Archive of SID

ارزیابی ماده خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه اسپرس تحت تاثیر پرایمینگ و اندازه بذر در شرایط تنش خشکی

سید جلیل نوربخشیان*[1]، مجید نبی‌پور[2]، موسی مسکرباشی[2] و ریحانه عموآقایی[3]

[1]بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری (شهرکرد)، [2]گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، [3]گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۲۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۱/۱۹)

چکیده:

انتخاب راهکارهای مناسب مانند پرایمینگ بذر می‌توانند تا حدودی اثرات خسارت‌زای تنش خشکی در گیاهان زراعی بالاخص در مرحله گیاهچه را کاهش دهند. این آزمایش به منظور ارزیابی اثر پرایمینگ و اندازه بذر بر تولید ماده خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه اسپرس در شرایط نرمال و تنش خشکی اجرا شد. در این تحقیق ١٦ تیمار شامل فاکتوریلی از دو توده اسپرس (بروجن و قزوین)، دو اندازه بذر بزرگ (میلی‌متر٤/٥<) و کوچک (میلی‌متر٣/٥< اندازه بذر<٤/٥)، چهار تیمار پرایمینگ بذر (هیدروپرایمینگ، پرایمینگ با پلی‌اتیلن گلیکول و کلرید کلسیم و بدون پرایمینگ) در شرایط نرمال آبیاری (٥٥ درصد تخلیه رطوبت قابل استفاده خاک) و تنش خشکی (٨٠ درصد تخلیه) بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان ماده خشک در شرایط تنش خشکی برای کلیه تیمارها کاهش یافت، اما در گیاهچه‌های حاصل از توده بروجن، بذور بزرگ و تیمار هیدروپرایمینگ بیشترین ماده خشک در شرایط تنش در مقایسه با توده قزوین، بذور کوچک و سایر تیمارهای پرایمینگ بدست آمد. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در گیاهچه-های حاصل از توده بروجن، بذور بزرگ و هیدروپرایمینگ در شرایط نرمال و تنش خشکی بیشتر از توده قزوین، بذور کوچک و عدم پرایمینگ بود. همچنین میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در گیاهچه حاصل از توده قزوین، بذور کوچک و عدم پرایمینگ بیشتر از تیمارهای دیگر بود. بطور کلی از نتایج می‌توان استنباط کرد که انتخاب توده بروجن، بذور بزرگ و تیمار پرایمینگ بذر سبب بهبود رشد و شاخص‌های تحمل به خشکی در گیاهچه اسپرس در شرایط تنش خشکی در مقایسه با سایر تیمارها گردید.

کلمات کلیدی: اسپرس، تنش خشکی، آنتی‌اکسیدانت، ماده خشک، گیاهچه.

مقدمه:

تنش خشکی به شرایط کمبود رطوبت در زمان رشد گیاه اطلاق می‌شود که سبب بروز اثرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاه می‌گردد. در شرایط تنش خشکی با توجه به شدت آن، کاهش رشد گیاه زراعی حادث می‌شود که در مجموع بر عملکرد قابل برداشت در مزرعه تاثیر منفی دارد (Farooq *et al.*, 2009) . خشکی بر رشد گیاهان علوفه‌ای نیز تأثیرگذار است، کاهش رشد و عملکرد علوفه برای شبدر پنجه کلاغی، شبدر قرمز، یونجه و اسپرس در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Peterson *et al.*, 1992) . ارزیابی دو گونه اسپرس (*O,radiate* و *O,viciifolia*) در شرایط رژیم رطوبتی مختلف خاک در شرایط گلخانه نشان داد که تنش خشکی بر

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: jnoorbakhshian@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

کاهش میزان ماده خشک هر دو گونه موثر بود (رامک و همکاران، ۱۳۸۵). مطالعه چند گونه اسپرس در شرایط تنش خشکی در مرحله رویشی در تیمارهای مختلف تخلیه رطوبت قابل استفاده از خاک در شرایط گلخانه بیانگر آن بود که تنش خشکی بر صفات مورد مطالعه اثر منفی داشت و صفاتی مانند طول ریشه و ساقه در شرایط تنش شدید مقادیر کمتری را داشتند (نصیرزاده و همکاران، ۱۳۸۳).

پرایمینگ بذر یک راهبرد در کسب تحمل به خشکی در زمان جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه می‌باشد (Ashraf and Foolad, 2005). همچنین اثر مثبت بر رشد بعدی گیاه و تولید محصول از مزایای دیگر تیمار پرایمینگ در شرایط تنش و بدون تنش می‌باشد (Ashrafi and Razmjo, 2010., Hardegree, 1994., Hu *et al*., 2006., Mauromical *et al*., 1996). بر طبق مطالعات Zhang و همکاران (۲۰۰۷) پرایمینگ بذر یونجه نتایج مثبتی بر وزن خشک گیاهچه در شرایط تنش شوری داشته است. همچنین پرایمینگ سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در گیاهچه‌های دو رقم یونجه در شرایط تنش شوری گردید. نتایج تحقیقات Hu و همکاران (۲۰۰٦) نشان داد که پرایمینگ با شن مرطوب می‌تواند به عنوان روشی کارآمد برای افزایش توانائی تحمل به شوری و بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه یونجه تحت غلظت بالای نمک در خاک کاربرد داشته باشد. در این تحقیق پرایمینگ بذر به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد و میزان تجمع مالون دی آلدئید (MDA) ناشی از پراکسیداسیون غشاها را تحت شرایط تنش کاهش داد. نتایج آزمایش عموآقایی (۲۰۱۱)، نشان داد که هر دو روش اسمو و هیدروپرایمینگ سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد بهتر گیاهچه یونجه در مقایسه با عدم پرایمینگ گردید. این محقق همچنین افزایش فعالیت بیشتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز و محتوای بیشتری از پرولین در گیاهچه حاصل از پرایمینگ تحت شرایط تنش شوری در مقایسه با تیمار عدم پرایمینگ را گزارش کرد. مطالعات Yang و همکاران (۲۰۰۹)، در شرایط تنش خشکی نشان داد که میزان نشت غشایی و مالون دی‌آلدئید(MDA) کمتری در گیاهچه‌های سویا حاصل از تیمار پرایمینگ بدست آمد، همچنین میزان فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانتی پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهچه حاصل از تیمار پرایمینگ بذر بیشتر بود.

اندازه بذر نیز یکی از عوامل مؤثر بر رشد اولیه و تحمل به تنش خشکی در تعدادی از لگوم‌ها عنوان شده است (Al Karaki, 1998). بذور بزرگ عموما گیاهچه‌هایی با بنیه بیشتر تولید می‌کنند. گیاهچه حاصل از بذور بزرگ علاوه بر بنیه بیشتر، می‌تواند تحمل بیشتری به شرایط خشکی داشته باشد (Cash and Detterline, 1996) این موضوع می‌تواند به دلیل رشد بیشتر و توسعه سریع‌تر ریشه باشد (Khurana and Singh, 2000). این تحمل برای گیاهچه بذور بزرگ دو رقم عدس در شرایط تنش خشکی در مقایسه با بذور کوچک گزارش شده است (Al Karaki, 1998). برای گیاهچه حاصل از بذور بزرگ ارزن مرواریدی گزارش شده است که این گیاهان علایم پژمردگی اولیه و دایم را دیرتر از گیاهان حاصل از بذور ریز نشان دادند (Manga and Yadav, 1995). همچنین گیاهچه‌های حاصل از بذور بزرگ گیاه لگوم *Albizia procera* تحمل بیشتری را به تنش خشکی نشان دادند (Khurana and Singh, 2000). رشد اولیه در تعدادی از لگوم‌ها متناسب با اندازه بذر است. در بذور این گیاهان طول محور جنین، پریموردیوم‌های برگی، سطح و توده لپه بزرگ‌تر است و گیاهچه‌های حاصل از این بذور ظهور و توسعه سریع‌تر و برگ‌های اول و دوم بزرگ‌تری را در مقایسه با بذور کوچک داشتند (Cash and Detterline, 1996). همچنین تثبیت نیتروژن در گیاهچه بذور بزرگ بیشتر از گیاهچه بذور کوچک بود (Cash and Detterline, 1996). این برتری رشد ممکن است تحمل به خشکی گیاهچه بذور بزرگ را در مقایسه با گیاهچه بذور کوچک افزایش دهد.

پیرامون اثر پرایمینگ و اندازه بذر بر تحمل به خشکی و رشد گیاهچه اسپرس نتایجی در دسترس نمی‌باشد. در حالیکه اسپرس (*Onobrychis sativa.* Scop) گیاهی است که قابلیت کشت در زراعت آبی و دیم را دارد و این امکان وجود دارد که

www.SID.ir

Archive of SID

در طول دوره رشد از زمان جوانه‌زنی تا تولید عملکرد اقتصادی تنش خشکی را تجربه کند.

مزایایی برای تیمار پرایمینگ در شرایط نرمال و محیط‌های تنش‌دار گزارش شده است. همچنین تحقیقات محدودی اثر اندازه بذر بر استقرار گیاهچه را بررسی کرده‌اند، اما در مطالعات به اثر متقابل این دو عامل بر رشد گیاهچه پرداخته نشده است. در این پژوهش فرض شد که پرایمینگ بذر و اندازه بذر بر استقرار و رشد گیاهچه اسپرس در شرایط تنش خشکی می‌تواند اثر مثبت داشته باشند. لذا این تحقیق با هدف تأثیر پرایمینگ و اندازه بذر بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گیاهچه‌های اسپرس به عنوان شاخصی از تحمل به خشکی در شرایط تنش خشکی و عدم تنش (آبیاری نرمال) انجام شد. انتخاب مرحله گیاهچه در این تحقیق به این دلیل بود که رشد گیاهچه یک مرحله مهم در رشد و استقرار گیاه است و عواملی که بر رشد این مرحله تاثیر دارند تا پایان دوره رشد ممکن است اثر گذار باشند. اندازه بذر و پرایمینگ از عواملی هستند که می‌توانند اثرات مثبتی را در مرحله رشد گیاهچه داشته باشند.

مواد و روش‌ها:

آزمایش به روش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد در سال ۱۳۸۹ اجرا شد. فاکتورها شامل: دو توده بذر اسپرس، دو اندازه بذر یا غلاف (غلاف اسپرس در واقع میوه تک بذری است که به عنوان بذر در زراعت استفاده می‌شود)، چهار تیمار پرایمینگ و دو سطح آبیاری مطابق جدول ۱ بودند. سطوح تیمارهای پرایمینگ بر اساس آزمایش‌های اولیه (Noorbakhshian *et al.*, 2011 a) و سطوح آبیاری با توجه به آزمایش رامک و همکاران (۱۳۸۵) انتخاب شدند. تیمارها در کشت گلدانی در شرایط گلخانه با نور طبیعی از نظر رشد (ماده خشک اندام هوایی) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز) و میزان غلظت H_2O_2 مورد ارزیابی قرار گرفتند.

در هر گلدان (به قطر ۱۵ و ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر) تعداد بذر یکسان در عمق ٤-۳ سانتی‌متری از سطح رویی خاک گلدان کشت گردید. میزان وزن خاک گلدان‌ها یکسان بود و برای جلوگیری از سله بندی و یکنواخت بودن خاک سطح گلدان‌ها، آبیاری از طریق سینی‌های زیر گلدان ها انجام شد. آبیاری یکسان برای کلیه گلدان‌ها تا مدت ١٤ روز به منظور استقرار و پایداری نسبی گیاهچه ادامه داشت. از این زمان به بعد گلدان-های هر تیمار به دو دسته تقسیم شدند. یک گروه برای اعمال آبیاری نرمال (۵۵ درصد تخلیه رطوبت قابل استفاده خاک) و گروه دیگر برای اعمال تنش خشکی (۸۰ درصد تخلیه رطوبتی) در نظر گرفته شدند. برای تعیین درصد تخلیه رطوبتی گلدان‌ها، ابتدا میزان وزنی رطوبت خاک در نقطه پژمردگی دائم (PWP) و نقطه ظرفیت زراعی (FC) قبل از کاشت در گلدان ها مشخص شد و میزان وزنی رطوبت در این فاصله به عنوان آب قابل استفاده گیاه مد نظر قرار گرفت. اعمال رژیم‌های آبیاری برای مدت ۳ هفته ادامه داشت. در پایان آزمایش گیاهچه‌ها از سطح خاک بریده شدند، نمونه‌هایی به طور تصادفی جهت تعیین ماده خشک اندام هوایی انتخاب شد و بقیه بلافاصله منجمدگردیدند و برای ارزیابی آنزیم های آنتی اکسیدانتی استفاده شدند.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (شامل: سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT)) ابتدا عصاره آنزیمی استخراج شد. برای این کار مقدار ۰/۱ گرم از اندام هوایی (فقط برگ‌ها) توزین و درون هاون با ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر نمک‌های فسفات حاوی پلی وینیل‌پیرولیدین (PVP) ساییده شده تا یک محلول کاملاً هموژن بدست آمد. هموژن کردن بافت در دمای پایین و بر روی یخ انجام گرفت. سپس مخلوط حاصل در دور ۱۰۰۰۰ و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ عصاره‌گیری گردید. قسمت رویی جدا و بر برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (SOD, POX, APX, CAT) از آن استفاده شد (Xiao-Shan and Jian-Guo,2009). فعالیت آنزیم‌ها بر اساس واحد بر گرم وزن تر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- سطوح عوامل توده بذر، اندازه بذر، پرایمینگ و آبیاری در آزمایش ارزیابی ماده خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهچه اسپرس

عوامل آزمایش	سطوح عوامل
توده بذر در دو سطح	۱- توده بروجن ۲- توده قزوین
اندازه بذر	۱- بذور بزرگ با بیش از ٤/٥ میلی‌متر عرض غلاف ۲- بذور کوچک با عرض بین ۳/٥ تا ٤/٥ میلی‌متر غلاف
پرایمینگ در چهار سطح	۱- هیدروپرایمینگ به مدت ٢٤ ساعت ۲- پرایمینگ با پلی‌اتیلن گلیکول (PEG 6000) با پتانسیل ۰/۱٥- مگاپاسکال به مدت ٢٤ ساعت ۳- پرایمینگ با کلرید کلسیم با پتانسیل ۰/۱٥- مگاپاسکال به مدت ٢٤ ساعت ٤- بدون پرایمینگ
آبیاری در دو سطح	۱- ٥٥ درصد تخلیه آب قابل استفاده (نرمال) ۲- ۸۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده (تنش)

بیان شد:

یک واحد فعالیت SOD، براساس میزان آنزیمی بود که منجر به بازدارندگی ٥۰ درصد احیای نوری NBT شد.

یک واحد فعالیت POX، بر اساس تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ٤٧۰ نانومتر در طی یک دقیقه بر مبنای مصرف H_2O_2 برآورد شد.

یک واحد فعالیت APX، بر اساس تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ٢٩۰ نانومتر در طی یک دقیقه بر مبنای غلظت آسکوربات اکسید شده برآورد گردید.

یک واحد فعالیت CAT، بر اساس تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ٢٤۰ نانومتر در طی ۳ دقیقه بر مبنای مصرف H_2O_2 بر آورد شد.

برای اندازه‌گیری میزان غلظت H_2O_2 ابتدا ۰/۱ گرم نمونه تر گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر استون سرد هموژنیزه و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید. به کل عصاره ٤ میلی‌لیتر معرف تیتانیوم و سپس ٥ میلی‌لیتر آمونیم غلیظ شده اضافه شد تا کمپلکس تیتانیوم- پراکسید تشکیل شود. سپس مخلوط حاصل ٥ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. به رسوب حاصل ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ مولار اضافه و دوباره سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی بدست آمده در طول موج ٤١٥ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. غلظت H_2O_2 با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد و بر اساس میکرو مول بر گرم وزن تر گیاه گزارش شد (Mukhherjee and Choudhuri, 1983).

داده های حاصل با نرم افزار SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح ٥ درصد مقایسه شدند.

نتایج:

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات آبیاری، توده بذر، اندازه بذر و پرایمینگ بر صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). همچنین اثر متقابل آبیاری در توده، آبیاری در اندازه بذر و آبیاری در پرایمینگ برای صفات عمدتا در سطح یک درصد معنی‌دار بودند(جدول ۲).

وزن خشک: نتایج نشان داد که وزن خشک بخش هوایی گیاهچه دو توده در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط نرمال ١٤/۰ درصد کمتر بود، این کاهش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (شکل ۱). میزان ماده خشک در توده بروجن ١٥/٨ درصد بیشتر از توده قزوین در شرایط تنش بود (شکل ۱). در گیاهچه حاصل از بذور بزرگ بیشترین میزان ماده خشک در مقایسه با گیاهچه حاصل از بذور کوچک در

www.SID.ir

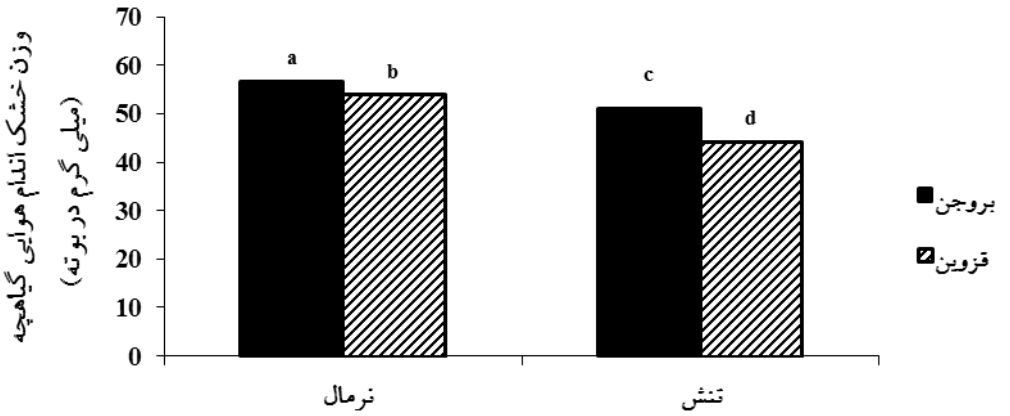
Archive of SID

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس وزن خشک، آنتی‌اکسیدانت‌ها و پراکسید هیدروژن در گیاهچه اسپرس تحت تاثیر پرایمینگ بذر در دو توده و دو اندازه بذر تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک (میلی‌گرم در بوته)	پراکسیداز (واحد بر گرم وزن تر)	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر گرم وزن تر)	کاتالاز (واحد بر گرم وزن تر)	سوپر اکسید دیسموتاز (واحد بر گرم وزن تر)	پراکسیدهیدروژن (میکرو مول در گرم وزن تر)
آبیاری	۱	۱۹۵/۸٤**	۱۱٤۷۹/٥٦**	۱٥۸۷۱/۸۱**	۳۷۹۷۱/٦۱**	۲۰۳۲۳/۱٥**	۲/۰۷٦۸**
توده بذر	۱	۸٤/٥٥**	۱۸۸۲/۷٥**	٦۱۱۳/٦٤**	٤٤۰۱/۳۱**	۳۲۹٥/۷۸**	۰/۳۸٥۰**
اندازه بذر	۱	۸۳/٤۲**	۲۳۸/۸٦*	٦٥۳/۳٤**	۲۳۹/۷۲**	٤۹۰/۹۲**	۰/۰۳۸٤**
پرایمینگ	۳	۹۳/۷٤**	۲۷٥/۰۸**	۱۳۰/۹۹**	۱٦۳/۰۱**	۲۱۱/۷۸**	۰/۰۱۳۱**
BS×I	۱	٤٤/۱٦*	۲۱٤٦/٤۷**	٥۲۷۳/٥٥**	۳۳۰۰/۳٥**	۲٥۱٥/۰٥**	۰/۲۸٦۰**
SS×I	۱	٥۲/۲۷*	۲٥۳/٥۲*	۱۸۰/۷۹**	۷٦/٥٤**	۲۹۲/۹۲**	۰/۰۲۱٦**
P ×I	۳	٥٤/٦۸*	۱۸٤/۸۳**	٦۷/۹۲**	۱۰۹/۸۷**	۱٦۸/۷٤**	۰/۰۰٦٥**
SS×BS	۱	۱۰/۳٥^{ns}	٥/۰٤^{ns}	۰/۲٥^{ns}	٥/۸۸^{ns}	۳/٤۷^{ns}	۰/۰۰۰٦^{ns}
P ×BS	۳	٥/٤۲^{ns}	٥/۱٦^{ns}	۱/۹۲^{ns}	۱/٥۰^{ns}	۳/٥٦^{ns}	۰/۰۰۰٥^{ns}
P ×SS	۳	۲۰/٦٦^{ns}	۲/۸۱^{ns}	۲/۱۲^{ns}	٥/٤٤^{ns}	٦/۱۷^{ns}	۰/۰۰۰٤^{ns}
SS×BS×I	۱	۱٥/٦۳^{ns}	۳/۲٤^{ns}	۰/۲۹^{ns}	۳/۳۹^{ns}	۳/۰۲^{ns}	۰/۰۰۰٤^{ns}
P × SS×I	۳	۸/٤٤^{ns}	۳/٤۲^{ns}	۰/٤۸^{ns}	٤/٥٤^{ns}	۳/٤۳^{ns}	۰/۰۰۰٥^{ns}
P ×BS×I	۳	۱۲/۲۱^{ns}	۲/۰۱^{ns}	۱/۸۹^{ns}	٤/۷٦^{ns}	۲/۷۱^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}
P ×SS×BS	۳	۱٥/۱۹^{ns}	۳/٤۸^{ns}	۰/۱۳^{ns}	۱/۸۱^{ns}	۰/٤۰^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}
P ×SS×BS×I	۳	۲٥/٤۳^{ns}	۱/۸۸^{ns}	۱/٥۳^{ns}	۲/۲۸^{ns}	۰/٤٤^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}
خطا	٦٤	۱۰/٥٤	٥٦/۷۰	۱۲/٥۰	۱٦/۹۰	۱۰/٦۱	۰/۰۰۰۱۹
cv%	--	٦/٤	٦/۹	۸/٦	۹/۳	۱۰/۳	٥/۳

*، ** و ^{ns} به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

I: آبیاری، BS: توده بذر، SS: اندازه بذر و P: پرایمینگ

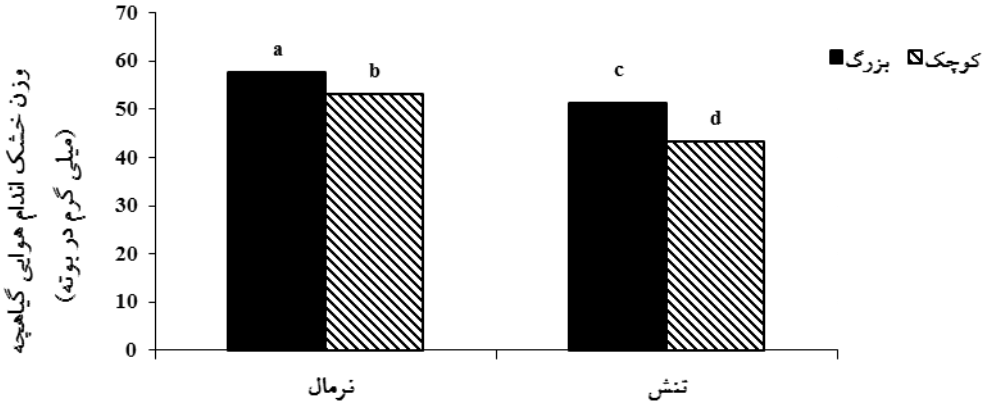


شکل ۱- اثر آبیاری نرمال و تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه دو توده اسپرس. ستون‌هایی با حروف یکسان بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون چند دامنه دانکن می باشند.

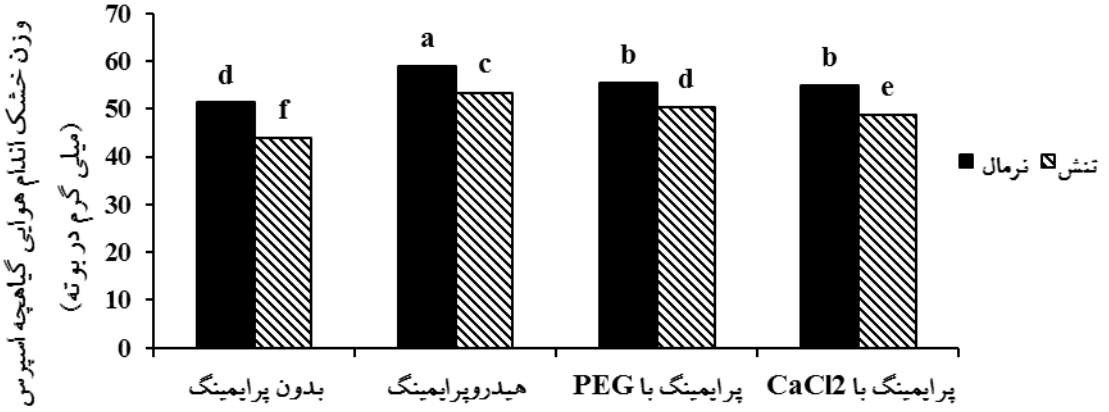
شرایط تنش بدست آمد، وزن خشک گیاهچه برای بذور بزرگ ۱۸/۵ درصد بیشتر از گیاهچه بذور کوچک در شرایط تنش بود

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- اثر آبیاری نرمال و تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه اسپرس حاصل از بذور بزرگ و کوچک. ستون‌هایی با حروف یکسان بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.



شکل ۳- اثر آبیاری نرمال و تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه اسپرس حاصل از تیمارهای مختلف پرایمینگ. ستون‌هایی با حروف یکسان بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.

(شکل ۲). در بین تیمارهای پرایمینگ، بیشترین ماده خشک از تیمار هیدروپرایمینگ در شرایط تنش خشکی بدست آمد که تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد با تیمار بدون پرایمینگ نشان داد. وزن خشک حاصل از تیمار هیدروپرایمینگ ۲۱/۸ درصد بیشتر از تیمار عدم پرایمینگ در شرایط تنش بود. دو تیمار پرایمینگ با $CaCl_2$ و PEG با هم تفاوت معنی‌داری را از نظر وزن خشک در شرایط نرمال نداشتند اما پرایمینگ با PEG در شرایط تنش خشکی برتر از تیمار $CaCl_2$ بود (شکل ۳).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (SOD، POX، APX و CAT) **و میزان پراکسید هیدروژن** (H_2O_2): در شرایط آبیاری نرمال دو توده اختلاف کمی را از نظر فعالیت آنزیم‌ها نشان دادند (جدول ۳)، اما در شرایط تنش تفاوت بین دو توده بیشتر بود و توده بروجن فعالیت آنزیمی بیشتری را نشان داد. در شرایط تنش، میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، POX، APX و CAT در توده بروجن به ترتیب ٦٢/٨، ٧٩/١٦،١٦/٧ و ٤٩/٣ درصد بیشتر از توده قزوین بود. در شرایط آبیاری نرمال و تنش اختلاف مقدار H_2O_2 در دو توده معنی‌دار بود (جدول ۳)، اما در شرایط تنش این اختلاف بیشتر بود. در شرایط تنش مقادیر H_2O_2 در توده بروجن ۳۵/۸ درصد کمتر در مقایسه با قزوین بود.

در شرایط آبیاری نرمال، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- اثر متقابل توده و شرایط آبیاری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت‌ها و پراکسید هیدروژن در اندام هوایی گیاهچه اسپرس.

آبیاری × توده بذر	سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	پراکسیداز (POX)	آسکوربات پراکسیداز (APX)	کاتالاز (CAT)	پراکسید هیدروژن (H_2O_2)
	واحد بر گرم وزن تر				میکرو مول در گرم وزن تر
نرمال- بروجن	۱۸/۰۱^{c*}	۹۶/۵۸^{c}	۲۸/۸٤ ^{c}	۲۵/۲۱^{c}	۰/۲۳۹^{d}
نرمال- قزوین	۱۵/۷۱^{d}	۹۷/۱۸^{c}	۲۷/۷۱ ^{c}	۲۳/۰۰^{d}	۰/۲۵٦^{c}
تنش- بروجن	٥٦/۹۳^{a}	۱۲۷/۹۱^{a}	٦۹/۱۲^{a}	۷٦/۵۱^{a}	۰/٤۲٤^{b}
تنش- قزوین	۳٤/۹۸^{b}	۱۰۹/۵۹^{b}	۳۸/٦۱^{b}	۵۱/۲۵^{b}	۰/٦٦۰^{a}

*در هر ستون حروف یکسان بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشند.

جدول ٤- اثر متقابل اندازه بذر و شرایط آبیاری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت‌ها و پراکسید هیدروژن در اندام هوایی گیاهچه‌ی اسپرس.

آبیاری×اندازه بذر	سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	پراکسیداز (POX)	آسکوربات پراکسیداز (APX)	کاتالاز (CAT)	پراکسید هیدروژن (H_2O_2)
	واحد بر گرم وزن تر				میکرو مول در گرم وزن تر
نرمال- بزرگ	۱۸/۳۷^{c*}	۹۷/٦۱^{c}	۲۹/۵۱ ^{c}	۲۵/۱۵^{c}	۰/۲٤۳^{d}
نرمال- کوچک	۱۵/۳٤^{d}	۹٦/۱۵^{c}	۲۷/۰٤ ^{d}	۲۳/۰٦^{d}	۰/۲۵۳^{c}
تنش- بزرگ	۵۰/۹٦^{a}	۱۲۰/۹۷^{a}	۵۷/۹۷^{a}	٦۷/٦۹^{a}	۰/۵۰۷^{b}
تنش- کوچک	٤۰/۹۵^{b}	۱۱٦/۵۳^{b}	۵۰/۰۱^{b}	٦۰/۰٦^{b}	۰/۵۷۷^{a}

*در هر ستون حروف یکسان بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشند.

در گیاهچه بذور بزرگ در مقایسه با بذور کوچک، بیشتر و عمدتا معنی‌دار بود (جدول ٤)، این اختلاف در شرایط تنش بیشتر بود. در شرایط تنش فعالیت آنزیم‌های SOD، POX، APX وCAT در گیاهچه بذور بزرگ در مقایسه با گیاهچه بذور کوچک به ترتیب ۲٤/٤، ۳/۸، ۱۵/۹ و ۱۲/۷ درصد بیشتر بود. در شرایط آبیاری نرمال و تنش اختلاف مقادیر H_2O_2 در گیاهچه دو اندازه بذر معنی‌دار بود (جدول ٤)، اما در شرایط تنش این اختلاف بیشتر بود. در شرایط تنش مقادیر H_2O_2 در در گیاهچه بذور بزرگ ۱۲/۲ درصد کمتر در مقایسه با گیاهچه بذور کوچک بود.

در شرایط آبیاری نرمال میزان فعالیت این آنزیم‌ها در تیمارهای پرایمینگ (هیدرو، PEG و $CaCl_2$) تقریبا مشابه بود و در مواردی با تیمار عدم پرایمینگ تفاوت معنی‌دار داشتند (جدول ۵). اما در شرایط تنش هر سه تیمار پرایمینگ در مقایسه با عدم پرایمینگ افزایش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهچه نشان دادند. این افزایش فعالیت برای تیمار هیدروپرایمینگ بیشتر از دو تیمار PEG و $CaCl_2$ بود. در شرایط تنش فعالیت آنزیم‌های SOD، POX ، APX وCAT در تیمار هیدروپرایمینگ در بخش هوایی به ترتیب ۳۳/۷، ۱۲/٦، ۱۹/٤ و ۱۹/۹ درصد بیشتر از عدم پرایمینگ بود. در شرایط آبیاری نرمال و تنش اختلاف مقادیر H_2O_2 در گیاهچه حاصل از تیمارهای پرایمینگ معنی‌دار بود (جدول ۳)، اما در شرایط تنش این اختلاف بیشتر بود. در شرایط تنش مقادیر H_2O_2 در در گیاهچه تیمار هیدرو پرایمینگ ۱٦/۳ درصد کمتر در مقایسه با گیاهچه تیمار عدم پرایمینگ بود.

بحث:

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی وزن خشک بخش هوایی گیاهچه اسپرس را کاهش داد (شکل۱، ۲ و ۳)، مشابه با این نتایج، برای ارقام شبدر برسیم در شرایط تنش رطوبتی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- اثر متقابل پرایمینگ و شرایط آبیاری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت‌ها و پراکسید هیدروژن در اندام هوایی گیاهچه‌ی اسپرس.

آبیاری × پرایمینگ	سوپراکسید دیسموتاز(SOD)	پراکسیداز (POX)	آسکوربات پراکسیداز(APX)	کاتالاز(CAT)	پراکسید هیدروژن (H_2O_2)
	واحد بر گرم وزن تر				میکرو مول در گرم وزن تر
نرمال- عدم پرایمینگ	۱۵/۷۷^{f*}	۹۵/۰۵^{e}	۲۷/۷۷ ^{e}	۲۳/۸۳^{e}	۰/۲۵۸^{e}
نرمال- هیدروپرایمینگ	۱۷/۹۵^{e}	۹۷/۳۰^{d}	۲۹/۲۵ ^{d}	۲٤/۹۸^{d}	۰/۲٤۰^{f}
نرمال-پرایمینگ با PEG	۱٦/۹۱^{e}	۹۷/۷٤^{d}	۲۷/۸۱^{de}	۲۳/۹۹^{de}	۰/۲٤۵^{f}
نرمال-پرایمینگبا $CaCL_2$	۱٦/۷۹^{ef}	۹۷/٤٤^{d}	۲۸/۲۹^{e}	۲۳/٦۲^{e}	۰/۲٤۸^{f}
تنش- عدم پرایمینگ	۳۹/۸۰^{d}	۱۱۲/۱٦^{c}	٤۹/۷۸^{c}	۵۷/۹٦^{c}	۰/۵۹۱^{a}
تنش- هیدروپرایمینگ	۵۳/۲۹^{a}	۱۲٦/۲٤^{a}	۵۹/٤۲^{a}	٦۹/٤۹^{a}	۰/٤۹۵^{d}
تنش- پرایمینگ با PEG	٤٤/۲٦^{c}	۱۱۷/۱۲^{b}	۵۳/۸٤^{b}	٦٤/۵۲^{b}	۰/۵٤۹^{b}
تنش-پرایمینگبا $CaCL_2$	٤٦/٤۷^{b}	۱۱۹/٤۹^{b}	۵۲/۹٤^{b}	٦۳/۵۵^{b}	۰/۵۳۲^{c}

***در هر ستون حروف یکسان بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشند.**

نیز کاهش بیوماس گزارش شده است (Iannucci *et al*., 2000). نتایج ارائه شده توسط Wang و همکاران (۲۰۰۹)، در مورد گیاهچه‌های یونجه در شرایط تنش شوری و خشکی نیز بیانگر کاهش رشد بخش هوایی گیاه می‌باشد. احتمالاً تنش خشکی با کاهش فراهمی آب برای گیاه میزان تورژسانس و در نتیجه توسعه سلولی و رشد گیاه را تحت تاثیر قرار داده است (Caramelo and Iusem, 2009). علاوه بر آن گزارش شده است که بسته شدن روزنه، کاهش جذب CO_2 و محدودیت فتوسنتز نیز موجت کاهش بیوماس گیاه می‌گردد (Iannucci *et al*., 2000; Shaho *et al*., 2008). نتایج تحقیقات برروی یونجه در شرایط تنش حشکی نشان داد که کاهش وزن ماده خشک به دلیل کاهش اندازه برگ و میانگره و کاهش در طول ساقه بوده است (Irigoyen *et al*., 1992).

وزن خشک اندام هوایی برای توده بروجن بیشتر از توده قزوین بود (شکل ۱). برتری وزن خشک در توده بروجن در مقایسه با قزوین در شرایط آبیاری نرمال و تنش می‌تواند به دلیل استقرار سریعتر گیاهچه‌های بروجن باشد. نتایج آزمایش های اولیه حاکی از آن بود که این توده، سرعت جوانه‌زنی و ظهور بیشتری را داشت (Noorbakhshian *et al*., 2011). ارقام مختلف یک گونه زراعی از نظر سرعت رشد ممکن است متفاوت باشند. این تفاوت می‌تواند دلیل ژنتیکی داشته باشد. تفاوت رشد برای ارقام مختلف یونجه در مرحله گیاهچه گزارش شده است (Wang *et al*., 2009). دلیل دیگر برتری توده بروجن شاید سازگاری این توده با منطقه باشد.

در این آزمایش گیاهچه‌های حاصل از بذور بزرگ در مقایسه با بذور کوچک، وزن خشک بیشتری را در شرایط نرمال و تنش داشتند (شکل ۲). بذور بزرگ در مقایسه با بذور کوچک، سرعت جوانه‌زنی و ظهور بیشتری را در آزمایش‌های قبل نشان دادند (Noorbakhshian *et al*., 2011b). گزارش شده که بذور بزرگ اسپرس ذخایر بیشتر و طول محور جنینی بیشتری را دارا هستند (Cooper, 1987). جوانه‌زنی سریع‌تر، استقرار سریع گیاهچه را به دنبال دارد، از طرفی گیاهچه حاصل از بذور بزرگ دارای برگ‌های لپه‌ای با سطح بیشتر خواهند بود که در فتوسنتز اولیه گیاهچه و رشد ریشه و برگ های بعد نقش موثری را دارند. لذا سبب رشد بیشتر و افزایش وزن گیاهچه در مقایسه با بذور کوچک خواهند شد (Cash and Detterline, 1996). ارتباط مثبت بین رشد گیاهچه با اندازه بذر برای تعدادی از لگوم ها از جمله عدس و نخود در ارتباط با اندازه بذر گزارش شده است (Al Karaki, 1998 و Singh *et al*., 2009).

www.SID.ir

Archive of SID

میزان وزن خشک اندام هوایی برای تیمار هیدروپرایمینگ بیشتر از دو تیمار دیگر پرایمینگ و تیمار عدم پرایمینگ بود (شکل ۳)، به نظر می‌رسد که تیمار هیدروپرایمینگ از طریق تسریع در جوانه‌زنی و رشد بهتر گیاهچه سبب بهبود رشد و وزن گیاهچه در شرایط نرمال و تنش گردیده باشد (Ashraf and Foolad, 2005). افزایش توان جوانه‌زنی بذر و رشد بعدی گیاهچه به واسطه پرایمینگ، مرتبط با ارتقا فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بذر می‌باشد. در زمان هیدروپرایمینگ فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی مرتبط با فاز I و II جوانه‌زنی در بذر وقوع می‌یابند و با خشک شدن بذر قابل برگشت نیستند. لذا بذر پرایمینگ شده در مقایسه با عدم پرایمینگ در زمان کوتاهتری وارد فاز III جوانه‌زنی یا خروج ریشه‌چه و مرحله بعدی رشد می‌گردد (Chen and Arrora, 2012).جوانه‌زنی و استقرار سریع سبب توسعه بهتر برگ‌های گیاهچه می‌گردد لذا گیاهچه از شرایط محیطی در جهت متابولیسم کربن بهره بهتری خواهد برد و منجر به تولید ماده خشک بیشتر در گیاهچه می‌شود. از این‌رو می‌توان عنوان داشت که بهبود وزنی گیاهچه تیمار هیدرو پرایمینگ مرتبط با افزایش کارایی بذر می‌باشد. ارتباط بین رشد بهتر گیاهچه با پرایمینگ توسط سایر محققان نیز مطرح شده است. طبق مطالعات Guan و همکاران (۲۰۰۹)، گیاهچه حاصل از بذور پرایمینگ شده ذرت، وزن خشک قسمت هوایی بیشتری را در مقایسه با بذور عدم پرایمینگ داشت. نتایج Farooq و همکاران (۲۰۰۸)، نیز بیانگر میزان وزن ماده خشک بیشتر در شرایط تنش برای گیاهچه ذرت به واسطه پرایمینگ با $CaCl_2$ می باشد. این محققین در گیاهچه‌های حاصل از بذور پرایمینگ شده فعالیت بیشتری از آنزیم آلفا آمیلاز و میزان قندهای محلول در شرایط تنش گزارش کردند. بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و وقوع فرآیندهای دیگر فیزیولوژیکی مثل بروز آکواپورین‌ها یا کانال-های آب غشا و حفظ سیالیت غشا از تغییراتی هستند که به واسطه پرایمینگ ایجاد شده و تحمل به تنش خشکی را ارتقاء می‌دهند (Chen and Arrora, 2012).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در قسمت هوایی اسپرس در شرایط تنش مقادیر بیشتری را در مقایسه با آبیاری نرمال داشتند (جدول ۳، ٤ و ٥). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها باعث سمیت‌زادیی و جلوگیری از اثرات بازدارنده و تخریب کنندگی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌گردد. در شرایط تنش، مانند تنش خشکی تولید گونه‌های اکسیژن فعال که عمدتا شامل سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) می‌باشند افزایش می‌یابند و سبب خسارت اکسیداتیو می‌شوند (Wang *et al*., 2009). در این تحقیق میزان پراکسید هیدروژن در شرایط تنش خشکی مقدار بیشتری را در مقایسه با شرایط نرمال داشت (جدول ۳، ٤ و ٥). نتایج سایر محققان در خصوص اثر تنش بر یونجه نیز حاکی از افزایش پراکسید هیدروژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در قسمت هوایی می‌باشد. بر اساس تحقیق Xio-shan and Jian-guo (۲۰۰۹)، در شرایط تنش فعالیت بیشتری برای آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت SOD، APX و POX در برگ گیاهچه یونجه گزارش شده است. همچنین فعالیت بیشتری از آنزیم‌های آنتی-اکسیدانتی SOD، POX، APX وCAT در شرایط تنش خشکی در قسمت هوایی گیاهچه یونجه توسط Wang و همکاران (۲۰۰۹)، گزارش شده است. خشکی مسیرهای پیام‌رسانی خاصی را در گیاه بر می‌انگیزد. خشکی سبب افزایش تولید ABA و H_2O_2 شده و این مولکول‌ها به عنوان سیگنال عمل کرده و مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با Ca و غیره را فعال می‌کنند که در نهایت موجب افزایش نسخه‌برداری و رونویسی ژن‌های SOD، APX و CAT می‌شود (Agarwal *et al*., 2005).

فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی در توده بروجن بیشتر از توده قزوین بود. همچنین میزان H_2O_2 برای این توده کمتر از توده قزوین بود (جدول ۳). این نتایج بیانگر آن است که توده بروجن تحمل بیشتری را در شرایط تنش خشکی نشان داده است. لذا به نظر می‌رسد در توده‌های مختلف این گیاه، تفاوت‌های فیزیولوژیک در تحمل به تنش وجود داشته باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

میزان H_2O_2 توده بروجن کمتر بود اما فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی این توده بیشتر بود. بنابراین معلوم می‌شود توده بروجن توان بیشتری برای خنثی‌سازی ROS ازجمله H_2O_2 را دارد و با فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت میزان H_2O_2 را بهتر کنترل کرده است. سایر مطالعات نیز بیانگر تفاوت این شاخص‌ها در ارقام مختلف گیاهان زراعی در شرایط تنش می باشد و عمدتا در ارقام متحمل به خشکی بهبود فعالیت سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گزارش شده است. این تفاوت‌ها برای ارقام یونجه و شبدر توسط Fougere و همکاران (۱۹۹۱)، Wang و همکاران (۲۰۰۹) و Iannucci و همکاران (۲۰۰۲) گزارش شده است.

در این پژوهش در هر دو توده در گیاهچه‌های حاصل از بذور بزرگ در مقایسه با بذور کوچک فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی بیشتر و میزان H_2O_2 کمتر بود (جدول ٤). بررسی بیوماس (ماده خشک) نشان داد که گیاهچه‌های حاصل از بذور بزرگ بیوماس بیشتری را داشتند. به نظر می‌رسد این الگوی تقویت رشد فیزیولوژیکی در سطح سلولی پاسخ‌های بیوشیمیایی را نیز تحت تاثیر قرار داده است، بطوریکه گیاهچه-های حاصل از این بذور توانایی بالقوه بیشتری برای تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در شرایط نرمال داشتند. همین آمادگی اولیه بالاتر به آن‌ها این امکان را داده تا در شرایط رویارویی با تنش خشکی قوی‌تر عمل کنند و سریع‌تر سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانت خود را افزایش دهند و بر ROS حاصل از تنش فائق آیند. در حقیقت ساخت و عملکرد آنزیم-های آنتی اکسیدانت هزینه صرف انرژی برای سلول دارد و بذور بزرگ با ایجاد توان اولیه بالاتر برای گیاهچه امکان تامین این هزینه انرژی برای پاسخ‌های مقاومتی در مراحل بعدی را فراهم کرده است و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نیز موجب پاکروبی ROS و از جمله کاهش سطح H_2O_2 شده است. نتایج تحقیقات Chiu و همکاران (۲۰۰٦)، بیانگر آن است که در بذور بزرگ گیاه گل پنج هزاری (*Purple coneflower*) مقادیر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بیشتری در بذور بزرگ در مقایسه با بذور ریز مشاهده شد. همچنین بذور بزرگ پراکسیداسیون چربی غشا کمتری در مقایسه با بذور کوچک داشتند. تحقیقات Jung (۲۰۰٤)، نیز بیانگر آن است که برگ‌های بالغ در مقایسه با برگ‌های جوان میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بیشتری را در گیاه آرابیدوپسیس نشان دادند.

در بین تیمارهای پرایمینگ، تیمار هیدروپرایمینگ برتری معنی‌داری را در مقایسه با عدم پرایمینگ برای افزایش آنزیم-های آنتی‌اکسیدانتی و کاهش میزان H_2O_2 را داشت، هرچند که تیمار پرایمینگ با PEG و $CaCl_2$ نیز تفاوت‌های معنی‌داری را با عدم پرایمینگ از نظر این شاخص‌ها نشان دادند (جدول ٥). دلیل برتری تیمارهای پرایمینگ از نظر این صفات در این پژوهش ممکن است از دو جهت باشد. ابتدا پرایمینگ بذر اسپرس سبب تسریع در جوانه‌زنی و سپس استقرار و رشد سریع‌تر گیاهچه گردید، آزمایشات اولیه بیانگر این موضوع می‌باشند (نوربخشیان و همکاران، ۲۰۱۱a). اثر دوم پرایمینگ می‌تواند بر بیان ژن‌های بروز دهنده آنزیم‌های آنتی اکسیدانت - باشد. افزایش بیان کمی ژن *APX* که در کد کردن آنزیم آسکوربات پراکسیداز نقش دارد در بذر پرایم شده کلزا گزارش شده است (Li *et al*., 2005)، همچنین تولید ایزوآنزیم های جدید کاتالاز در آرابیدوپسیس به واسطه پرایمینگ گزارش شده است (Gallardo *et al*., 2001).

نتایج سایر تحقیقات بیانگر بهبود رشد و فعالیت‌های آنزیم-های آنتی‌اکسیدانت‌ها و صفات بیوشیمیایی در گیاهچه حاصل از پرایمینگ می‌باشند. نتایج تحقیقات Azooz (۲۰۰۹)، بیانگر آن است که پرایمینگ بذر باقلا سبب بهبود وزن خشک، افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و کاهش MDA و نشت الکترولیتی در گیاهچه گردید. نتایج مشابه توسط خدابخش و همکاران (۲۰۱۲)، برای افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت در قسمت هوایی گیاه نخود به واسطه پرایمینگ گزارش شده است. همچنین عنوان شده است که گیاهچه حاصل از بذور پرایمینگ شده ذرت مقادیر بیشتری از آنزیم-های آنتی‌اکسیدانتی در قسمت هوایی گیاهچه در مقایسه با بذور بدون پرایمینگ داشتند (Guan *et al*., 2009). در

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعات Farooq و همکاران (۲۰۰۸)، میزان نشت الکترولیتی کمتری در گیاهچه حاصل از بذور پرایمینگ شده ذرت با $CaCl_2$ در مقایسه با تیمار عدم پرایمینگ گزارش شده است، کاهش نشت الکترولیتی را با افزایش آنتی‌اکسیدانت‌ها مرتبط دانسته‌اند. این محققین همچنین افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدانتی CAT، APX، SOD را در شرایط تنش به واسطه پرایمینگ گزارش کردند. در مقابل Chen and Arora (۲۰۱۱)، تاثیر معنی‌داری را بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاهچه اسفناج به واسطه پرایمینگ بذر را مشاهده نکردند.

اثرات متقابل آبیاری با توده بذر و آبیاری با اندازه بذر برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و میزان H_2O_2 در برگ گیاهچه اسپرس معنی‌دار بودند (جدول ۲). این نتایج بیانگر این موضوع است که اختلاف فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در توده بروجن و بذور بزرگ در مقایسه با توده قزوین و بذور کوچک در شرایط تنش بیشتر از شرایط آبیاری نرمال بود و میزان اختلاف H_2O_2 در توده قزوین و بذور کوچک در مقایسه با توده بروجن و بذور بزرگ در شرایط تنش بیشتر از شرایط آبیاری نرمال بود (جداول ۳و٤). از این نتایج می‌توان استنباط کرد که گیاهچه حاصل از توده بروجن و بذور بزرگ در تحمل به تنش خشکی از نظر شاخص‌های فیزیولوژیکی کارآیی بیشتری را داشته‌اند. از طرف دیگر توده بروجن و بذور بزرگ از نظر رشد (وزن خشک بخش هوایی) در شرایط تنش نیز برتر بودند (شکل ۱)، لذا می‌توان برداشت کرد که شاخص های بیوشیمیایی تحمل به خشکی می‌تواند تحت تاثیر بنیه رشد گیاهچه قرار گیرد. نتایج Al Karaki (۱۹۹۸)، نیز بیانگر رشد بیشتر برای گیاهچه حاصل از بذور بزرگ عدس در مقایسه با بذور کوچک در شرایط تنش خشکی می‌باشد. نتایج مشابه در خصوص تحمل بیشتر گیاهچه‌های حاصل از بذور با بنیه بیشتر ارزن مرواریدی و گیاه لگوم *Albizia procera* به تنش خشکی گزارش شده است (Manga and Yadav, 1995 و Khurana and Singh, 2000). تحمل بیشتر به تنش خشکی می‌تواند مرتبط با رشد بیشتر و توسعه سریع‌تر ریشه باشد.

اثرات متقابل آبیاری با پرایمینگ برای آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی و میزان H_2O_2 در گیاهچه اسپرس معنی‌دار بود (جدول۵). این نتایج بیانگر این موضوع است که اختلاف فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در گیاهچه بذور پرایمینگ شده در مقایسه با عدم پرایمینگ در شرایط تنش از شرایط آبیاری نرمال بیشتر بود و میزان اختلاف H_2O_2 در عدم پرایمینگ در مقایسه با بذور پرایمینگ شده در شرایط تنش خشکی بیشتر از شرایط آبیاری نرمال بود (جدول ۵). در بعضی از موارد در شرایط آبیاری نرمال تفاوت معنی‌داری از نظر این صفات بین تیمارهای پرایمینگ با عدم پرایمینگ مشاهده نشد. این موضوع می‌تواند به دلیل وجود شرایط نرمال و بدون تنش باشد که سبب فعالیت تقریبا یکسان آنتی اکسیدانت‌ها و میزان یکنواختی از H_2O_2 در گیاهچه تیمارهای مختلف گردید. در کل از این نتایج می‌توان استنباط کرد که تیمار پرایمینگ، در تحمل به تنش خشکی از نظر شاخص‌های فیزیولوژیکی کارآیی بیشتری را داشته است. پیرامون اثر فیزیولوژیکی پرایمینگ بر تحمل به تنش خشکی گزارش شده است که در طی پرایمینگ چندین فرآیند و مسیرهای متابولیکی سلولی شامل: افزایش تقسیم و طویل شدن سلولی، بروز پروتئین‌های واکنش دهنده به تنش (HSP و LEA)، حفظ سیالیت غشا، فعالیت H^+-ATPase، تغییرات رونوشت‌های DNA و پروتئوم-ها (الگوی پروتئین‌ها)، بروز آکواپورین‌ها یا کانال‌های آب و بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و ABA در سلول تغییر می‌کنند که اثرات این تغییرات تا مدت‌ها در حافظه سلول می‌ماند و همین امر به مواجهه بعدی سلول با تنش کمک می‌کند (Chen and Arora, 2011). اگرچه این موارد در این پژوهش بررسی نشده است اما نتایج کسب شده در این تحقیق در کلیات همسو با این بحث می‌باشد، زیرا پرایمینگ بذر اسپرس باعث بهبود رشد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در شرایط تنش خشکی شد. بروز این فرآیندها به واسطه پرایمینگ در واقع یک حافظه تنش در بذر و گیاهچه ایجاد می‌کند که در تحمل به تنش خشکی در زمان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه موثر واقع می‌شوند (Varier *et al.*, 2010).

پرایمینگ بذر اسپرس علاوه بر بروز اثرات مثبت بر فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بهبود رشد (ماده خشک) در شرایط تنش خشکی، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و رشد در شرایط نرمال نیز گردید (جدول ۳). دلیل برتری تیمارهای پرایمینگ در شرایط آبیاری نرمال می‌تواند ناشی از آبنوشی بذر در زمان پرایمینگ و بهبود وقایع فیزیولوژیکی به نفع جوانه‌زنی و استقرار سریعتر گیاهچه باشد (Bailly *et al*., 2008).

نتیجه‌گیری:

بطور کلی نتایج حاصل از این آزمایش بیانگر بهبود رشد گیاهچه اسپرس و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در شرایط تنش خشکی به واسطه انتخاب بذور توده بروجن، بذور بزرگ و تیمار هیدروپرایمینگ بود. بالا بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در اندام هوایی گیاهچه بر کاهش مقادیر پراکسید هیدروژن موثر بود. به نظر می‌رسد گیاهچه‌هایی با رشد بهتر تحمل بیشتری را به خشکی نشان دهند، این موضوع می‌تواند ناشی از دسترس بودن منابع انرژی بیشتر (کربن و نیتروژن) جهت فرآیندهای فیزیولوژیکی تحمل به خشکی از جمله بیان و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باشد. لذا می‌توان جهت کاهش خسارت تنش خشکی در مرحله گیاهچه و بهبود رشد بعدی این گیاه از تیمارهای برتر این آزمایش بهره برد.

منابع:

رامک، پ.، ر. خاوری نژاد.، ح. حیدری شریف آباد.، م.رفیعی و ک. خادمی.(۱۳۸۵). تاثیر تنش آب بر میزان ماده خشک و رنگیزه های فتوسنتزی در دو گونه اسپرس. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ١٤: ۸۰ -۹۱.

نصیرزاده، ع.ر.، م. خرم شکوه و ح. حیدری شریف آباد. (۱۳۸۳). مطالعه اثرات فیزیولوژیکی تنش کم آبی(خشکی) بر رشد رویشی شش گونه اسپرس. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۲: ۳٦٥ -۳۷٦.

Agarwal, S., Sairam, C. C., Sirvastava, T. A and Meena. R. C. (2005) Role of ABA, salysilic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedling. Plant Science 169: 559-570.

Al-Karaki G. N. (1998) Seed size and water potential effects on water uptake, germination and growth of lentil. Journal Agronomy and Crop Science 181: 237-242.

Amooaghaie, R. (2011)The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. African Journal of Biotechnology 10: 6269-6275.

Ashraf, M and Foolad, M. R, (2005) Pre-sowing seed treatment- a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non saline conditions. Advances in Agronomy 88: 223-271.

Ashrafi, E and Razmjoo, K. (2010) Effects of priming on seed germination and field emergence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Seed Science and Technology 8: 675-681.

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.

Bailly, C., El- Maarouf- Bouteau and Corbineau,F. (2008). From intracelluar signaling to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. Comptes Rendus Biologies331: 806-814.

Basra, S. M. A., Farooq, M., Tabassum, R. and Ahmed, N. (2005) Physiological and biochemical aspects of seed vigor enhancement treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Science and Technology 33: 623–628.

Cash, S. D and Ditterline, R. L. (1996) Seed size effects on growth and N_2 fixation of juvenile sainfoin. Field Crops Research 46: 145-151.

Caramelo, J. J. and Iusem, N. D. (2009) When cells lose water: Lessons from biophysics and molecular biology. Progress in Biophysics and Molecular Biology 99:1–6

Chen, K and Arora, R. (2011) Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*). Plant Science 180: 212–220.

Chen, K and Arrora, R. (2012*)* Priming- memory invokes seed stress- tolerance. Environmental and Experimental Botany.In press.

Chiu, K. Y., Chuang, S. J and Sung, J. M. (2006) Both anti-oxidant and lipid carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of *Echinacea purpurea* seeds that differ in size. Scientica Horticulture.108:220-226.

Cooper, S. C. (1978) Growth of the legume seedling. Advances in Agronomy 29:119-139

Eyidogan. F and Oz, M. T. (2007) Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. Act Physiol Plant. 29:485-493.

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S. M. A., Cheema, M.A and Rehman, H. (2008) Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. Journal of Agronomy and Crop Science 194:161-168.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, D., Fujita, D and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: Effects,

www.SID.ir

Archive of SID

Mauromicale. G and Cavallaro, V. (1996) Effects of seed osmopriming on germination of three herbage grasses at low temperatures. Seed Science and Technology 24: 331-338.

Mukhherjee, S. P., Choudhuri, M. A. (1983)Implications of water stress- induced changes in the level of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in vigna seedlings. Physiolgy Plantarum 58:166-170.

Noorbakhshian, S. J., Nabipour, M., Meskarbashee, M and Amooaghaie, R. (2011a). Evaluation of germination and biochemical indexes of sainfoin hydroprimed seed. American Eurasian Journal of Agriculture and Environment. 11:671-678.

Noorbakhshian, S. J., Nabipour, M., Meskarbashee, M and Amooaghaie, R. (2011b) Optimization of hydro and osmo priming in different seed size of sainfoin. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 11:1236-1244.

Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M and Turkan, I. (2009) Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. Environmental and Experimental Botany 66:487–492.

Peterson P. R., Sheaffer, C. C and Hall, M. H. (1992) Drought effects on perennial forage legume yield and quality. Agronomy Journal. 84:774-779.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Abdul Jaleel., C and Zhao C. X. (2008) Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. Comptes Rendus Biologies 331: 215–225.

Singh, N. I., Ali, S., Chauhan, J. S. (2009) Effect of seed size on quality within seed lot of pea and correlation of standard germination, vigor with field emergence test. Nature and Science 7: 72-78.

Varier, A., Kuriakose Vari, A. K and Dadlani, M. (2010) The subcellular basis of seed priming. Current Science 99: 450-456.

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

Xiao-shan. W and Jian-Guo, H. (2009) Changes of proline content, activity and active isoforms of antioxidant enzymes in two alfalfa cultivar under salt stress. Agricultural Sciences in China 8:431-440.

Yang, X. H., Wang, Y. G., Y, W. X., Wang, H. F and Ma, J. H. (2009) Effect of seed priming on physiological characteristics of soybean seedling under water stress. Chinese Journal of Eco-Agriculture 17:1191-1195

Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, X. J and Knapp, A. (2007) Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. Australian Journal of Agricultural Research 58: 811-815.

mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development.29:185-212.

Fougere, F., Le-Rudulier, D and Streeter, J. G. (1991) Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Physiology 96: 1228–1236.

Gallardo, K., Job, C., Groot, S. P. C., Puype, M., Demol, H., Vandekerekhove, J and Job, D. (2001)Proteomic analysis of *Arabidopsis* seed germination and priming. Plant Physiology 126:835- 848.

Guan, Y. J., Hu. J., Wang, X. J and Shao, C. X. (2009) Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth relation to physiological changes under low temperature stress. Journal of Zhejiang University Science B 10:427-433.

Hardegree, S. P. (1994) Matric priming increases germination rate of Great Basin native Perennial grasses. Agronomy Journal 89:298-293.

Hu, J ., Xie, X. J., Wang, Z. F and Song, W. J. (2006.) Sand priming improves alfalfa germination under high-salt concentration stress. Seed Science and Technology 34:199-204.

Iannucci, A., Russo, M., Arena, D., Fonzo, N., and Martiniello, P. (2002) Water deficit on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. Plant and Soil 16: 111-122.

Iannucci, A., Rascio, A., Russo, M., Fonzoand, N. Di and Martiniello P. (2000) Physiological responses to water stress following a conditioning period in berseem clover. Plant and Soil 223: 217–227,

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. Physiolgia Plantarum 84:55-60.

Jung, S. (2004) Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. Plant Science 166: 459-466.

Khodabakhsh, F., Amooaghaee, R., Mostajeran, A. and Amtyazi ,G. (2012) Effect of hydro and osmopriming on membrane deterioration, proline accumulation and H_2O_2 scavenging enzymes in salt stress of chickpea. Environment Engineering and Management Journal. In Press.

Khurana, E and Singh, J. S. (2000) Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. Annals of Botany 86: 1185-1192.

Li. W., Mc Donald, M.B., Benneh, M.A and Kwong, F. Y (2005) Hydropriming of differing sized impatiens "Expo wine" seeds. Seed Science and Technology 33: 639-646.

Li, F., Wu, X., Tsang, E and Cutler, A.mJ. (2005)Transcriptional profiling of imbibed Brassica napus seed. Genomics 86, 718-730.

Manga, V. K and Yadav, O. P. (1995) Effect of seed size on developmental traits and ability to tolerate drought in pearl millet. Journal of Arid Environments.29:169-172.

www.SID.ir