خشکی رازیانه در مرحله‌ی گیاهچه‌ای در ارتباط هستند به عنوان شاخص‌های تحمل خشکی در برنامه‌های اصلاحی این گیاه دارویی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها:

به منظور بررسی اثرات تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذرهای رازیانه، در آزمایشگاه پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان و در اتاقک رشد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در تاریکی)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار، در چهار سطح پتانسیل آب (۰/۰، ۰/۲-، ۰/٤- و ۰/٦- مگاپاسکال) طراحی شد و جوانه‌زنی دوازده ژنوتیپ رازیانه (ارومیه، همدان، کرمان، شیراز، بیرجند، یزد، اردبیل، ابن‌سینا، کاشان، مشهد، بوشهر و اصفهان)، در این سطوح پتانسیل آب مورد بررسی قرار گرفت. البته در این تحقیق چون مشخص شد که ژنوتیپ‌های مختلف رازیانه در سطوح ۰/۸- و بویژه ۱/۰- مگاپاسکال جوانه‌زنی چندانی نداشتند، بنابراین آزمایش با استفاده از ٤ سطح صفر (شاهد)، ۰/۲- (خشکی ملایم)، ۰/٤- (خشکی متوسط) و ۰/٦- مگاپاسکال (خشکی شدید) انجام پذیرفت. پتانسیل‌های مختلف آب توسط غلظت‌های متفاوت پلی‌اتیلن گلایکول ٦۰۰۰ (Poly Ethylene Glycol, PEG) و طبق روش Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) تهیه گردید. بذور رازیانه در پتری دیش‌هایی با قطر ۷ سانتی‌متر که در کف آنها چهار لایه کاغذ صافی واتمن قرار داده شده بود کاشته شدند. در هر پتری‌دیش تعداد ۵۰ بذر از ژنوتیپ مورد نظر قرار گرفت و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به آن اضافه شد. سپس همه پتری‌دیش‌ها با محتویات درون آنها با ترازوی دقیق توزین شدند. در ادامه آزمایش، با توزین روزانه پتری دیش‌ها، میزان آب تبخیر شده از هر پتری‌دیش محاسبه و با اضافه کردن آب مقطر جبران شد. پتری‌دیش‌ها به طور روزانه بازبینی و بذرهایی که ریشه‌چه آنها قابل رویت بود (دو میلیمتر و بیشتر از آن)، به عنوان بذرهای جوانه‌زده شمارش شد. در روز آخر آزمایش (روز چهاردهم)، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر گیاهچه‌ها، محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین، و فعالیت ویژه آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن خشک نمونه‌ها، گیاهچه‌ها برای مدت ۷۲ ساعت در آون ۵۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.

درصد و سرعت جوانه‌زنی: درصد و سرعت جوانه‌زنی بر مبنای پنجاه بذر در هر واحد آزمایشی (پتری‌دیش) از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Anjumi and Bajwa, 2005):

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \frac{\text{تعداد بذرهای جوانه‌زده تا روز i}}{\text{تعداد کل بذرها}} \times ۱۰۰$$

www.SID.ir

Archive of SID

آخرین روز آزمایش = i

سرعت جوانه‌زنی = $\sum_{n=1}^{i}$ (تعداد بذر جوانه‌زده از روز ١–n)/n

روزهای آزمایش = n

سنجش محتوی پلی‌فنول‌ها: ابتدا نیم گرم از بافت گیاهچه، با استفاده از اتانول ٩٥ درصد عصاره‌گیری شد. سپس مواد پلی‌فنولی با استفاده از واکنشگر فولین و به روش Singh و همکاران (٢٠٠٢) اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا ٢٠٠ میکرولیتر از محلول استخراج شده با ١ میلی‌لیتر واکنشگر فولین با غلظت ١٠ درصد مخلوط گردید و سپس ٨٠٠ میکرولیتر کربنات سدیم ٢/٥ درصد به آن اضافه شد. در صورت وجود مواد فنولی محلول به رنگ آبی روشن تا تیره در می‌آید. محلول به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و سپس با استفاده از جذب محلول آبی رنگ در طول موج ٧٦٥ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (HITACHI-JAPAN U1800) و مقایسه با غلظت‌های استاندارد، غلظت پلی‌فنول‌ها به دست آمد.

سنجش محتوی پرولین: برای تعیین غلظت پرولین از روش Bates و همکاران (١٩٧٣) استفاده شد. در ابتدا، برای تهیه معرف نین‌هیدرین، مقدار ١/٢٥ گرم از این ماده، داخل ارلن ریخته شد و به آن ٣٠ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ٢٠ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار اضافه گردید. سپس محلول حاصل به آرامی حرارت داده شد تا نین‌هیدرین به طور کامل حل شود. در مرحله بعد، مقدار نیم گرم از بافت گیاهچه، در هاون چینی و در ١٠ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ٣ درصد، به خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ١٣٠٠٠ دور در دقیقه، در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و به مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، ٢ میلی لیتر از عصاره صاف شده به لوله درب‌دار منتقل گردید و به آن ٢ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ٢ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال، اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، آن ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای١٠٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از سرد شدن، به هر یک از لوله‌ها مقدار ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. برای مخلوط کردن این دو محلول، به مدت ٢٠–١٥ ثانیه لوله‌ها تکان داده شدند. سرانجام فاز رویی که به رنگ قرمز در آمده و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود، جدا گردید. استانداردهایی از پرولین از غلظت صفر تا ٠/١ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه گردید و نهایتا میزان جذب محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول موج ٥٢٠ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از تولوئن بعنوان محلول شاهد (بلانک) استفاده گردید.

سنجش محتوی قندهای محلول: برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول از روش Irigoyen و همکاران (١٩٩٢) استفاده گردید. در ابتدا، برای تهیه عصاره الکلی، نیم گرم از بافت گیاهچه به همراه پنج میلی‌لیتر اتانول ٩٥ درصد در داخل هاون چینی کوبیده و له شد. قسمت بالای محلول حاصل، جدا گشت و رسوبات آن دو بار با پنج میلی‌لیتر اتانول٧٠ درصد شستشو شد و فاز بالایی آن به قسمت رویی قبلی اضافه گردید. محلول به دست آمده در سانتریفیوژ به مدت ١٠ دقیقه با دور ٤٠٠٠ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس ٠/١ میلی‌لیتر از فاز مایع رویی برداشته شد و به کمک میکروپیپت در داخل لوله آزمایش ریخته شد و سه میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده (١٥٠ میلی گرم آنترون + ١٠٠ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ٧٢ درصد) به آن افزوده گردید. لوله‌های آزمایش به مدت ١٠ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند تا ماده رنگی تشکیل گردد. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب آنها در طول موج ٦٢٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه منحنی استاندارد، از گلوکز محلول‌هایی با غلظت‌های صفر تا ١٢٠ میلی‌گرم در لیتر تهیه و کلیه مراحل آزمایش روی آنها انجام گردید و نهایتا میزان جذب آنها در طول موج ٦٢٥ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: برای اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا ١٠٠ میلی‌گرم از بافت گیاهچه در یک هاون سرد شده، با یک میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط و به طور کامل یکنواخت شد. بافر استخراج از پلی‌وینیل‌پیرولیدون یک درصد، تریتون X100 نیم درصد و بافر فسفات پتاسیم ١٠٠ میلی‌مولار (pH = ٧) تشکیل شده بود. عصاره حاصل با دور ١٥٠٠٠ دور در دقیقه و در دمای ٤

www.SID.ir

Archive of SID

درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف واقع در بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی اکسیدان به کار گرفته شد.

سنجش فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز: با استفاده از روش تغییر یافته و اصلاح شده Aebi (۱۹۸۳) و با ردیابی اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲٤۰ نانومتر، فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه گیری شد. برای این منظور ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار، با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط گردید. فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز از تقسیم فعالیت حجمی کاتالاز بر میزان پروتئین عصاره که به روش Bradford (۱۹۷٦) تعیین شده بود، محاسبه گردید.

$$\text{فعالیت کاتالاز (U)} = \frac{\Delta A \times TV \times D}{\varepsilon \times EV}$$

$$\text{فعالیت حجمی کاتالاز (U/ml)} = \frac{\text{فعالیت کاتالاز (U)}}{\text{واحد حجم (ml)}}$$

$$\text{فعالیت ویژه کاتالاز (U/mg protein)} = \frac{\text{فعالیت حجمی کاتالاز (U/ml)}}{\text{غلظت پروتئین عصاره (mg/ml)}}$$

U = یک واحد از فعالیت کاتالاز که مساوی است با مقدار آنزیمی که باعث تجزیه یک میکرومول H_2O_2 و تبدیل آن به اکسیژن و آب در مدت یک دقیقه می‌شود

ΔA = اختلاف جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر در مدت یک دقیقه

TV = حجم کل (بافر واکنش و عصاره) (۳ میلی‌لیتر)

EV = حجم عصاره (۰/۰۵ میلی‌لیتر)

ε = ضریب خاموشی کاتالاز ($۳۹/٤\ mM^{-1}cm^{-1}$)

D = ضریب رقت (به فرض مثال اگر در زمان عصاره‌گیری، ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج به ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه گیاهی (یکنواخت شده) اضافه شده باشد، ضریب رقت ۱۰ است)

سنجش فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش تغییر یافته و اصلاح شده Nakano و Asada (۱۹۸۱)، به صورت اسپکتروفتومتری و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر تخمین زده شد. برای شروع واکنش، ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، پراکسید هیدروژن ۰/۵ میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط گردید. فعالیت ویژه‌ی آنزیم آسکوربات پراکسیداز مطابق با روش مشروح در سنجش آنزیم کاتالاز محاسبه شد.

$$\text{فعالیت آسکوربات پراکسیداز (U)} = \frac{A\Delta D \times TV \times}{\varepsilon \times EV}$$

U = یک واحد از فعالیت آسکوربات پراکسیداز که برابر با مقدار آنزیمی است که برای اکسید کردن یک میکرومول آسکوربات در یک دقیقه نیاز است

$A\Delta$ = اختلاف جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه

TV = حجم کل (بافر واکنش و عصاره) (۳ میلی‌لیتر)

EV = حجم عصاره (۰/۰۵ میلی‌لیتر)

ε =ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز ($۲/۸\ mM^{-1}cm^{-1}$)

D = ضریب رقت

سنجش فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش تغییر یافته و اصلاح شده Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷/۸)، EDTA ۷۵ نانومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ٦۳ میکرومولار و ریبوفلاوین ۱/۳ میکرومولار اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفته و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ٥٦۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک نمونه مشابه ولی نور ندیده به عنوان بلانک و یک نمونه که همه اجزای بافر واکنش به استثنای عصاره آنزیمی را داشت به عنوان شاهد به کار گرفته شد. فعالیت ویژه‌ی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مطابق با روش مشروح در سنجش آنزیم کاتالاز محاسبه شد.

$$\text{فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (U)} = [(\frac{\Delta Ac}{\Delta As}) - ۱] \times D$$

U = یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که منجر به مهار ۵۰٪ احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم می‌گردد.

ΔAc = اختلاف جذب در طول موج ٥٦۰ نانومتر در نمونه

www.SID.ir

Archive of SID

شاهد (بدون عصاره آنزیمی) و در مدت یک دقیقه

ΔAs = اختلاف جذب در طول موج ٥٦٠ نانومتر در نمونه اصلی (حاوی عصاره آنزیمی) و در مدت یک دقیقه

D = ضریب رقت

آزمون بردفورد برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین در محلول عصاره گیاهی: روش Bradford (١٩٧٦) یک سنجش کلرومتریک با استفاده از اسپکتروفتومتر است به منظور ساختن یک منحنی استاندارد که برای محاسبه غلظت پروتئین نمونه به کار می‌رود.

تهیه معرف برد فورد: ابتدا ١٠٠ میلی‌گرم کوماسی بلو (G250) در ٥٠ میلی‌لیتر اتانول ٩٥ درصد حل شد و سپس ١٠٠ میلی لیتر اسید فسفوریک ٨٥ درصد به آن اضافه گردید. بعد با اضافه کردن آب دو بار تقطیر به محلول، به حجم یک لیتر رسانده شد. محلول حاصل با استفاده از کاغذ واتمن شماره یک فیلتر شد. لازم به ذکر است که معرف بردفورد در ظرف شیشه‌ای کدر (نور به آن نرسد) تا چندین هفته در دمای اتاق قابل نگهداری است و چنانچه رسوب دهد، می‌توان محلول را مجددا فیلتر نمود و دوباره از آن استفاده کرد.

تهیه محلول پایه پروتئین استاندارد: مقدار یک میلی‌گرم از پروتئین آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin=BSA) در یک میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شد تا غظت پروتئین استاندارد یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر باشد. دمای نگهداری برای این محلول ٢٠– درجه سانتیگراد است.

تهیه منحنی استاندارد: مقادیر ١٠، ٢٠، ٤٠، ٦٠، ٨٠ و ١٠٠ میکرولیتر از محلول پروتئین استاندارد، به طور جداگانه در لوله‌های شیشه‌ای اتوکلاو شده ریخته شد و به ترتیب مقادیر ٩٠، ٨٠، ٦٠، ٤٠، ٢٠ و صفر میکرولیتر آب دو بار تقطیر به لوله‌ها اضافه شد تا حجم محلول نهایی در هر لوله ١٠٠ میکرولیتر باشد. به علاوه درون یک لوله شیشه‌ای ١٠٠ میکرو لیتر آب دو بار تقطیر ریخته شد و از آن برای بلانک کردن اسپکتروفتومتر استفاده گردید. سپس پنج میلی‌لیتر از معرف بردفورد درون هر لوله ریخته و خوب هم زده شد. فاصله زمانی دو دقیقه تا یک ساعت پس از اختلاط معرف با نمونه‌ها، بهترین زمان برای سنجش نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر است. سپس جذب نمونه‌ها در برابر نمونه بلانک در طول موج ٥٩٥ نانومتر اندازه‌گیری شد و منحنی استاندارد رسم گردید.

تعیین پروتئین نمونه عصاره گیاهی: مقدار ١٠٠ میکرولیتر از عصاره گیاهی استخراج شده (از همان عصاره‌ای که برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد)، در درون لوله آزمایش ریخته شد و به آن مقدار پنج میلی‌لیتر از معرف بردفورد اضافه گردید و پس از گذشت حداقل دو دقیقه از این اختلاط، میزان جذب آن در طول موج ٥٩٥ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر اساس مقایسه با منحنی استاندارد، غلظت پرتئین بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های برگرفته از این آزمایش، با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه واریانس شدند و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excell بهره گرفته شد و همچنین از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ٥ درصد برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده گردید.

نتایج و بحث:

جوانه‌زنی و خصوصیات رشدی: اثر سطوح مختلف خشکی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه‌ی رازیانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ١). با کاهش پتانسیل آب و افزایش خشکی، درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ساقه‌چه به طور معنی‌داری کاهش یافتند، در حالیکه طول ریشه‌چه در ابتدا و با خشکی خفیف افزایش یافت و در خشکی‌های شدیدتر رو به کاهش نهاد (جدول ٢ و شکل ١). بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ساقه‌چه در شرایط شاهد (پتانسیل صفر مگاپاسکال)، و کمترین میزان صفات فوق‌الذکر در شرایط خشکی شدید (-پتانسیل ٠/٦– مگاپاسکال) مشاهده شد. بیشرین طول ریشه‌چه متعلق به شرایط خشکی ملایم (پتانسیل ٠/٢– مگاپاسکال) و کمترین طول ریشه‌چه متعلق به شرایط خشکی شدید (پتانسیل ٠/٦– مگاپاسکال) بود (جدول ٢). کاهش درصد و سرعت

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین مربعات صفات مختلف مورد بررسی در چهار سطح خشکی و ۱۲ ژنوتیپ رازیانه

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	وزن خشک گیاهچه	طول ریشه چه	محتوی پلی فنول ها	محتوی قند های محلول	محتوی پرولین	فعالیت ویژه کاتالاز	فعالیت ویژه آسکوربات پراکسیداز	فعالیت ویژه سوپر اکسید دیسموتاز
سطوح خشکی	۳	۱۳۳۶۹/۸۷۹**	۷۷/۷۳۱**	۹۶/۴۲۸**	۵۸۲/۸۰۲**	۷/۹۵۳**	۱۱/۹۴۲**	۴۳۲/۹۲۱**	۰/۰۴۵**	۰/۴۹۰ ns	۱۳/۴۶۴*
ژنوتیپ	۱۱	۴۸۵/۱۸۹**	۳/۴۴۴**	۵/۴۰۵**	۱۵/۹۰۹**	۸/۹۷۹**	۸/۰۷۵**	۲۱۱/۷۲۹**	۰/۲۹۵**	۹/۷۷۷**	۲۵/۲۵۳**
سطوح خشکی × ژنوتیپ	۳۳	۱۶۸/۶۳۷**	۰/۵۶۵**	۲/۰۱۵**	۱۵/۷۰۰**	۰/۶۹۶ ns	۰/۸۴۴ ns	۲۱/۸۶۹ ns	۰/۰۰۹*	۰/۶۹۸ ns	۴/۷۷۲ ns
خطای آزمایش	۹۶	۵/۶۶۶	۰/۰۲۷	۰/۰۹۴	۰/۶۲۲	۱/۲۶۸	۰/۵۹۷	۱۹/۷۷۲	۰/۰۰۵	۰/۴۷۹	۴/۱۴۰

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح خشکی و ژنوتیپ برای صفات مختلف مورد بررسی در رازیانه

تیمار	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	وزن خشک گیاهچه (میلی گرم)	طول ریشه چه (میلی متر)	محتوی پلی فنول‌ها (میلی گرم بر گرم ماده خشک)	محتوی قندهای محلول	محتوی پرولین (میکرو مول بر گرم ماده تر)	فعالیت ویژه کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	فعالیت ویژه آسکوربات پراکسیداز	فعالیت ویژه سوپر اکسید دیسموتاز
سطوح خشکی (Mpa)										
۰	۵۰/۰۰^{a}	۳/۸۲^{a}	۴/۴۰^{a}	۳/۸۶^{c}	۵/۰۳^{c}	۳/۶۴^{c}	۲۵/۵۸^{c}	۰/۳۱^{c}	۴/۲۷^{a}	۱۱/۳۱^{a}
۰/۲	۴۸/۷۷^{b}	۳/۷۲^{b}	۳/۴۷^{b}	۱۱/۵۹^{a}	۵/۲۱^{bc}	۴/۳۲^{b}	۲۷/۸۱^{b}	۰/۳۶^{b}	۴/۴۳^{a}	۱۱/۰۹^{a}
۰/۴	۲۷/۵۰^{c}	۲/۰۸^{c}	۱/۸۳^{c}	۸/۸۷^{b}	۵/۶۰^{ab}	۴/۶۸^{ab}	۳۲/۲۷^{a}	۰/۳۹^{a}	۴/۳۴^{a}	۱۰/۵۵^{ab}
۰/۶	۹/۵۵^{d}	۰/۷۴^{d}	۰/۷۴^{d}	۳/۲۴^{d}	۶/۰۹^{a}	۴/۹۷^{a}	۳۲/۷۰^{a}	۰/۳۸^{ab}	۴/۱۶^{a}	۹/۹۴^{b}
ژنوتیپ										
ارومیه	۳۱/۶۶^{d}	۲/۳۰^{e}	۳/۲۴^{b}	۷/۸۷^{a}	۶/۴۴^{a}	۴/۰۸^{def}	۳۲/۲۵^{bc}	۰/۳۶^{d}	۴/۱۵^{cd}	۱۰/۱۵^{def}
همدان	۳۶/۵۰^{c}	۲/۸۶^{c}	۲/۸۷^{cd}	۷/۱۱^{b}	۵/۵۰^{b}	۳/۸۵^{efg}	۲۹/۱۰^{c}	۰/۱۹^{g}	۳/۳۹^{e}	۱۰/۱۸^{def}
کرمان	۲۹/۵۸^{e}	۱/۹۸^{g}	۲/۰۸^{fg}	۵/۴۲^{de}	۵/۴۰^{bc}	۴/۵۱^{bcd}	۳۰/۴۶^{bc}	۰/۵۰^{bc}	۵/۰۴^{b}	۸/۹۸^{f}
شیراز	۳۸/۹۱^{b}	۲/۶۷^{d}	۲/۹۴^{c}	۶/۵۸^{bc}	۶/۳۱^{ab}	۵/۶۰^{a}	۳۲/۵۳^{bc}	۰/۵۸^{a}	۵/۷۶^{a}	۱۰/۰۲^{def}
بیرجند	۲۷/۱۶^{f}	۲/۱۲^{f}	۱/۸۴^{g}	۴/۸۵^{e}	۴/۰۸^{d}	۳/۱۲^{h}	۲۳/۹۵^{d}	۰/۲۳^{fg}	۳/۶۱^{de}	۹/۶۶^{ef}
یزد	۳۰/۶۶^{de}	۲/۱۴^{f}	۲/۱۱^{f}	۶/۲۶^{c}	۵/۴۱^{bc}	۵/۰۹^{ab}	۲۹/۴۹^{bc}	۰/۵۵^{ab}	۵/۷۴^{a}	۱۰/۸۵^{cde}
اردبیل	۳۱/۵۰^{de}	۳/۲۳^{a}	۲/۸۹^{c}	۷/۰۶^{b}	۴/۵۵^{b}	۳/۷۲^{fgh}	۲۳/۹۰^{d}	۰/۲۰^{g}	۳/۲۱^{e}	۱۱/۹۴^{abc}
ابن‌سینا	۳۶/۸۳^{c}	۳/۲۷^{a}	۲/۴۵^{e}	۷/۸۴^{a}	۵/۴۷^{b}	۴/۴۰^{cde}	۲۹/۰۹^{c}	۰/۱۷^{g}	۳/۴۷^{e}	۱۲/۸۳^{ab}
کاشان	۲۱/۷۵^{g}	۱/۶۷^{h}	۱/۵۰^{h}	۵/۵۶^{d}	۴/۰۶^{d}	۳/۲۳^{gh}	۲۳/۶۹^{d}	۰/۲۸^{ef}	۳/۷۰^{de}	۹/۰۱^{f}
مشهد	۴۴/۷۵^{a}	۳/۰۰^{b}	۳/۹۸^{a}	۸/۱۶^{a}	۶/۵۶^{a}	۵/۴۶^{a}	۳۷/۷۲^{a}	۰/۵۶^{a}	۵/۰۷^{b}	۱۳/۵۳^{a}
بوشهر	۳۹/۱۶^{b}	۲/۷۳^{cd}	۲/۸۰^{cd}	۸/۰۸^{a}	۶/۱۵^{ab}	۴/۹۹^{abc}	۳۳/۰۳^{b}	۰/۴۴^{c}	۴/۴۲^{c}	۱۰/۰۲^{def}
اصفهان	۳۹/۰۰^{b}	۳/۱۴^{ab}	۲/۶۴^{de}	۷/۹۱^{a}	۵/۸۵^{ab}	۴/۸۰^{bc}	۲۹/۸۹^{bc}	۰/۳۰^{de}	۴/۰۵^{cd}	۱۱/۵۳^{bcd}

در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

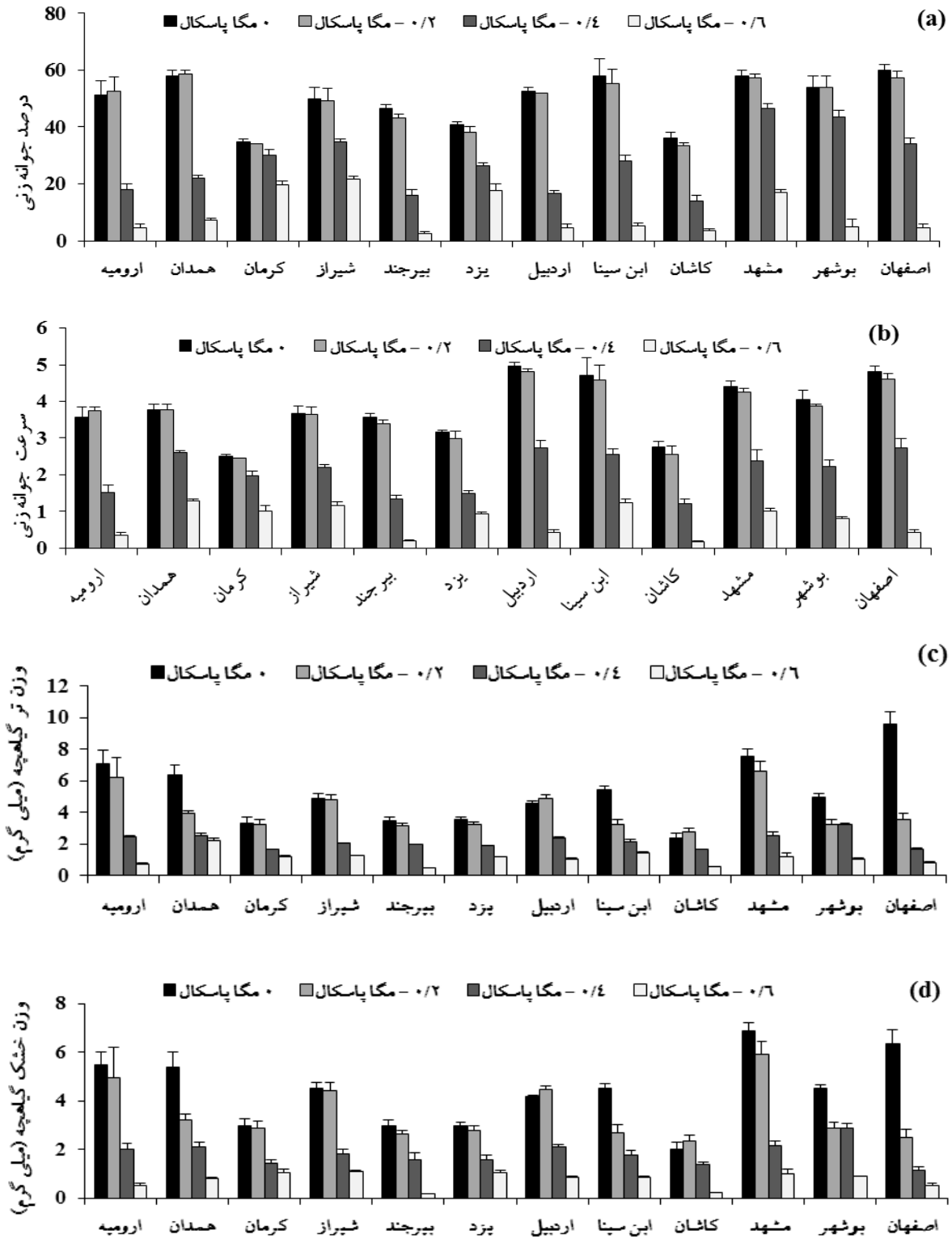
Archive of SID

جوانه‌زنی در پتانسیل‌های پایین آب را می‌توان به کاهش سطح شیب پتانسیل آب بین بذر و محیط آن نسبت داد. دانه‌ها برای انجام فرآیند جوانه‌زنی، باید به اندازه‌ی کافی آب جذب نمایند، ولی حضور پلی‌اتیلن گلایکول در محیط کشت سبب افت در پتانسیل آب و متعاقبا باعث کاهش جذب آب توسط دانه می شود. با کاهش میزان جذب آب توسط بذر، حرکت مواد ذخیره ای دانه و سنتز پروتئین‌ها در جنین کاهش یافته و ادامه رشد گیاهچه با مشکل مواجه می‌شود (Yagmur and Kaydan, 2008). Hanselinو Eggen (۲۰۰۵)، توضیح دادند که خشکی باعث تنش اسمتیک و تاثیر یون‌های ویژه‌ای می‌شود که در نهایت باعث کاهش یا بازدارندگی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌گردد. هماهنگ با این نتایج، مرادی و همکاران (۱۳۹۱) کاهش معنی دار جوانه‌زنی دانه‌های رازیانه در پتانسیل های پایین‌تر از ۰/۲- مگاپاسکال را گزارش کردند و نشان دادند که با کاهش پتانسیل آب از صفر به ۰/۲- و ۰/٤- مگا پاسکال، وزن خشک گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف رازیانه کاهش یافت. Yamamoto و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند با کاهش میزان پتانسیل آب، میزان آب کمتری در اختیار بذر قرار می‌گیرد و در نتیجه تورژسانس سلول‌های گیاهچه بذر کاهش می‌یابد. کاهش تورژسانس سلولی، بزرگ شدن سلول‌ها و تقسیم آنها را نقصان داده و در مجموع کاهش رشد، وزن و طول گیاهچه را در پی خواهد داشت. ژنوتیپ‌های رازیانه‌ی مورد مطالعه در این تحقیق از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند (جدول ۱). بیشترین درصد جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ریشه‌چه به ژنوتیپ مشهد تعلق داشت و کمترین درصد و سرعت جوانه زنی، و وزن تر و خشک گیاهچه در ژنوتیپ کاشان مشاهده شد (جدول ۲). هرچند که اختلاف بین ژنوتیپ‌های رازیانه از نظر وزن‌تر و خشک، و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌تواند منشاء ژنتیکی داشته باشد، اما کافی و همکاران (۱۳۹۱) این اختلاف را به تفاوت ذخیره‌ی غذایی بذور ژنوتیپ‌های مختلف مربوط دانستند و نتیجه گرفتند که بذوری با ذخایر غنی از مواد غذایی، میزان بیشتری از مواد مورد نیاز برای رشد گیاهچه را در اختیار جنین قرار می‌دهند. بنابراین آنها اندازه و ذخیره غذایی بذور را تعیین کننده‌ی خصوصیات رشدی گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف معرفی کردند. در مطالعه مرادی و همکاران (۱۳۹۱) اختلاف معنی داری بین ۱۵ توده ی رازیانه از نظر وزن تر و خشک ساقه چه، و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه گزارش شد.

اثر متقابل سطوح خشکی × ژنوتیپ روی درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ساقه‌چه و ریشه-چه‌ی رازیانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). حداکثر درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب متعلق به ژنوتیپ‌های مشهد و اردبیل در شرایط شاهد (پتانسیل صفر مگاپاسکال) و حداقل درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب به ژنوتیپ‌های بیرجند و کاشان در شرایط ت خشکی شدید (پتانسیل ۰/٦- مگاپاسکال) تعلق داشت (شکل a۱ و b). درصد کاهش جوانه‌زنی در سطح خشکی شدید نسبت به شرایط شاهد، برای هر یک از ژنوتیپ‌های ارومیه، همدان، کرمان، شیراز، بیرجند، یزد، اردبیل، ابن‌سینا، کاشان، مشهد، بوشهر و اصفهان به ترتیب برابر با ۹۰، ۸۷، ٦٦، ٥٦، ۹۸، ٥٦، ۹۲، ۹۱، ۸۹، ۷۰، ۹۰ و ۹۲ درصد بود (شکل a۱). این نتایج نشان داد که کاهش درصد جوانه‌زنی در خشکی شدید، بین ژنوتیپ‌های رازیانه تفاوت ایجاد کرد، به طوریکه این تفاوت ملاک خوبی برای تقسیم‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به خشکی در مرحله‌ی جوانه‌زنی بود. بر این اساس، ژنوتیپ‌های رازیانه مورد مطالعه در این تحقیق به سه گروه مقاوم (شیراز، یزد، کرمان و مشهد)، نیمه‌حساس (همدان، کاشان، بوشهر و ارومیه) و حساس به خشکی (بیرجند، اردبیل، ابن‌سینا و اصفهان) تقسیم‌بندی شدند. در شرایط خشکی شدید (پتانسیل ۰/٦- مگاپاسکال)، بیشترین کاهش در قیاس با شاهد در صفات وزن تر و خشک گیاهچه، و طول ساقه‌چه به ترتیب در ژنوتیپ‌های اصفهان (۹۱ درصد)، بیرجند (۹۵ درصد) و ابن سینا (۸۸ درصد) مشاهده شد که همگی آنها متعلق به گروه حساس به خشکی بودند (شکل c۱ و d، و شکل a۲). در این شرایط، کمترین

www.SID.ir

Archive of SID

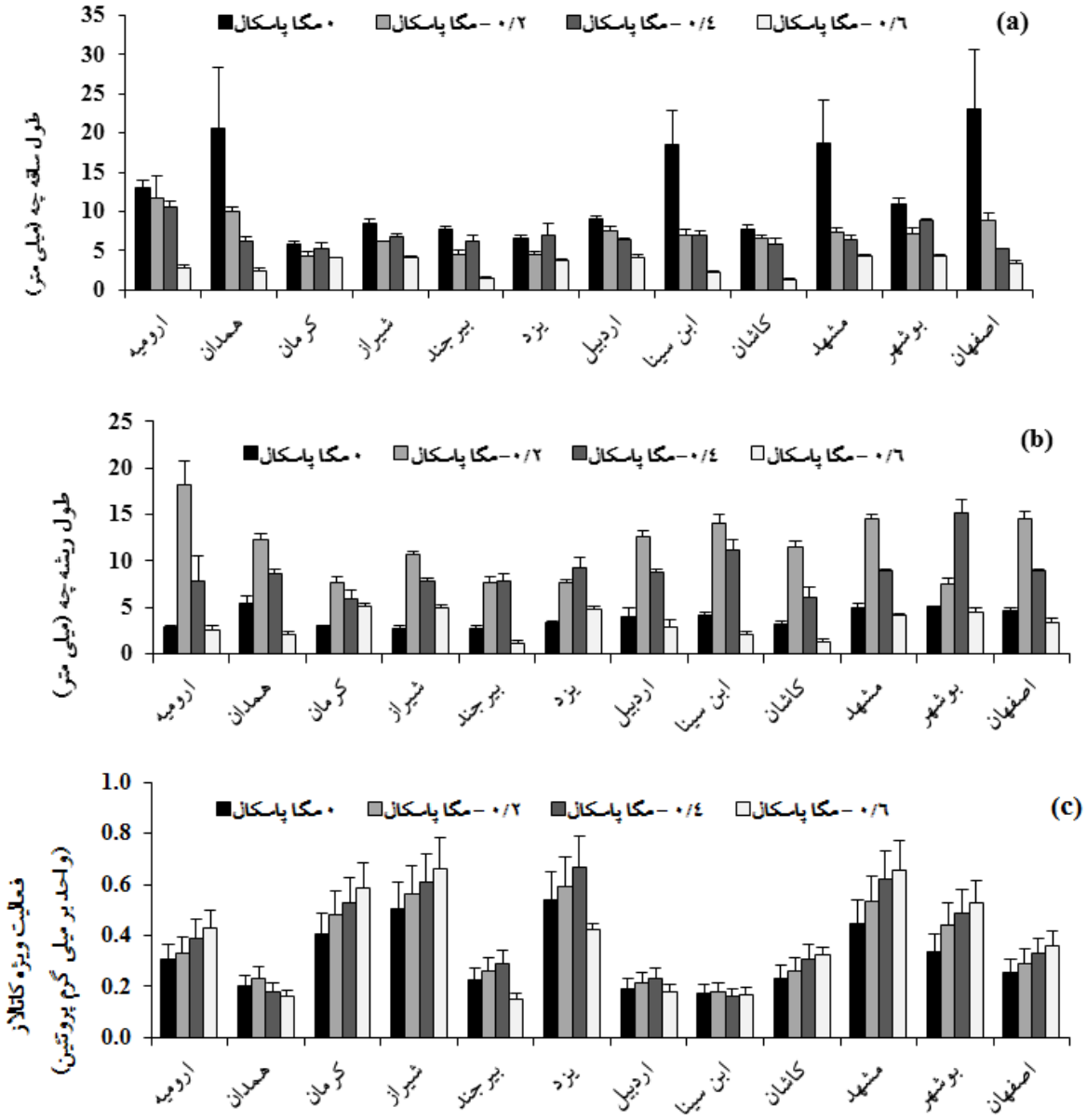


شکل ۱- اثر متقابل سطوح خشکی و ژنوتیپ بر درصد (a) و سرعت (b) جوانه‌زنی، و وزن تر (c) و خشک (d) گیاهچه رازیانه (مقادیر میانگین سه تکرار می‌باشد و بارها نشان دهنده انحراف معیار است).

کاهش در صفات فوق‌الذکر در ژنوتیپ کرمان مشاهده شد که متعلق به گروه متحمل به خشکی بود. به علاوه، طول ریشه‌چه در شرایط خشکی شدید در ژنوتیپ های شیراز، کرمان و یزد که همگی متعلق به گروه متحمل به خشکی بودند، به ترتیب

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- اثر متقابل سطوح خشکی و ژنوتیپ بر طول ساقه چه (a) و ریشه چه (b)، و فعالیت ویژه کاتالاز (c) رازیانه (مقادیر میانگین سه تکرار می‌باشد و بارها نشان دهنده انحراف معیار است)

۸۲، ۷۲ و ٤۲ درصد در مقایسه با شرایط شاهد افزایش یافت (شکل b۲). این نتایج به روشنی مشخص کرد که ژنوتیپ‌های متحمل رازیانه در شرایط خشکی در برابر کاهش رشد گیاهچه مقاومت می‌کنند و با توسعه‌ی بیشتر ریشه‌چه جذب آب را افزایش داده و آثار مخرب خشکی را تخفیف می‌دهند.

یکی از استراتژی‌های عمومی در گیاهان در مواجهه با تنش خشکی، گسترش اندام‌های زیرزمینی و محدود کردن اندام‌های هوایی است تا سیستم کاراتری برای جذب آب به نفع بخش کوچک شده‌ای از اندام‌های هوایی ایجاد کند تا تحمل تنش خشکی آسان‌تر شود (اکرم قادری و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین محققین، اختلال در انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به گیاهچه را از دیگر عوامل کاهش رشد ساقه‌چه در شرایط تنش خشکی می‌دانند (حسینی و رضوانی مقدم، ۱۳۸۵). به علاوه با کاهش پتانسیل آب خاک، میزان آب در دسترس گیاهچه تنزل می یابد و این پدیده کاهش تورژسانس سلولی را به همراه دارد. سلول‌هایی که به علت خشکی

www.SID.ir

Archive of SID

طراوت و تورژسانس مطلوبی ندارند، به خوبی رشد نکرده، به سختی طویل می‌شوند و تقسیم سلولی آنها نیز دچار مشکل می‌شود و همه این عوامل در نهایت باعث نقصان رشد در ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌شود (Yamamoto *et al.*, 1997). دیگر مطالعات نتایج مشابهی در رابطه با کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در گونه های مختلف از جمله ذرت (Farsiani and Ghobadi, 2009)، بابونه (Afzali *et al.*, 2006) و رازیانه (مرادی و همکاران، ۱۳۹۱) بر اثر تنش خشکی گزارش کرده اند، به طوری که در اکثر این مطالعات، نرخ کاهش رشد ناشی از تنش خشکی در ساقه‌چه بیشتر از ریشه‌چه اعلام شده است. در مطالعه‌ای دیگر، مرادی و همکاران (۱۳۹۱)، تنوع زیادی بین ۱۵ ژنوتیپ رازیانه از نظر درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه در شرایط تنش کمبود آب گزارش کردند. به علاوه، آنها ژنوتیپ‌های مشکین‌شهر، فزوه و فسا را متحمل به خشکی و ژنوتیپ‌های اصفهان، چاهستان و ارسباران را حساس به خشکی معرفی کردند.

محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین گیاهچه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشخص کرد که سطوح خشکی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین گیاهچه‌های رازیانه داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با تشدید خشکی، میزان پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین گیاهچه های رازیانه به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد، به طوریکه بالاترین سطح صفات فوق‌الذکر در خشکی شدید (پتانسیل ۰/۶- مگا پاسکال) و پایین‌ترین سطح آنها در شرایط شاهد (پتانسیل صفر مگاپاسکال) مشاهده شد (جدول ۲). ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین گیاهچه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند (جدول ۱). بیشترین میزان پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین گیاهچه به ژنوتیپ مشهد (از گروه متحمل به خشکی) و کمترین آنها به ژنوتیپ بیرجند (از گروه حساس به خشکی) تعلق داشت (جدول ۲). هماهنگ با نتایج مطالعه‌ی حاضر، Parida و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تنش خشکی در پنبه افزایش سطوح پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین را در پی داشت، به طوریکه افزایش در صفات فوق الذکر در ژنوتیپ‌های متحمل به تنش به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به ژنوتیپ‌های حساس بالاتر بود. آنها نتیجه گرفتند که پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین از مهمترین املاح سازگار در پنبه هستند که نقشی حیاتی در تنظیم اسمزی، حفظ ماکرومولکول‌های سلولی، سم‌زدایی سلول و جمع‌آوری گونه های فعال اکسیژن ناشی از تنش خشکی، بازی می‌کنند.

برخلاف این نتایج، Cheruiyot و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی میزان پلی‌فنول‌ها در شش کلون چای کاهش پیدا کرد، هر چند اذعان کردند که در شرایط خشکی کلون‌های متحمل در مقایسه با کلون‌های حساس، از میزان پلی‌فنول بالاتری برخوردار بودند و با افزایش سطوح تنش خشکی، افت پلی‌فنول کمتری داشته و سطح بالای پلی‌فنول‌های خود را حفظ کردند. نجف‌زاده اصل و احسانپور (۱۳۹۱) گزارش کردند که تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن گلایکول در کشت درون شیشه سیب‌زمینی، محتوی قندهای محلول بخش هوایی گیاهچه را در رقم مقاوم Kenebec افزایش داد. آنها توضیح دادند که قندهای محلول از دو طریق در شرایط تنشی از سلول محافظت می کنند. اول آنکه گروه هیدروکسیل قندها طی دهیدراتاسیون غشاء و پروتئین‌ها جایگزین آب در آنها می‌شود و با برقرای پیوندهای هیدروژنی، کمک به حفظ این ساختارها کرده و از تغییر شکل آنها جلوگیری می‌کنند. دوم آنکه قندها در سلول‌های دهیدراته شده از طریق کریستاله شدن، تشکیل بلورهای بیولوژیک می‌دهند و به پایداری سلول کمک می‌کنند. محققان، افزایش تجزیه کربوهیدرات‌های نامحلول و تبدیل آنها به قندهای محلول؛ سنتز مواد اسمتیک از مسیرهای غیرفتوسنتزی؛ توقف رشد؛ کاهش در انتقال (صادرات) مواد و فعال‌سازی آنزیم ساکارز فسفات سنتاز و افزایش سنتز ساکارز را از جمله دلایل افزایش سطوح قندهای محلول در گیاهان تحت تنش خشکی می‌دانند (خاکشور مقدم و همکاران، ۱۳۹۰). گیاهان تحت تنش خشکی از یک طرف کربوهیدرات‌های محلول را

www.SID.ir

Archive of SID

در سلول‌هایشان تجمع می‌دهند و با کاهش پتانسیل آب، موجبات حفظ فشار تورژسانس سلولی را فراهم می‌کنند و از طرف دیگر با افزایش تبدیل قندهای هگزوز و کربوهیدرات هایی چون نشاسته و ساکارز به پلی‌اول‌ها و پرولین، تنظیم اسمزی را به طور مؤثرتری به کار می‌بندند. اختلاف در محتوی قندهای محلول در ژنوتیپ‌های مختلف رازیانه، می‌تواند به دلیل تفاوت در فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی (به فرض مثال آلفا و بتا آمیلاز) و یا به دلیل تفاوت در کیفیت و کمیت ذخیره غذایی بذور در ژنوتیپ‌های مختلف باشد. ژنوتیپ‌هایی با اندازه بذر بزرگ‌تر که حاوی ذخیره‌ی نشاسته‌ای غنی‌تری هستند، مواد اولیه بیشتری برای تولید کربوهیدرات‌های محلول در اختیار جنین قرار می‌دهند. Soliman و El-Shaieny (۲۰۱٤) گزارش کردند که کاهش پتانسیل آب حاصل از تنش شوری باعث افزایش در میزان پرولین پنج گیاه (رازیانه، کرفس، شوید، زیره سیاه و جعفری) از خانواده چتریان شد. Qayyum و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن گلایکول، محتوی پرولین را به طور معنی داری در گیاهچه پنج رقم گندم افزایش داد. افزایش محتوی پرولین بر اثر تنش خشکی را می‌توان به عوامل گوناگونی از جمله: کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌های سلولی، کاهش در فعالیت پرولین اکسیداز، افزایش بیوسنتز پرولین از گلوتامات و تمایل به تجزیه پروتئین‌های سلولی به نفع تولید بیشترآسید آمینه‌هایی چون پرولین که در تنظیم اسمزی به نحو موثری عمل می کنند، مربوط دانست (Kishor *et al.*, 1995). انباشت ملکول های سازگاری چون اسید آمینه‌ی پرولین در شرایط کم‌آبی، از مهمترین راهکارهای گیاهان به منظور تنظیم فشار اسمزی سلول و به تبع آن حفظ تورژسانس سلولی می باشد (Morgan *et al.*, 1986). افزایش پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین در شرایط خشکی، از یک سو باعث تنظیم اسمزی در سلول می‌شود و از سوی دیگر به حفظ ساختارهای مولکولی، سم‌زدایی و پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن در سلول کمک می‌کند. با توجه به اینکه بالاترین مقادیر پلی‌فنول ها، قندهای محلول و پرولین متعلق به ژنوتیپ مشهد (از گروه متحمل به خشکی) بود، درحالیکه پایین‌ترین مقادیر صفات فوق‌الذکر در ژنوتیپ بیرجند (از گروه حساس به خشکی) مشاهده شد، می‌توان چنین نتیجه گرفت که پلی‌فنول‌ها، قند-های محلول و پرولین، نقشی کلیدی در ایجاد مقاومت گیاهچه‌های رازیانه به خشکی بازی می‌کنند و از این صفات می‌توان به عنوان برخی از شاخص‌های تحمل خشکی در رازیانه در مرحله جوانه‌زنی نام برد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف خشکی روی فعالیت ویژه آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اگر چه اثر پتانسیل آب بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود، ولی سطوح خشکی ملایم و متوسط (پتانسیل های ۰/۲- و ۰/٤-مگاپاسکال) فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد افزایش داد و خشکی شدید (پتانسیل ۰/٦- مگا پاسکال) از فعالیت آن کاست (جداول ۱ و ۲). به علاوه، با افزایش سطوح خشکی، فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز افزایش، و فعالیت ویژه‌ی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاهش یافت (جدول ۲). ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول ۱). بیشترین فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های شیراز و مشهد، بیشترین فعالیت ویژه‌ی آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های شیراز و یزد، و بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ مشهد مشاهده شد (جدول ۲)، و این در حالی بود که همه‌ی ژنوتیپ‌های فوق الذکر متعلق به گروه متحمل به خشکی بودند. کمترین فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های همدان و ابن سینا، کمترین فعالیت ویژه‌ی آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های اردبیل و همدان، و کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ کاشان مشاهده شد (جدول ۲)، و این در حالی بود که همه‌ی ژنوتیپ‌های اخیر متعلق به گروه حساس یا نیمه‌حساس به خشکی بودند. اثر متقابل ژنوتیپ × سطوح خشکی بر فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

ویژه آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش سطوح خشکی، فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های ارومیه، کرمان، شیراز، کاشان، مشهد، بوشهر و اصفهان به طور پیوسته افزایش یافت، به طوریکه فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در این ژنوتیپ‌ها در شرایط شاهد (پتانسیل صفر مگاپاسکال) در پایین‌ترین سطح، و در شرایط خشکی شدید (پتانسیل ۰/٦- مگاپاسکال) در بالاترین سطح قرار داشت (شکل c۲). در حالی که، در ژنوتیپ‌های همدان، بیرجند، یزد، اردبیل و ابن‌سینا با خشکی ملایم، فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد ولی این افزایش روندی پیوسته نداشت و در خشکی شدید از فعالیت آن کاسته شد. فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی مانند کرمان، شیراز و مشهد با افزایش سطوح خشکی روندی افزایشی و پیوسته داشت ولی در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی (مانند بیرجند، اردبیل و ابن‌سینا)، در خشکی شدید روندی کاهشی پیدا کرد (شکل c۲).

Wang و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای که روی دو ژنوتیپ حساس (Northstar) و مقاوم (Xinmu No. 1) یونجه انجام دادند، توضیح دادند که هر چند تنش‌های خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی، باعث افزایش در فعالیت ویژه آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در هر دو ژنوتیپ حساس و مقاوم شد، ولی رقم متحمل به تنش، به طور چشمگیری نسبت به رقم حساس از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بالاتری برخوردار بود.

بنابراین نتیجه گرفتند که برخورداری از سیستم آنتی اکسیدانی کارآمد در یونجه، می‌تواند در ایجاد تحمل به تنش های خشکی و شوری در مرحله‌ی جوانه‌زنی موثر باشد. کاتالاز مولکول H_2O_2 را به طور مستقیم حذف می کند و آن را به مولکول آب و اکسیژن تبدیل می‌کند. از این رو، این آنزیم به قدرت کاهندگی نیاز ندارد، پس سرعت فعالیت بالایی دارد ولی چون تمایل آن به مولکول H_2O_2 پایین است، فقط غلظت های بالای H_2O_2 را حذف می‌کند و در غلظت‌های پایین H_2O_2 خوب عمل نمی‌کند. در عوض آنزیم آسکوربات پراکسیداز با تمایل بالایی که برای H_2O_2 دارد، این مولکول را در غلظت های پایین (تنش‌های ملایم) که برای کاتالاز قابل شناسایی نیست، حذف می‌نماید (Wang *et al.*, 2009). به علاوه، محصول فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در کلروپلاست، H_2O_2 است که آنزیم آسکوربات پراکسیداز در حذف آن نقش کلیدی دارد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز، از آسکوربات، به عنوان دهنده‌ی الکترون برای احیای مولکول H_2O_2 استفاده می‌کند (Chaitanya *et al.*, 2002). De Carvalho (۲۰۰۸) توضیح داد که آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به آنزیم کاتالاز در برابر تنش اکسیداتیو حساس‌تر است، از این رو آنزیم آسکوربات پراکسیداز تنها در تنش‌های ملایم از طریق سیکل آسکوربات-گلوتاتیون در حذف H_2O_2 عملکرد مناسبی دارد. چون کاتالاز تمایل کمتری به مولکول H_2O_2 دارد، بنابراین در غلظت‌های بالای H_2O_2 (تنش شدید)، آسیب کمتری می‌بیند و فعال‌تر از آنزیم آسکوربات پراکسیداز عمل می‌کند. مولکول H_2O_2 در غلظت بالا، شدیدا به آنزیم آسکوربات پراکسیداز حمله کرده و باعث بازدارندگی فعالیت آن می‌گردد. هماهنگ با نتایج آزمایش حاضر، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهچه‌های آفتابگردان (Quartacci and Navari-Izzo, 1992) و گیاه *Aegilops squarrosa* (Badiani *et al.*, 1990) در اثر تنش خشکی کاهش پیدا کرد. برخلاف این نتایج، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گندم (Badiani *et al.*, 1990) و نخود (Mittler and Zilinskas, 1994) تحت تنش خشکی افزایش یافت. احیای نوری اکسیژن به رادیکال سوپراکسید که در کلروپلاست و به وسیله فتوسیستم I انجام می‌پذیرد را واکنش مهلر (Mehler Reaction) می‌نامند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با دیسموتاسیون این رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن، نقش مهمی در حفاظت دستگاه فتوسنتزی در برابر تنش اکسیداتیو بازی می‌کند (Chen *et al.*, 2004). De Carvalho (۲۰۰۸) کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اثر خشکی را چنین تفسیر کرد که در شرایط خشکی روزنه ها به حالت نیمه بسته در می‌آیند و فرآیند تثبیت

www.SID.ir

Archive of SID

دی‌اکسید کربن کاهش پیدا می‌کند. با کاهش در فعالیت فتوسنتزی، تولید رادیکال سوپراکسید که محصول واکنش مهلر است نیز افت پیدا می‌کند. نیمه باز گذاشتن روزنه‌ها یکی از استراتژی‌های سازگاری به خشکی در گیاهانی چون لوبیا چشم بلبلی (De Carvalho *et al.*, 1998) و لوبیا تپاری (Turkan *et al.*, 2005) است. احتمالاً کاهش رادیکال سوپر اکسید در حالت تنش، به عنوان سیگنالی برای کاهش بیان ژن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز عمل کرده است. بیشترین فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی، و کمترین فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های فوق‌الذکر در ژنوتیپ‌های حساس یا نیمه حساس به خشکی مشاهده شد. به علاوه، با تشدید سطوح خشکی فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی پیوسته افزایش یافت، در حالی که در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی در خشکی شدید روندی کاهشی پیدا کرد. بنابراین به نظر می‌رسد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، به ویژه در شرایط خشکی، با تحمل خشکی رازیانه در مرحله‌ی گیاهچه‌ای در ارتباط است.

نتیجه‌گیری کلی:

با استفاده از نتایج این تحقیق، ۱۲ ژنوتیپ رازیانه‌ی مورد مطالعه به سه گروه مقاوم (شیراز، یزد، کرمان و مشهد)، نیمه حساس (همدان، کاشان، بوشهر و ارومیه) و حساس (بیرجند، اردبیل، ابن‌سینا و اصفهان) تقسیم‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های متحمل رازیانه در شرایط خشکی در برابر کاهش رشد گیاهچه مقاومت کردند و با توسعه‌ی بیشتر ریشه‌چه جذب آب را افزایش داده و آثار مخرب خشکی را تخفیف دادند. به علاوه مشخص گردید که محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین، و فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در قیاس با ژنوتیپ‌های حساس به خشکی بیشتر است. بنابراین مجموعه‌ی صفات فوق‌الذکر، میزان تحمل خشکی رازیانه در مرحله‌ی گیاهچه‌ای را مشخص می‌کنند. بر طبق نتایج حاصل از این تحقیق، ژنوتیپ مشهد در بین همه‌ی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، با داشتن بالاترین درصد جوانه‌زنی، وزن‌تر و خشک گیاهچه، طول ریشه‌چه، محتوی پلی‌فنول‌ها، قندهای محلول و پرولین، و فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز به عنوان ژنوتیپ برتر و متحمل‌ترین ژنوتیپ به خشکی معرفی شد.

تشکر و قدردانی:

هزینه اجرای این تحقیق توسط دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین شده است.

منابع:

اکرم قادری، ف.، کامکار، ب. و سلطانی، ا. (۱۳۸۷) علوم و تکنولوژی بذر. انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد.

امیرتیموری، س.، شمشادی، ک. و خلیلیان، ص. (۱۳۹۰) جایگاه ایران در صادرات رازیانه: رهیافت مزیت نسبی صادراتی. فصلنامه تحقیقات اقتصاد کشاورزی ٤: ۸۳-۹۷.

حسینی، ح. و رضوانی مقدم، پ. (۱۳۸۵) اثر تنش خشکی و شوری بر جوانه زنی اسفرزه (*Plantago ovata*). پژوهش های زراعی ایران ٤: ۱۵-۲۵.

خاکشور مقدم، ز.، لاهوتی، م. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۰) بررسی اثرات تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول بر جوانه زنی و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.). نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲: ۱۸۵-۱۹۳.

رنجبریان، پ.، صادقیان، س.، شیرازی، م.، صراف نژاد، ع.، فاضلی، م.، امین، غ. و مجلسی، ا. (۱۳۸۳) مطالعه اثر ضد باکتریایی ٤ عصاره گیاهی دارچین، زیره سیاه، رازیانه و شوید بر روی هلیکوباکترپیلوری به روش دیسک دیفیوژن و فلوسیتومتری. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان ۳: ٤۷-٤۲.

www.SID.ir

Archive of SID

کافی، م.، نظامی، ا.، حسینی، ح. و معصومی، ع. (۱۳۸٤) اثرات فیزیولوژیک تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول بر جوانه زنی ژنوتیپهای عدس. مجله پژوهشهای زراعی ایران ۱: ۸۱-٦۹.

مرادی، ن.، ایزدی دربندی، ع.، بهمنی، ک.، فاضل نجف آبادی، م. و سادات نوری، س. ا. (۱۳۹۱) بررسی اثر تنش خشکی بر ۱۵ جمعیت رازیانه ایرانی در مرحله جوانه‌زنی. مجموعه مقالات سومین همایش ملی علوم کشاورزی و صنایع غذایی، فسا، ایران.

نجف زاده اصل، س. و احسان پور، ع. ا. (۱۳۹۱) اثر تنش خشکی بر برخی از شاخص های فیزیولوژیکی دو رقم سیب‌زمینی (Kenebec و Concord) در شرایط کشت درون شیشه. خشک بوم ۱: ۷۰-۸۲

Aebi, H. E. (1983) Catalase. In: Methods of Enzymatic Analysis (ed. Burgmeyer H. U.) Pp. 273-286. Weinheim, Verlag Chemie, Germany.

Afzali, S. F., Hajabbasi, M. A., Shariatmadari, H., Razmjoo K. and Khoshgoftarmanesh, H. (2006) Comparative adverse effects of Peg-OR Cl induced osmotic stress on Germination and early seedling growth of a potential medicinal plant *Matricaria Chamomilla*. Pakistan Journal of Botany 38: 1709-1714.

Anjumi, T. and Bajwa, R. (2005) Importance of germination indices in interpretation of allelochemical effects. International Journal of Agriculture and Biology 7: 417-419.

Azooz, M. M. (2009) Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. International Journal of Agriculture and Biology 11: 343-350.

Badiani, M., De Biasi, M. G., Cologna, M. and Artemi, F. (1990) Catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities in seedlings submitted to increasing water deficit. Agrochimica 34: 90-102.

Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. Plant and Soil 39: 205-208.

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

Chaitanya, K. V., Sundar, D., Masilamani, S. and Ramachandra Reddy, A. (2002) Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars. Plant Growth Regulation 36: 175-180.

De Carvalho, M. H. C. (2008) Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling. Plant Signaling and Behavior 3: 156-165.

Chen, H. X., An, S. Z., Li, W. J., Gao, H. Y. and Zou, Q. (2004) Enhancement of the mehler-peroxidase reaction in salt-stressed Rumex K-1 leaves. Acta Botanica Sinica 7: 811-818.

De Carvalho, M. H. C., Laffray, D. and Louguet, P. (1998) Comparison of the physiological responses of Phaseolus vulgaris and Vigna unguiculata cultivars when submitted to drought conditions. Environmental and Experimental Botany 40:197-207.

Cheruiyot, E. K., Mumera, L. M., Ngetich, W. K., Hassanali, A. And Wachira, F. N. (2007) Polyphenols as potential indicators for drought tolerance in tea (*Camellia Sinensis* L.). Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 71: 2190-2197.

Darzi, M. T., Haj Seyed Hadi, M. R. and Yasa, N. (2005) Effects of sowing date and plant density on seed yield and quality of active substance in fennel (*Foeniculum vulgare)*. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding 2: 27-36.

Farsiani, A. and Ghobadi, M. E. (2009) Effects of PEG and NaCl stress on two cultivars of corn (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stages. World Academy of Science, Engineering and Technology 57: 382-385.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase: Occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Hanselin, M. H., Eggen, T. (2005) Salinity tolerance during germination of seashore halophytes and salt tolerant grass cultivars. Seed Science Research 15: 43-50.

Hashmi, N., Khan, M. M. A., Moinuddin, Idrees, M. and Aftab, T. (2012) Exogenous salicylic acid stimulates physiological and biochemical changes to improve growth, yield and active constituents of fennel essential oil. Plant Growth Regulation 68: 281-291.

Hosseini, H. and Rezvani Moghadam. P. (2006) Effect of water and salinity stress in seed germination on isabgol (*Plantago ovata*). Iranian Journal of Field Crops Research 1: 15-22.

Irigoyen J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84: 55-60.

Khalid, K. A., Teixeira Da Silva, J. A. and Cai, W. (2010) Water deficit and polyethylene glycol 6000 affects morphological and biochemical characters of *Pelargonium odoratissimum* (L.). HortScience 125: 159-166.

Kishor, P. B. K., Hong, Z., Miao, G. H., Hu, C. A. A. and Verma, D. P. S. (1995) Overexpression of delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiology 108: 1387–1394.

Masoumi, A., Kafi, M. and Khazaei. H. R. (2008)

www.SID.ir

Archive of SID

Quartacci, M. F. and Navari-Izzo, F. (1992) Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedlings. Journal of Plant Physiology 139: 612-25.

Singh, R. P., Murthy, K. N. C. and Jayaprakasha, G. K. (2002) Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 81–86.

Soliman, W. S. and El-Shaieny, A. A. H. (2014) Effect of saline water on germination and early growth stage of five Apiaceae species. African Journal of Agricultural Research 7: 713-719.

Toth, E. and Nemeth, E. (1996) Recent results in the development of genebank technologies specialised for medicinal plants. Beitrage 2: 72-75.

Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-31.

Wang W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. (2009) Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry 47: 570–577.

Yagmur, M. and Kaydan, D. (2008) Alleviation of osmotic stress of water and salt in germination and seedling growth of triticale with seed priming treatments. African Journal of Biotechnology 7: 2156- 2162.

Yamamoto, I., Turgeon A. J. and Duich J. M. (1997) Field emergence of solid matrix seed primed turfgrasses. Crop Science 37: 220–225.

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) germination responces to water stress induced by polyethylene glycol 6000. Iranian Journal of Field Crops Research 2: 453-462.

Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology 51: 914-916.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Mittler, R. and Zilinskas, B. A. (1994) Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. The Plant Journal 5: 397-405.

Morgan, J. M., Hare, R. A. and Fletcher R. J. (1986) Genetic variation in osmoregulation in bread and durum wheat and its relationship to grain yield in arrange of field environments. Australian Journal of Agricultural Research 37: 449-457.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

Parida, A. K., Dagaonkar, V. S., Phalak, M. S., Umalkar, G. V. and Aurangabadkar, L. P. (2007) Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. Plant Biotechnology Report 1: 37-48.

Qayyum, A., Razzaq, A., Ahmad, M and, Jenks, M. A. (2011) Water stress causes differential effects on germination indices, total soluble sugar and proline content in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. African Journal of Biotechnology 10: 14038-14045.

www.SID.ir