اثر پرایمینگ بذر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی مؤثر بر جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) تحت تنش سرما

الهام یوسفی تنها[1]، سیف‌اله فلاح[2*] و علی تدین[2]

[1]دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم وتکنولوژی بذر، دانشگاه شهرکرد و [2]گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۰۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۲/۲۵)

چکیده:

به منظور بررسی اثر پرایمینگ بذر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی مؤثر بر جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) تحت تنش سرما، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل انواع تیمارهای پرایمینگ (هیدروپرایمینگ، هالوپرایمینگ، اسموپرایمینگ و عدم پرایمینگ) و پنج سطح دما (۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) بودند. نتایج نشان داد که تنش سرما باعث کاهش خطی سرعت جوانه‌زنی تحت تیمارهای هیدروپرایمینگ، هالوپرایمینگ و اسموپرایمینگ شد. بیشترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار هیدروپرایمینگ بود. تیمار هیدروپرایمینگ همچنین از کاهش درصد جوانه‌زنی در دمای سه درجه سانتی‌گراد جلوگیری کرده و با تیمار هالوپرایمینگ فاقد اختلاف معنی‌داری بود. بیشترین شاخص بنیه بذر تحت تیمار هالوپرایمینگ مشاهده شد. با کاهش دما مقدار پرولین و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز تحت کلیه‌ی تیمارهای پرایمینگ افزایش یافت. پرایمینگ با پلی‌اتیلن‌گلایکول نه تنها بر جوانه‌زنی بذور گیاه نخودفرنگی تحت تنش سرما مؤثر نبود بلکه در برخی دماها باعث کاهش پارامترهای جوانه‌زنی بذور این گیاه گردید. به‌طورکلی نتیجه‌گیری شد تیمارهای هیدروپرایمینگ و هالوپرایمینگ باعث بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی و در نهایت بهبود سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور نخودفرنگی در دمای پایین شدند که امکان استقرار و رشد بهتر این گیاه تحت شرایط تنش سرما را فراهم می‌نماید. این امر می‌تواند در افزایش پتانسیل تناوبی این گیاه به عنوان کود سبز در مناطق معتدل و سرد کشور مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: اسموپرایمینگ، بنیه بذر، پرولین، دمای پایین، نیترات پتاسیم، هیدروپرایمینگ

مقدمه:

اغلب خاک‌های کشاورزی به دلیل ناپایداری شکل‌های معدنی نیتروژن، از نظر میزان نیتروژن فقیر هستند. علاوه بر این هنگام آبیاری و یا بارندگی، عمده نیترات خاک‌ها، به ویژه در خاک‌های شنی، شسته شده و همچنین ظرفیت نگهداری آمونیوم در چنین خاک‌هایی محدود می‌باشد. بنابراین، عدم جایگزینی کافی نیتروژن برداشت شده توسط گیاهان، منجر به کاهش فراهمی نیتروژن در خاک و افزایش نیاز به کود نیتروژن می‌گردد (عبدی و همکاران، ۱۳۹۱). از طرفی، تأثیرات نامطلوب کودها و آفت‌کش‌ها بر محیط زیست منجر به توجه و استفاده بیشتر از روش‌هایی گردیده که در آن نیازی به مصرف مواد شیمیایی نباشد و یا حداقل، مصرف این مواد را کاهش دهد (FAO, 2004). یکی از راهکارهای عملی برای رسیدن به این هدف، کشت گیاهانی است که به عنوان کود سبز می‌توانند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی محسوب شده (عبدی و همکاران، ۱۳۹۱) و در تحقق کشاورزی پایدار نیز مؤثر

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: falah1357@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

باشند.

استفاده از گیاهان به‌عنوان کود سبز در تناوب زراعی باعث افزایش کربن و ماده آلی، نیتروژن کل و حاصلخیزی خاک شده که این پدیده از طریق بهبود و یا حفظ فرآیندهای میکروبی در خاک منجر به آزادسازی تدریجی عناصر غذایی برای گیاهان نیز می‌شود (Talgre *et al.*, 2009). Matos و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که با استفاده از کودهای سبز لگوم، میزان عناصر غذایی خاک و نیتروژن معدنی افزایش یافته است. در این ارتباط گیاه نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) به دلیل تولید مقادیر زیاد ماده خشک و نیتروژن که برای محصول بعدی قابل دسترس است، به‌عنوان گیاه پوششی و کود سبز حائز اهمیت می‌باشد. گیاهان کود سبز علاوه بر افزایش حاصلخیزی خاک می‌توانند نقش گیاه پوششی نیز داشته باشند که در این شرایط موجب کاهش فرسایش خاک (Komi *et al.*, 2013)، کاهش رواناب و نفوذ بیشتر آب به خاک، افزایش نفوذ هوا، تعدیل دمای خاک (Steenwerth and Belina, 2008)، بهبود ماده‌ی آلی خاک (Kruidhof *et al.*, 2008) و به دنبال آن تشدید فعالیت جمعیت‌های میکروبی موجود در ریزوسفر (Steenwerth and Belina, 2008)، بهبود کیفیت و ساختمان خاک (Kruidhof *et al.*, 2008) و کاهش آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی می‌شوند (Komi *et al.*, 2013). این گیاهان همچنین به دلیل استقرار سریع‌تر و تراکم بالا در هنگام کشت دارای قدرت رقابتی بالایی با علف‌های هرز زمستانه و پاییزه هستند (Madye, 2007) و قرارگیری این گیاهان در تناوب با غلات پاییزه (گندم و جو) علاوه بر افزایش باروری خاک، مشکل بیماری‌ها و آفات را نیز کاهش می‌دهد (Bellido *et al.*, 2005).

به دلیل محدودیت منابع آب در اکثر مناطق کشور لازم است کشت گیاهان کود سبز پاییزه (زمستانه) به‌گونه‌ای انجام شود که از نزولات آسمانی استفاده بهینه کنند، این در حالی است که در اکثر سال‌ها بارش‌های پاییزه با تأخیر همراه است و این امر می‌تواند جوانه‌زنی و استقرار گیاهان کود سبز را مناطق معتدله در معرض تنش سرما قرار دهد. تنش سرما شامل خسارت سرمازدگی (بین صفر تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد) و خسارت یخ‌زدگی (کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده مؤثر بر رشد و عملکرد گیاه است (Thakur *et al.*, 2010)، به‌طوری که در مناطق معتدله وقوع تنش سرما در زمستان، در اغلب مواقع سبب بروز خسارت‌های شدید در گیاهان می‌شود. تأثیر دمای پایین طی جوانه‌زنی می‌تواند سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و اختلال در خروج ریشه‌چه بذر در گونه‌های مختلف و ارقام زراعی گردد (Patade *et al.*, 2011). تنش سرما علاوه بر کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و استقرار نامناسب گیاهچه‌ها موجب افزایش گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد که پاسخ عمومی به اکثر تنش‌ها تنظیم میزان ROSها می‌باشد (Yu and Rengel, 1999). گیاهان مکانیزم‌های حفاظتی مختلفی را برای دفع یا کاهش ROSها دارند که در سطوح مختلف تنش مؤثر است. سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان یکی از این مکانیزم‌های حفاظتی است. گیاهانی که سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان‌ها را دارند، مقاومت بیشتری به آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند (Yong *et al.*, 2008). دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند که باعث شکسته شدن آب اکسیژنه به آب و مولکول اکسیژن می‌گردند (Yong *et al.*, 2008). بنابراین استفاده از تکنیکی که بتواند در شرایط تنش سرما به جوانه‌زنی مطلوب و استقرار مناسب بذر گیاه نخودفرنگی کمک نماید می‌تواند در توسعه کشت این قبیل گیاهان و در نتیجه تقویت مواد آلی خاک مؤثر باشد.

یکی از عوامل مهم در رسیدن به عملکرد بالقوه در گیاهان زراعی، جوانه‌زنی سریع و یکنواخت در مزرعه است (Subedi and Ma, 2005). با افزایش سرعت جوانه‌زنی و تسریع در استقرار بذر در مزرعه، گیاهچه قادر به جذب سریعتر آب و عناصر غذایی می‌شود و هم‌چنین می‌تواند از نور خورشید بهره بیشتری ببرد و در مورد محصولاتی که در پاییز کشت می‌شوند، باعث رسیدن به درجه‌ای از تحمل به سرما قبل از وقوع یخبندان می‌شود (Finch-Savage *et al.*, 2004).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

در این ارتباط پرایمینگ بذر، به‌عنوان یک روش معمول به‌منظور افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی در مزرعه، افزایش بنیه بذر و ظهور گیاهان مقاوم، در بسیاری از گیاهان زراعی مهم، مورد استفاده قرار گرفته است (Ashraf and Foolad, 2005). پرایمینگ به تیمارهای خاصی گفته می‌شود که برای افزایش درصد و یکنواختی جوانه‌زنی بذر و بهبود رشد گیاهچه‌ها و شاخص‌های بنیه بذر در برابر تنش‌های محیطی به‌کار گرفته می‌شود (Ansari and Sharif zadeh, 2012) و شامل فرایندی است که طی آن تا اندازه‌ای به بذر اجازه جذب آب داده می شود که فعالیت‌های فیزیولوژیکی جوانه‌زنی شروع شود ولی خروج ریشه‌چه رخ ندهد (اکرم قادری و همکاران، ۱۳۸۷).

مطالعات زیادی درباره‌ی اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پرایمینگ روی بذور مختلف از جمله یونجه معمولی (*Medicago sativa*)، لوبیا چشم بلبلی (*Vigna radiata* L.)، نخود (*Cicer arietinum*) و عدس (*Lens culinaris*) انجام شده و نشان داده است که تیمار پرایمینگ قادر به بهبود فرآیند جوانه‌زنی و ایجاد مقاومت تحت شرایط تنش سرما است (Posmyk and Janas, 2007).

از آنجا که نخود فرنگی از گیاهان کود سبز ارزشمند است، کشت آن در تناوب با غلات علاوه بر تنوع می‌تواند در تثبیت زیستی نیتروژن و در نتیجه کاهش مصرف کودهای شیمیایی مؤثر باشد. با توجه به اولویت آبیاری غلات در پاییز و همچنین محدودیت منابع آب قابل دسترس، در مناطق سرد کشور که دارای بارندگی مناسب هستند، کشت گیاهان کود سبز به‌صورت دیم توجیه پذیر است. این در حالی است که تأخیر در شروع بارندگی‌های پاییزه مراحل جوانه‌زنی و سبز شدن این قبیل گیاهان را با تنش دمای پایین مواجه می‌نماید. بنابراین این مطالعه با هدف، بررسی اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر نخودفرنگی جهت کشت تحت شرایط تنش سرما اجرا گردید.

مواد و روش‌ها:

آزمایش در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۲ انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار اجرا گردید. تیمارهای مختلف پرایمینگ (هیدروپرایمینگ، هالوپرایمینگ، اسموپرایمینگ و شاهد (عدم پرایمینگ)) به عنوان فاکتور اول و دماهای مختلف (۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) به عنوان فاکتور دوم مورد بررسی قرار گرفتند. تیمار هیدروپرایمینگ با آب مقطر، هالوپرایمینگ با نیترات پتاسیم و اسمو پرایمینگ با پلی‌اتیلن‌گلایکول ٦۰۰۰ (Poly Ethylene Glycol 6000) اعمال شد. بذر گیاه نخودفرنگی از توده بذرهای منطقه شهرکرد تهیه گردید. قبل از شروع آزمایش اصلی، یک آزمایش اولیه به منظور تعیین بهترین غلظت محلول و مدت زمان پرایمینگ بذر انجام شد که بر اساس این آزمایش، هیدروپرایمینگ به مدت ۱۲ ساعت، هالوپرایمینگ با غلظت ۰/۳ مگاپاسکال به مدت ۱۲ ساعت و اسموپرایمینگ با غلظت ۱/۱ مگاپاسکال به مدت ۲٤ ساعت تعیین گردید. برای تهیه پتانسیل‌های مورد نظر، مقادیر PEG_{6000} با استفاده از معادله Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) و نیترات پتاسیم با استفاده از معادله وانت هف محاسبه شد (Siebert and Richardson, 2002).

محلول‌های مورد نظر در آب مقطر تهیه شدند. به منظور پرایمینگ، بذور را پس از ضدعفونی در پتری دیش‌های ۹ سانتی‌متری ریخته و به هر پتری دیش ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های مورد نظر تهیه شده، اضافه شد و در نهایت پتری دیش‌ها در شرایط تاریکی و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (اکرم قادری و همکاران، ۱۳۸۷) در ژرمیناتور (مدل JAL TEB LAB EQUIPMEAT JG 500 ml) قرار گرفتند.

پس از سپری شدن زمان‌های مورد نظر پرایمینگ، بذور پرایم شده را چندین مرتبه با آب مقطر شست و شو داده به گونه‌ای که مواد موجود در سطح بذور کاملاً شسته شوند و برای خشک کردن، بذور نخودفرنگی به مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفتند. پس از خشک نمودن بذور، ۵۰ عدد بذر پرایم شده در پتری دیش‌های ۹ سانتی‌متری روی دو لایه کاغذ صافی واتمن کشت شد و به هر پتری دیش ۱۵

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و جهت جلوگیری از تبخیر آب موجود در پتری دیش‌ها، دور هر پتری دیش چند لایه پارافیلم کشیده شد (به‌علت درشت بودن بذر نخودفرنگی برای هر تیمار ٥٠ عدد بذر در ٢ پتری‌دیش کشت گردید). در نهایت پتری دیش‌ها به ژرميناتور انتقال داده شدند و به‌مدت ٨ روز در دماهای ١٥، ١٢، ٩، ٦ و ٣ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی نگهداری شدند (ISTA, 2009). جوانه‌زنی هر ٢٤ ساعت بر مبنای خروج ریشه‌چه به اندازه ٢ میلی‌متر ثبت گردید (ISTA, 2009). در طول اجرای آزمایش بر حسب نیاز ٥-٣ میلی‌لیتر آب مقطر به هر پتری دیش اضافه شد. پس از ٨ روز ابتدا پارامترهای سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی در هر دما به‌صورت جداگانه با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (Ikic *et al.*, 2012 ؛ Karta and Bekele, 2012):

$$GR = \Sigma (Gt / Dt) \qquad (١)$$

GR= شاخص یا سرعت جوانه‌زنی، Gt= تعداد بذور جوانه‌زده در روز t ام، Dt= زمان پس از کاشت مرتبط با Gt بر حسب روز

$$GP = (\text{تعداد بذور جوانه‌زده} / \text{کل بذور}) \times ١٠٠ \qquad (٢)$$

شاخص بنیه بذر از رابطه زیر محاسبه شد (Karta and Bekele, 2012):

$$VI = SG (\%) \times SDW (mg) \qquad (٣)$$

VI= شاخص بنیه بذر، SG= درصد جوانه‌زنی استاندارد، SDW= وزن خشک گیاهچه (mg)

در نهایت از هر پتری دیش مقدار ٠/٥ گرم گیاهچه وزن شد و مقدار پرولین، مقدار پروتئین محلول و میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و کاتالاز در چهار سطح دمایی ٣، ٦، ٩ و ١٢ درجه سانتی گراد اندازه‌گیری شد.

پرولین: مقدار پرولین به روش Bates (١٩٧٣) اندازه‌گیری شد. بدین منظور به عصاره گیاهی سانتریفیوژ شده مقدار ٢ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و ٢ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد و به‌خوبی مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت ١ ساعت حرارت داده شدند و درون حمام یخ قرار گرفتند. در نهایت مقدار ٤ میلی‌لیتر تولوئن به محلول‌های حاصله اضافه نموده و به مدت ٢٠ ثانیه ورتکس شدند. در نهایت میزان جذب نور در طول موج ٥٢٠ نانومتر قرائت گردید.

پروتئین محلول: جهت اندازه‌گیری مقدار پروتئین محلول به روش Bradford (1976)، ٥٠ میکرولیتر از عصاره گیاهی مورد نظر به ٣ میلی‌لیتر محلول برادفورد اضافه گردید و پس از اختلاط کامل، بلافاصله میزان جذب نور در طول موج ٥٩٥ نانومتر قرائت شد.

آنزیم گایاکول پراکسیداز: برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش Mac Adam و همکاران (١٩٩٢) پس از افزودن ٥٠ میکرولیتر عصاره گیاهی به محلول حاوی بافر فسفات، گایاکول و پراکسید هیدروژن میزان جذب نور در طول موج ٤٧٠ نانومتر قرائت گردید.

آنزیم کاتالاز: به منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Abei (١٩٨٤) نیز پس از افزودن ٥٠ میکرولیتر عصاره‌ی گیاهی به محلول حاوی بافر فسفات، آب مقطر و آب اکسیژنه میزان جذب نور در طول موج ٢٤٠ نانومتر قرائت گردید. در پایان آزمایش، داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به وسیله نرم افزار SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. همچنین تجزیه و تحلیل رگرسیونی برای میانگین‌های معنی‌دار حاصل از تجزیه واریانس انجام شد و برای میانگین‌هایی که تجزیه رگرسیونی آن‌ها معنی‌دار نشد مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ٥ درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر بر سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر دما نیز بر کلیه‌ی پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل پرایمینگ بذر با دما نیز برای کلیه‌ی صفات بررسی شده در سطح احتمال ٥ درصد معنی‌دار بود (جدول ١).

سرعت جوانه‌زنی: نتایج تجزیه و تحلیل رگرسیونی نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر گیاه نخودفرنگی تحت تنش سرما

		میانگین مربعات		
منابعتغییرات	درجه آزادی	سرعت جوانه‌زنی	درصدجوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر
نوع پرایمینگ	۳	۱۱۰۹/۳**	۸/۸۵ns	۹۲٦٤٦**
دما	٤	۱۲۲۹/۲**	۸۹/٦۷**	٦٤۸۸۷۵۷**
نوع پرایمینگ × دما	۱۲	۲۱/۸**	۷/٦٤*	٦٦۳۸۷**
خطای آزمایشی	٦۰	۲/٤۵	۳/٦۸	۱٦۵۵۲
ضریب تغییرات (٪)		٦/۲	۱/۹	۱۱/۰۸

ns،*و**به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- نتایج تجزیه رگرسیونی اثر تنش سرما بر سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر گیاه نخودفرنگی تحت تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر.

شاخص	هیدروپرایم		هالوپرایم		اسموپرایم		شاهد	
	خطی	درجه دو	خطی	درجه دو	خطی	درجه دو	خطی	درجه دو
سرعت جوانه‌زنی	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۲۷٦	<۰/۰۰۰۱	۰/٦۳٤٦	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۸۵۰	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
درصد جوانه‌زنی	۰/۱۹۹۲*	۱	۰/۷۱۱۳	۰/۷۸۲٤	۰/۸۲٤٦	۰/۸٦۸۷	۰/۸۹۸۳	۰/۷۷۵۳
شاخص بنیه بذر	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۹٦	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰٤۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

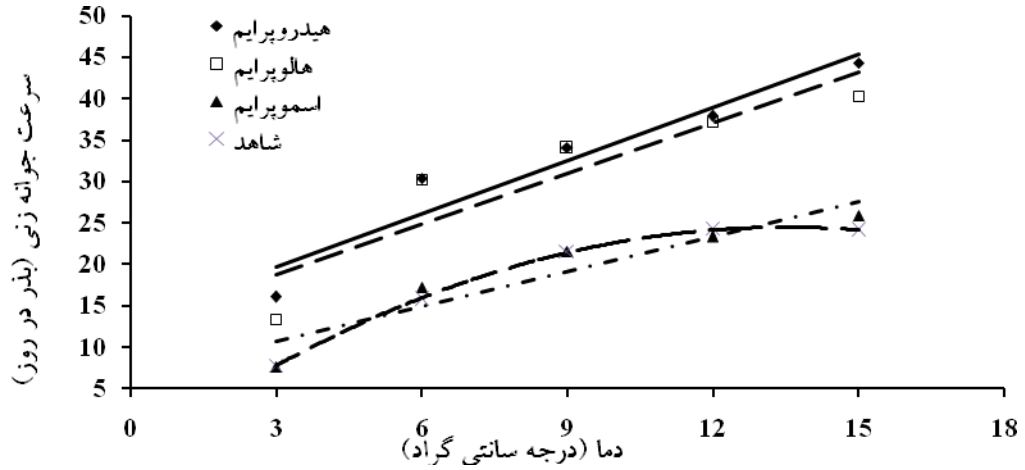
***مقادیر جدول بیانگر سطح احتمال است**

داد که برای صفات سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر برخلاف درصد جوانه‌زنی تیمارهای مختلف پرایمینگ در دماهای متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌داری بودند (جدول ۲). در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد تیمار هیدروپرایمینگ دارای بیشترین سرعت جوانه‌زنی بود که باعث افزایش ۸۳/٦ درصدی سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد گردید. با کاهش دما میزان این پارامتر در تیمارهای هیدروپرایمینگ و هالوپرایمینگ به‌صورت خطی و با شیب نسبتاً تندی کاهش یافت. در دماهای ٦ ، ۹ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد روند تغییرات در تیمارهای هیدروپرایمینگ و هالوپرایمینگ مشابه بود و به یک میزان سرعت جوانه‌زنی را نسبت به شاهد افزایش دادند. اما با کاهش دما به ۳ درجه سانتی‌گراد تیمار هیدروپرایمینگ همانند دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در سطح بالاتری نسبت به سایر تیمارها قرار گرفت و باعث افزایش ۱۰۵/٤ درصدی سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد گردید. در تیمارهای اسموپرایمینگ و شاهد میزان تغییرات مشابه بود با این تفاوت که در تیمار شاهد با کاهش دما سرعت جوانه‌زنی به‌صورت یک منحنی درجه دو محدب تغییر یافت اما در تیمار اسموپرایمینگ کاهش دما باعث کاهش خطی سرعت جوانه‌زنی شد (شکل ۱).

افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور هیدروپرایم شده می‌تواند به‌علت جذب سریع‌تر آب و شروع زودتر فعالیت‌های متابولیسمی در هنگام جذب آب مانند همانند سازی DNA (Jaap *et al.*, 1996)، تحریک فعالیت RNA و در نتیجه پروتئین‌سازی (Davison *et al.*, 1991)، ترمیم غشای سلولی و افزایش غلظت هورمون‌های محرک جوانه‌زنی از جمله اتیلن (Chojnowski, and Come, 1997) باشد که مجموعه این عوامل مقدمات جوانه‌زنی را فراهم می‌آورند و باعث می‌شوند زمانی که این بذور تیمار شده تحت شرایط دمای پایین قرار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

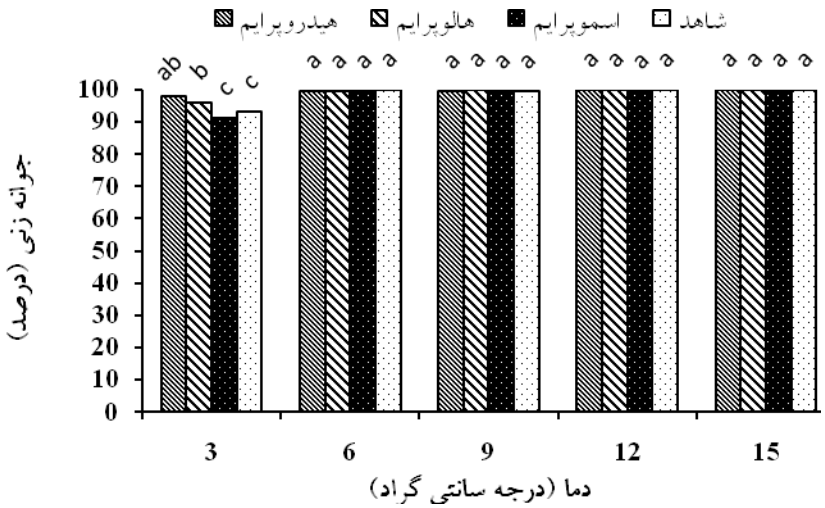


شکل ١- پاسخ سرعت جوانه‌زنی بذور پرایم شده نخودفرنگی به تنش سرما

می‌گیرند قبل از آسیب دیدن غشاء و نشت الکترولیت‌ها در مقایسه با شاهد جوانه بزنند و استقرار یابند.. این در حالی است که جذب آب در تیمار اسموپرایمینگ در نتیجه افزایش پتانسیل اسمزی آهسته‌تر بوده و با افزایش مدت زمان آبنوشی سرعت فرآیندهای متابولیکی درگیر در جوانه‌زنی با سرعت آهسته‌تری پیش رفته که این امر باعث می‌شود میزان گرمای کمتری در محیط جوانه‌زنی آزاد شود و نتواند اثرات نامطلوب دماهای پایین را بر سیالیت غشاهای میتوکندری و فعالیت آنزیمی این اندامک کاهش دهد (Moynihan *et al.*, 1995) و در نهایت منجر به کاهش سرعت جوانه‌زنی شده است. علاوه بر این کاهش غلظت اکسیژن ناشی از پتانسیل اسمزی پلی‌اتیلن‌گلایکول و تأثیر آن بر جنین بذر نیز ممکن است دلیل دیگری برای کاهش سرعت جوانه‌زنی در این تیمار باشد. در آزمایش Ghassemi-Golenzani و همکاران (٢٠٠٨) پرایمینگ بذور عدس با آب مقطر و پلی‌اتیلن‌گلایکول تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت، در حالی‌که تیمار هیدروپرایمینگ باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی نسبت به اسموپرایمینگ و شاهد گردید (به‌ترتیب ٩/٥ و ١٢ ساعت).

درصد جوانه‌زنی: نتایج مقایسه میانگین نشان داد که برای درصد جوانه‌زنی بین تیمارهای مختلف پرایمینگ در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد و بالاتر و هیدروپرایمینگ در دمای ٣ درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در دمای ٣ درجه سانتی‌گراد درصد جوانه‌زنی تیمارهای اسموپرایمینگ و شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این در حالی است که تیمارهای هالوپرایمینگ و هیدروپرایمینگ اثر دمای ٣ درجه سانتی‌گراد را بر کاهش درصد جوانه‌زنی خنثی نموده‌اند (شکل ٢). دمای پایین در طی جوانه‌زنی می‌تواند سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و اختلال در خروج ریشه‌چه بذر در گونه‌های مختلف و ارقام زراعی گردد (Patade *et al.*, 2011). به‌گونه‌ای که تنش سرما با تحریک تولید گونه‌های اکسیژن فعال سبب اختلال در جریان انتقال الکترون در فرآیند متابولیسم می‌شود و منجر به آسیب غشاهای سلولی و تجمع ترکیبات تیوبیتوریک اسید (Thiobitturic acid) همراه با پراکسیداسیون چربی می‌گردد (Purvis and Shewfelt, 1993). علاوه بر این افزایش تدریجی سرما باعث کاهش نفوذپذیری غشاء سلول‌های ریشه-چه نسبت به آب شده در نتیجه جذب آب و به‌دنبال آن رشد ریشه‌چه کاهش می‌یابد (میرمحمدی میبدی و ترکش اصفهانی، ١٣٨٣). پایین بودن دمای خاک در هنگام کشت نیز باعث می‌شود جذب اولیه آب استحکام غشاء را از بین برده، نشت الکترولیت‌ها را افزایش داده و از جوانه‌زنی جلوگیری می‌کند (کافی و همکاران، ١٣٨٨). بهبود جوانه‌زنی بذر به‌وسیله پرایمینگ با تحریک فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (Sung and Chang, 1993)، سنتز پروتئین (Hameed *et al.*, 2010) و کل قندهای محلول (Lee and Kim, 2000) همراه است. در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]



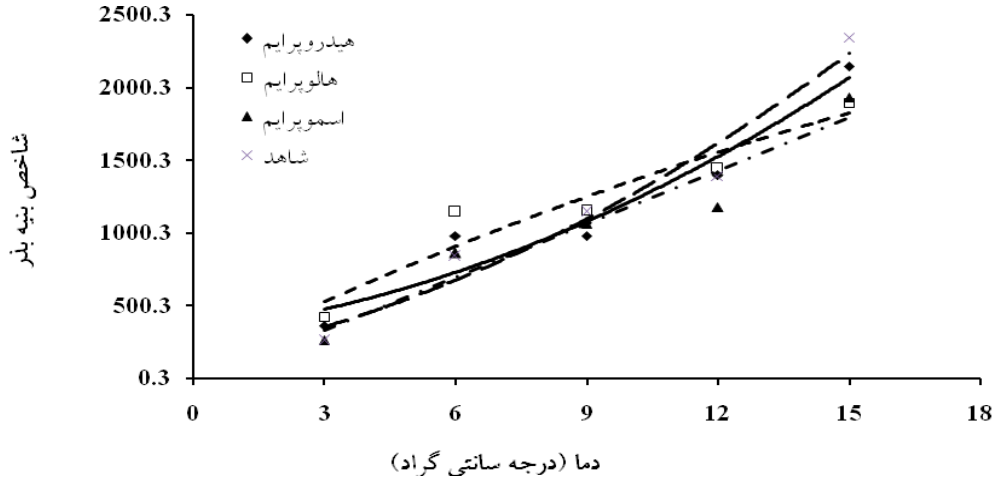
شکل ۲- اثر متقابل تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر و دما بر درصد جوانه‌زنی بذور گیاه نخودفرنگی. ستون‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

واقع بذور پرایم شده با آب مقطر به‌علت جذب سریع‌تر آب و آغاز فرآیندهای متابولیکی قبل از آسیب دیدن غشاء، نشت الکترولیت‌ها و از بین رفتن بذر تحت دمای پایین، جوانه زدند و درصد جوانه‌زنی بالاتری را نسبت به تیمارهای اسموپرایمینگ و شاهد در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد نشان دادند. پرایمینگ بذور لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و خصوصیات گیاهچه‌ها را در مقایسه با بذور شاهد تحت شرایط تنش دمای پایین و بهینه بهبود بخشید (Gharib and Hegazi, 2010).

شاخص بنیه بذر: همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با کاهش دما شاخص بنیه بذر تحت تیمارهای هیدروپرایمینگ و شاهد به‌صورت درجه دو مقعر کاهش یافت، در حالی‌که در تیمار هالوپرایمینگ تغییرات به‌صورت درجه دو محدب بود. تا دمای ۹ درجه سانتی‌گراد تیمار هیدروپرایمینگ در سطح پایین‌تری نسبت به تیمار شاهد قرار داشت اما با کاهش دما تا ۳ درجه سانتی‌گراد تیمار هیدروپرایمینگ برتر از تیمار شاهد بود. علاوه بر این، تیمار هیدروپرایمینگ جز در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد که تفاوت چندانی با تیمار اسموپرایمینگ نداشت در سایر دماها برتر از تیمار اسموپرایمینگ بود. تیمار هالوپرایمینگ که در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد با تیمار اسموپرایمینگ هم‌سطح شد و پایین‌تر از تیمارهای شاهد و هیدروپرایمینگ قرار گرفت، در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد با تیمار شاهد در یک سطح و در سایر دماها بالاتر از تیمارهای شاهد، هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ قرار گرفت. روند تغییرات در تیمار اسموپرایمینگ به‌صورت خطی بوده و نه‌تنها شاخص بنیه بذر را بهبود نبخشید بلکه به موازات شاهد (در دمای ۳ و ٦ درجه سانتی‌گراد) و پایین‌تر از آن (در دمای ۹، ۱۲ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) منجر به کاهش شاخص بنیه بذر گردید. یون نیترات نمک نیترات پتاسیم در سنتز آنزیم‌ها و رونویسی DNA و RNA نقش دارد و یون پتاسیم قابلیت نفوذ پذیری دیواره سلولی را افزایش می‌دهد (El-Bassiony, 2006) که موجب سهولت پویایی اندوخته‌های غذایی بذر از آندوسپرم به‌سمت محور جنینی، سنتز پروتئین‌ها، نوکلئوتیدها و به‌دنبال آن رشد بیشتر جنین (Umair et al., 2010) و در نتیجه افزایش بنیه بذر می‌گردد.

Umair و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که اسموپرایمینگ بذور ماش سبز (*Vigna radiata*) در نمک پتاسیم شاخص بنیه بذر را بهبود بخشید. اگر چه جودی و شریف‌زاده (۱۳۸۵) نیز اثر مثبت هیدروپرایمینگ را روی بنیه بذر جو گزارش دادند ولی در آزمایش حاضر بنیه بذر تحت تیمار هیدروپرایمینگ نسبت به تیمار هالوپرایمینگ در رتبه پایین‌تری قرار داشت (شکل ۳).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]



شکل ۳- پاسخ شاخص بنیه بذر بذور پرایم شده نخودفرنگی به تنش سرما.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر مقدار پرولین، مقدار پروتئین محلول، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه نخودفرنگی تحت تنش سرما

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پرولین	پروتئین محلول	گایاکول پراکسیداز	کاتالاز
نوع پرایمینگ	۳	٤/۸۲**	۰/۰۰۰۲۷**	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۱۳**
دما	۳	۱۰۳/۸۵**	۰/۰۰۰۱۳**	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۰۰۰۱۸**
نوع پرایمینگ × دما	۹	۵**	۰/۰۰۱٤**	۰/۰۰۷۱**	۰/۰۰۰۰۱۲**
خطای آزمایشی	٤۸	۰/۲٤	۰/۰۰۰۰۲۲	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۰۰٤
ضریب تغییرات (٪)		٤/٤	۱۲/٦۱	۱۰/۹	۱۲/۱۳

**** معنی‌داردر سطح احتمال ۱ درصد.**

پرولین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر بر مقدار پرولین، مقدار پروتئین محلول، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر دما نیز بر کلیه‌ی پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. علاوه بر این اثر متقابل پرایمینگ بذر با دما نیز برای کلیه‌ی صفات بررسی شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

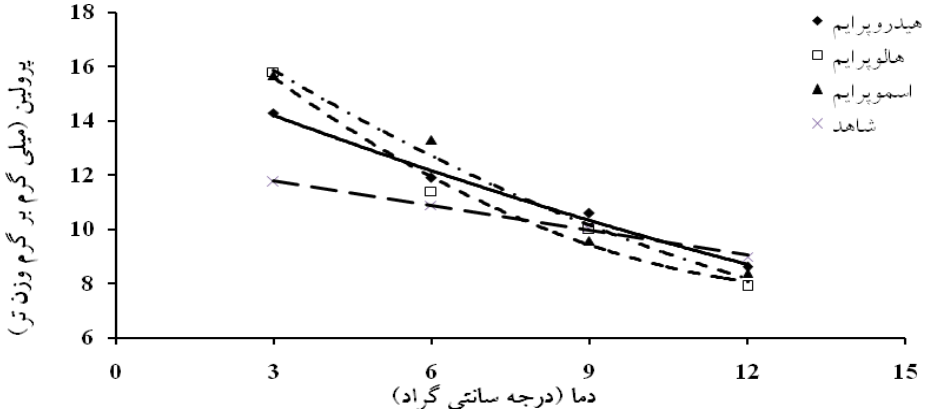
نتایج تجزیه و تحلیل رگرسیونی نشان داد که برای مقدار پرولین، مقدار پروتئین محلول، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تیمارهای مختلف در دماهای متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌داری بودند (جدول ٤). در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد تیمار شاهد بیشترین مقدار پرولین را نشان داد که با تیمار هیدروپرایمینگ در همین دما اختلاف معنی‌داری نداشت. با کاهش دما میزان این پارامتر در تیمار شاهد به‌صورت خطی افزایش یافت. این در حالی است که در تیمارهای هیدروپرایمینگ، هالوپرایمینگ و اسموپرایمینگ کاهش دما باعث تغییر در مقدار پرولین به‌صورت درجه دو مقعر گردید. به‌گونه‌ای که در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد تیمار هیدروپرایمینگ برتر از سایر تیمارها بود و تیمار اسموپرایمینگ کمترین مقدار پرولین را نشان داد اما با کاهش دما به ٦ درجه سانتی‌گراد تیمار اسموپرایمینگ در سطح بالاتری نسبت به سایر تیمارها قرار گرفت و باعث افزایش ۲۲ درصدی مقدار پرولین نسبت به شاهد در همین دما گردید. در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

جدول ٤- نتایج تجزیه رگرسیونی اثر تنش سرما بر مقدار پرولین، مقدار پروتئین محلول، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه نخودفرنگی تحت تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر

شاخص	هیدروپرایم		هالوپرایم		اسموپرایم		شاهد	
	خطی	درجه دو	خطی	درجه دو	خطی	درجه دو	خطی	درجه دو
پرولین	<۰/۰۰۱*	۰/۰۵۸۳	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۷٤	<۰/۰۰۱	۰/۰۵۱۵	<۰/۰۰۱	۰/٦۱٥٤
پروتئین محلول	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰٤٦۷	<۰/۰۰۱	۰/۰۱٥۸	۰/۲٤۳٥
گایاکول پراکسیداز	۰/۰۰۲۷	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/٦۳۹٦	<۰/۰۰۱	۰/۳۷۱۸
کاتالاز	۰/۰٦۹۲	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۰٦۳	۰/۰۰۰٤

*مقادیر جدول بیانگر سطح احتمال است

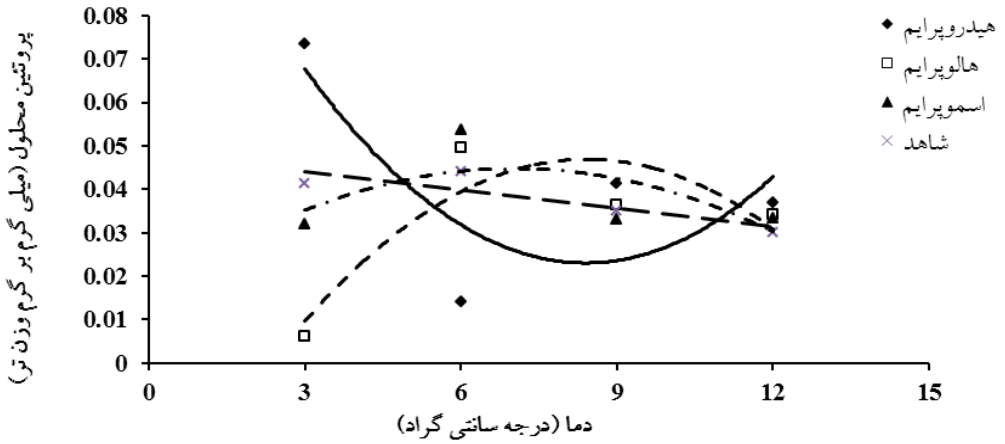


شکل ٤- پاسخ مقدار پرولین بذور پرایم شده نخودفرنگی به تنش سرما

دمای ۳ درجه سانتی‌گراد تیمار شاهد کمترین مقدار پرولین را به خود اختصاص داد، در حالی‌که تیمار اسموپرایمینگ به‌همراه تیمار هالوپرایمینگ بیشترین مقدار پرولین را داشتند و تیمار هیدروپرایمینگ که در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد برتر از سایر تیمارها بود در سطح پایین‌تری نسبت به تیمارهای اسموپرایمینگ و هالوپرایمینگ قرار گرفت. تیمارهای اسموپرایمینگ و هالوپرایمینگ در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش ۱۰ و ۳٤ درصدی مقدار پرولین به‌ترتیب نسبت به تیمار هیدروپرایمینگ و شاهد شدند (شکل ٤).

پس از جذب آب طی پرایمینگ، هورمون جیبرلین از جنین ترشح شده و به لایه آلئورون (خارجی‌ترین لایه آندوسپرم) انتقال می‌یابد این لایه هم به‌عنوان بافت ذخیره‌ای و هم به‌عنوان ترشح کننده آنزیم‌های هیدرولیتیکی عمل می‌کند. در نهایت این آنزیم‌ها به لپه‌ها انتقال یافته و موجب هیدرولیز ترکیبات ذخیره‌ای لپه‌ها از جمله پروتئین‌ها و تولید اسید آمینه پرولین طی جوانه‌زنی می‌گردند (اکرم قادری و همکاران، ۱۳۸۷). پرولین در مقایسه با سایر اسمولیت‌های متداول به‌ویژه قندهای معمولی و الکلی، از کارایی بالاتری برای حفاظت در برابر تنش‌ها برخوردار است و با اثر مستقیم در ثبات بخشیدن به ماکرومولکول‌ها و لایه‌های آبگیری آن‌ها و نیز به‌علت ویژگی‌های آنتی اکسیدانی خود، به‌طور غیر مستقیم اثر حفاظتی نشان می‌دهد (کرمیان و عطایی برازنده، ۱۳۹۲). تجمع پرولین تحت شرایط تنش ممکن است به‌علت کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (Sharma and Kuhad, 2006) که منجر به افزایش اسمولیته سلول شده و فشار لازم برای توسعه بافت سلولی را فراهم می‌آورد. در نتیجه یکپارچگی غشاء برای جلوگیری از تجزیه پروتئین‌ها حفظ می‌شود. یوسفی تنها (۱۳۹۳) نیز گزارش کرد که پرایمینگ بذر موجب افزایش مقدار پرولین در گیاهچه‌های یونجه یکساله و ماشک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]



شکل ٥- پاسخ مقدار پروتئین محلول بذور پرایم شده نخودفرنگی به تنش سرما

گل‌خوشه‌ای تحت تنش سرما گردید.

پروتئین محلول: همان‌طور که در شکل ٥ مشاهده می‌شود روند تغییرات مقدار پروتئین محلول در تیمارهای هیدروپرایمینگ، هالوپرایمینگ و اسموپرایمینگ به‌صورت درجه دو بود. با این تفاوت که در تیمارهای هالوپرایمینگ و اسموپرایمینگ برخلاف تیمار هیدروپرایمینگ کاهش دما باعث تغییرات در مقدار پروتئین محلول به‌صورت درجه دو محدب گردید. در صورتی‌که در تیمار شاهد با کاهش دما مقدار پروتئین محلول به‌صورت خطی تغییر یافت. تیمار هیدروپرایمینگ در کلیه‌ی دماها جز دمای ٦ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر تیمارها مقدار پروتئین محلول بیشتری را نشان داد. به‌گونه‌ای که در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد در سطح بالاتری نسبت به تیمار شاهد قرار گرفت و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. این در حالی است که با کاهش دما به ۹ درجه سانتی‌گراد کلیه‌ی تیمارها در سطح پایین‌تری نسبت به تیمار هیدروپرایمینگ قرار گرفتند. تیمار اسموپرایمینگ که در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد کمترین مقدار پروتئین محلول را نشان داد با کاهش دما به ٦ درجه سانتی‌گراد به‌همراه تیمار هالوپرایمینگ برتر از سایر تیمارها بودند و تیمار هیدروپرایمینگ که در دماهای ۹ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد برتر از سایر تیمارها بود مقدار پروتئین محلول کمتری داشت اما در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد بیشترین مقدار پروتئین محلول مربوط به تیمار هیدروپرایمینگ بود و باعث افزایش ۷۸/٦ درصدی مقدار پروتئین محلول نسبت به شاهد گردید. علی‌رغم اینکه تیمارهای هالوپرایمینگ و اسموپرایمینگ در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد در سطح بالاتری نسبت به سایر تیمارها قرار گرفتند اما در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد نه‌تنها باعث افزایش مقدار پروتئین محلول نشدند بلکه پایین‌تر از تیمارهای هیدروپرایمینگ و شاهد قرار گرفتند.

در شرایط تنش سرما مکانیسم‌های فیزیولوژیکی متفاوتی مانند تجمع فسفولیپیدهای با ثبات در درون غشاها، تجمع کربوهیدرات‌های محلول، آمینواسیدها از جمله پرولین و پروتئین‌های تنشی جهت افزایش تحمل به سرما رخ می‌دهد. پروتئین‌های تنشی می‌توانند طی تنش سرما، باعث بیان ژن‌های ثبات دهنده به غشاها شده و موجب تولید پروتئین‌های ساختمانی گردند. در نتیجه با حفظ پایداری غشای سلولی از نشت الکترولیت‌ها و مرگ سلول‌ها ممانعت می‌شود (Larcher, 2003). در بذر نخودفرنگی پروتئین از جمله مواد ذخیره‌ای مهم می‌باشد. با جذب آب طی پرایمینگ، ترشح هورمون جیبرلین از جنین بذر و انتقال آن به لایه آلئورون، موجب تحریک فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک از جمله پروتئازها شده و مواد محلولی از جمله پرولین تولید می‌گردد. پرولین نیز علاوه بر تنظیم اسمزی که منجر به حفظ فشار تورژسانس سلولی می‌شود نقش مهمی در حفظ و ثبات ساختمان پروتئین‌ها دارد. قربانی جاوید و همکاران (۱۳۸٦) نیز بیان کردند که غلظت پروتئین‌های محلول در سطوح مختلف تنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

خشکی در ژنوتیپ متحمل یونجه، تقریباً ثابت بوده که به‌نظر می‌رسد در حفظ ساختار گیاه و انجام فعالیت‌های گیاهی مطلوب بوده است، در حالی‌که در ژنوتیپ حساس با افزایش شدت تنش، غلظت پروتئین های محلول به‌شدت کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کاهش فراوانی پیش‌ماده‌های تولید کننده پروتئین‌ها (مواد معدنی و آلی) و کاهش بیان ژن‌ها یا مبدأ تظاهر آنها باشد.

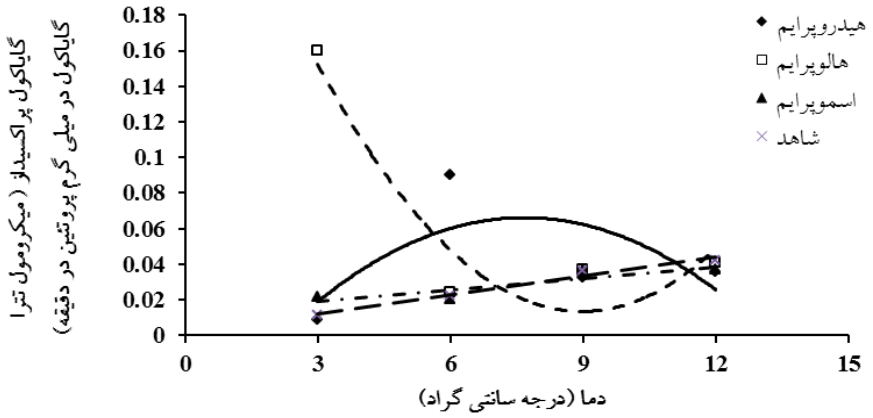
گایاکول پراکسیداز: شکل ٦ بیانگر آن است که با کاهش دما میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تیمارهای اسموپرایمینگ و شاهد به‌صورت خطی کاهش یافت. این در حالی است که روند تغییرات در تیمارهای هیدروپرایمینگ و هالوپرایمینگ به‌صورت درجه دو بود. با این تفاوت که در تیمار هالوپرایمینگ برخلاف تیمار هیدروپرایمینگ کاهش دما باعث تغییر در میزان فعالیت این آنزیم به‌صورت درجه دو مقعر گردید. در دماهای ۹ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد اما با کاهش دما به ٦ درجه سانتی‌گراد تیمار هیدروپرایمینگ در سطح بالاتری نسبت به سایر تیمارها قرار گرفت و بین سایر تیمارها در این دما اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد برخلاف دمای ٦ درجه سانتی‌گراد کمترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مربوط به تیمار هیدروپرایمینگ بود که با تیمار شاهد هم‌سطح شد. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در تیمار هالوپرایمینگ مشاهده گردید و پس از آن آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمار اسموپرایمینگ فعالیت بیشتری را نشان داد.

با توجه به عدم افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمارهای مختلف تا دمای ۹ درجه سانتی‌گراد، می‌توان گفت که میزان تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) حداقل بوده یا به دلیل کفایت میزان آنزیم‌های لازم برای تجزیه H_2O_2 تولید شده، نیازی به تجزیه آن از طریق افزایش فعالیت آنزیمی نمی‌باشد. اما با کاهش بیشتر دما تا ۳ درجه سانتی‌گراد فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به‌منظور جلوگیری از آسیب‌های وارد شده به گیاهچه و حفظ همئوستازی افزایش یافت. در تیمار هیدروپرایمینگ چون آب بدون هیچ‌گونه محدودیتی (پتانسیل منفی ناشی از حل شدن مواد) در اختیار بذر قرار گرفت واکنش‌های بیوشیمیای با سرعت بیشتری انجام می‌شود. در نتیجه میزان پراکسید هیدروژن بیشتری تولید گردید و به‌دنبال آن میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. تیمار هالوپرایمینگ نیز از طریق تأمین عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد جنین (K^+ و NO_3^-) موجب افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی و به‌دنبال آن افزایش میزان H_2O_2 تولیدی می‌گردد. تولید بیشتر پراکسید هیدروژن در اثر تنش باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی و در نتیجه کاهش پایداری غشاء، نشت الکترولیت‌ها، خشکی سریع و مرگ سلول‌ها می‌شود. بنابراین، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز جهت تجزیه پراکسید هیدروژن و عدم آسیب به گیاهچه در حال رشد افزایش یافت. ونایی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که در گیاهچه‌های نخود (*Cicer arietinum*) با کاهش دما تا ۵- درجه سانتی‌گراد میزان پراکسید هیدروژن و به‌دنبال آن میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز جهت تجزیه پراکسید هیدروژن افزایش یافت اما با کاهش بیشتر دما به‌دلیل کاهش شدید فعالیت‌های متابولیکی اصولاً H_2O_2 بیشتری تشکیل نشده و نیازی به تجزیه آن از طریق افزایش فعالیت آنزیمی نمی‌باشد.

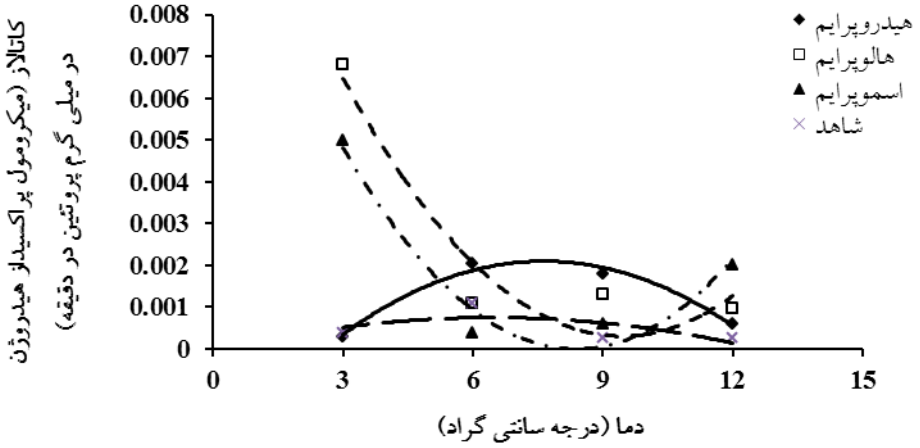
کاتالاز: در کلیه‌ی تیمارها با کاهش دما میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به‌صورت منحنی درجه دو تغییر یافت. به‌گونه‌ای که روند تغییرات در تیمارهای هالوپرایمینگ و اسموپرایمینگ برخلاف تیمارهای هیدروپرایمینگ و شاهد به‌صورت درجه دو مقعر بود. تیمار شاهد که تا دمای ۹ درجه سانتی‌گراد در سطح پایین‌تری نسبت به سایر تیمارها قرار داشت در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد با تیمار هالوپرایمینگ و در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد با تیمار هیدروپرایمینگ هم‌سطح شد. در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد تیمار اسموپرایمینگ بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را به خود اختصاص داد و برتر از سایر تیمارها بود اما در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد در سطح پایین‌تری نسبت به تیمارهای هیدروپرایمینگ و هالوپرایمینگ قرار گرفت. با کاهش دما به ٦ درجه سانتی‌گراد کمترین میزان فعالیت این

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]



شکل ٦- پاسخ میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بذور پرایم شده نخودفرنگی به تنش سرما



شکل ۷- پاسخ میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بذور پرایم شده نخودفرنگی به تنش سرما

آنزیم در تیمار اسموپرایمینگ مشاهده شد در حالی‌که در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد تیمار اسموپرایمینگ برتر از تیمارهای هیدروپرایمینگ و شاهد بود. تیمار هیدروپرایمینگ که در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد اختلاف چندانی با تیمار هالوپرایمینگ نداشت، با کاهش دما تا ٦ درجه سانتی‌گراد برتر از تیمار هالوپرایمینگ بود و بیشترین میزان فعالیت را نشان داد در صورتی‌که در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد تیمار هالوپرایمینگ در بالاترین سطح نسبت به سایر تیمارها قرار گرفت (شکل ۷).

ونایی و همکاران (۱۳۹۰) با بررسی اثر تنش سرما بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای ارقام مختلف نخود (*Cicer arietinum*) دریافتند که با کاهش دما به کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد، فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام ILC٤٨٢ و بیونیج افزایش یافت اما در رقم پیروز، میزان فعالیت این آنزیم با کاهش دما به کمتر از ۵- درجه سانتی‌گراد افزایشی نشان نداد. در رقم پیروز به‌واسطه کاهش فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهی در دماهای پایین میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تولیدی به‌عنوان ماده جانبی حاصل از این واکنش‌ها کاهش یافت. در نتیجه افزایشی در میزان فعالیت این آنزیم جهت تجزیه پراکسید هیدروژن مشاهده نشد. Nayyar و همکاران (۲۰۰۵) نیز با بررسی گیاهچه‌های ١٤ روزه نخود مشاهده کردند که کاهش دما به ٤ درجه سانتی‌گراد باعث ۵۰ درصد تراوش یونی شد، در حالی‌که تطابق با دمای پایین به‌میزان ۱۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦ روز، با کاهش تولید پراکسید هیدروژن، ۵۰ درصد تراوش یونی را به ۲ درجه سانتی‌گراد کاهش داد. در آزمایش حاضر نیز با کاهش دما به ۳ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

هالوپرایمینگ در بالاترین سطح نسبت به سایر تیمارها قرار گرفت. همان‌طور که ذکر شد تیمار هالوپرایمینگ از طریق تأمین عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد جنین (K^+ و NO_3^-) موجب افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی و به‌دنبال آن افزایش میزان H_2O_2 تولیدی می‌گردد. بنابراین، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز جهت تجزیه پراکسید هیدروژن و عدم آسیب به گیاهچه افزایش یافت.اما در کل میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد تحت تیمار هالوپرایمینگ بیشتر از آنزیم کاتالاز بود. بنابراین، احتمالاً آنزیم گایاکول پراکسیداز نقش بیشتری را در کاهش خسارات اکسیداسیونی و تجزیه پراکسید هیدروژن به‌ویژه در شرایط تنش سرما ایفا می‌کند. Sairam و Srivastava (۲۰۰۲) نیز بیان داشتند که کاتالاز کارایی کمتری در مقایسه با پراکسیداز در زدودن پراکسید هیدروژن دارد.

نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش پرایمینگ با آب مقطر و نیترات پتاسیم از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی توانایی گیاه جهت خنثی‌سازی اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن را افزایش می‌دهد و از کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور این گیاه در دمای پایین جلوگیری می‌کند. این امر می‌تواند در افزایش پتانسیل قرارگیری این گیاه به عنوان کود سبز در مناطق معتدل و سرد کشور مفید باشد. پرایمینگ با پلی‌اتیلن‌گلایکول نه تنها بر جوانه‌زنی بذور گیاه نخودفرنگی تحت تنش سرما مؤثر نمی‌باشد بلکه در برخی دماها باعث کاهش پارامترهای جوانه‌زنی بذور این گیاه کود سبز نیز می‌گردد.

سپاسگزاری:

بدین‌وسیله از مساعدت مالی دانشگاه شهرکرد در اجرای این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع:

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

جودی، م. و شریف‌زاده، ف. (۱۳۸۵) بررسی اثر هیدروپرایمینگ در ارقام مختلف جو. بیابان ۱۱: ۱۰۹-۹۹.

عبدی، س.، تاج بخش، م.، رسولی صدقیانی، م.ح. و عبدالهی مندولکانی، ب. (۱۳۹۱) بررسی تأثیر گیاهان مختلف کود سبز بر میزان ماده آلی و نیتروژن خاک در شرایط شور. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ۱۹: ۱٤٤-۱۲۷.

قربانی جاوید، م.، مرادی، ف.، اکبری، ق. و اله دادی، ا. (۱۳۸٦). نقش برخی متابولیت‌ها در مکانیسم تنظیم اسمزی *Medicago laciniata* L. (mill) تحت تنش خشکی. مجله علوم زراعی ایران ۸: ۱۰۵-۹۰.

کافی، م.، برزوئی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

کرمیان، ر. و عطایی برازنده، ص. (۱۳۹۲) مطالعه اثر تنش شوری بر برخی از شاخص‌های رشد در سه گونه از جنس اسپرس (Onobrychis) در ایران. زیست شناسی گیاهی ۱۵:۸۲-٦۹.

میر محمدی میبدی، س.ع.م. و ترکش اصفهانی، س. (۱۳۸۳). جنبه های فیزیولوژیک و به‌نژادی تنش‌های سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن.

ونایی، س.، سی و سه مرده، ع. و حیدری، غ.ر. (۱۳۹۰) اثرات تنش سرما در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در نخود (*Cicer arietinum*). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۹: ٥۲٤-٥۱٤.

یوسفی تنها، ا. (۱۳۹۳) پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

Abei, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in enzymology 105:121-126.

Ansari, O. and Sharif zadeh, F. (2012) Osmo and hydro priming mediated germination improvment under cold stress conditions in mountain rye (*Secale*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

ISTA (International Seed Testing Association) (2009) International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Jaap, G. V. P., Groot, S. P. C., Kraak, H. L., Bergervoet, J. H. U. and Bino, R. J. (1996) Effects of pre-storage hydration treatments on germination performance, moisture content, DNA synthesis and controlled deterioration tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. Seed Science Research 6:57-63.

Karta, K. K. and Bekele, A. (2012) Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Vicia villosa ssp*. dasycarpa (Ten.). African Journal of Agricultural Research 7:3202-3208.

Komi, A., Fritz, S., Agbéko Kodjo, T., Manuele, T. and Stefan, V. (2013) The effect of leguminous cover crops and cowpea planted as border rows on maize ear borers with special reference to Mussidia nigrivenella Ragonot (*Lepidoptera Pyralidae*). Crop Protection 43:72-78.

Kruidhof, H. M., Bastiaans, L. and Kropff, M. J. (2008) Ecological weed management by cover cropping: Effects on weed growth in autumn and weed establishment in spring. Weed Research 48:492-502.

Larcher, W. (2003) Physiological plant ecology, ecophysiology and stress, physiology of functional crops. Further edition. Springer. Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 513p.

Lee, S. S. and Kim, S. O. N. G. (2000) Total sugars, α-amylase activity, and germination after priming of normal and aged rice seeds. Korean Journal Crop Science 45:108-111.

Mac Adam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase Activity in the leaf elongation zone of tallfescue. Plant Physiology 99:872-878.

Madye, D. (2007) Organic farming green manures for vegetable cropping. Agriculture Notes. Available at http:\new. Dpi.vic.gov.au/agriculture/ farming / organic farming/.../green-2011.

Matos, E. D. S., Mendonce, E. D. S., Lima, P. C. D., Coelho, M. S., Mateus, R. F. and Cardoso, I.M. (2008) Green manure in coffee system in the region of Zona Da Mata, Minas Gerais. Characteristics and kinetics of carbon and nitrogen mineralization. Revista Brasileira de Ciencia do Solo 32:2027-2035.

Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The Osmotic potential of Polyethylene Glycol 6000. Plant Physiology 51:914-916.

Moynihan, M. R., Ordentelich, A. and Raskin, I. (1995) Chilling-induced heat evaluation in plants. Plant Physiology 108:995-999.

Nayyar, H., Bains, T .S. and Kumar, S. (2005) Chilling stressed chickpea seedling: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. Journal of Environmental and Exprimental Botany 54:275-285.

Patade, V. Y., Maya, K. and Zakwan, A. (2011) Seed priming mediated germination improvement and *montanum*). Cercetări Agronomice in Moldova 3:53-62.

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 nonsaline conditions. Advances in Agronomy 88:223.

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

Bellido, F. J. L., Bellido, L. L. and Bellido, R. J. L. (2005) Competition growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). European Journal of Agronomy 23:359-378.

Bradford, M. (1976) Arapid and sensitive method for thequantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Reviwe Biochemistry 72:248-254.

Chojnowski, F. C. and Come, D. (1997) Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsent drying, storage and aging. Seed Science Research 7:323-331.

Davison, P. A., Taylor, R. M. and Bray, C. M. (1991) Changes in ribosomal RNA integrity in leek (*Allium porrum* L.) seeds during osmopriming and drying osmopriming and drying-bak treatments. Seed Science Research 1:37-44.

El-Bassiony, A. M. (2006) Effect of potassium fertillization on growth, yeild and quality of onion plant. Applied Science Research 2:780-785.

Finch-Savage, W. E., Dent, K. C. and Clark, L. J. (2004) Soak conditions and temperature following sowing influence the response of maize (*Zea maize* L.) seeds to on-farm priming (pre sowing seed soak). Field Crops Research 90:361-374.

Food and Agricultural Organization of the United Nation (FAO). 2004. Disponivelem:http://faostas.fao.org/faostat/collections.subset=Agriculture. Acessoem: 8 novembro.

Gharib, F. A. and Hegazi, A. Z. (2010) Salicylic acid ameliorates germination, seedling growth, phytohormone and enzymes activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under cold stress. Journal of American Science 6: 675-683.

Ghassemi-Golenzani, K., Aliloo, A. A., Valizadeh, M. and Moghaddam, M. (2008) Effects of hydro and osmo-priming on seed germination and field emergence of lentil (*Lens culinaris* Medik.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 36:29-33.

Hameed, A., Afzal, I. and Iqbal, N. (2010) Seed priming and salinity induced variations in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf protein profile. Seed Science and Technology 38:236-241.

Ikic, I., Maric evic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z. S. and Arcevic, H. S. (2012) The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. Euphytica 188:25-34.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]

Subedi, K. D. and Ma, B. L. (2005) Seed priming does not improve corn yield in a humid temperate environment. Agronomy Journal 97:211-218.

Sung, F. J. and Chang, Y. H. (1993) Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigour. Seed Science and Technology 21:97-105.

Talgre, L., Lauringson, E., Roostalu, H. and Astover, A. (2009) The effects of green manures on yields and yield quality of spring wheat. Agronomy Research 7:125-132.

Thakur, P., Kumar, S., Malik, J. A., Berger, J. D. and Nayyar, H. (2010) Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. Environmental and Experimental Botany 67:429-443.

Umair, A., Ali, S., Bashir, K. and Hussain, S. (2010) Evaluation of different seed priming techniques in mung bean (*Vigna radiate*). Soil and Environmental 29:181-186.

Yong, Z., Hao-Ru, T. and Ya, L. (2008) Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short-term low temperature stress. World Journal of Agricultural Sciences 4:458-462.

Yu, Q. and Rengel, Z. (1999) Drought and salinity deferentially influenced activities of suoeroxid dismutase in narrow leafed lupine. Plant Science 142:230-237.

tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal Seed Science 4: 125-136.

Posmyk, M. M. and Janas, K. M. (2007) Effects of seed hydropriming in presence of exogenous proline on chilling injury limitation in *Vigna radiata* L. seedlings. Acta Physiologiae Plantarum 25:326-328.

Purvis, A. C. and Shewfelt, R. L. (1993) Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues?. Journal of Plant Physiology 88:712-718.

Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Journal of Plant Science 162:897-904.

Sharma, K. D. and Kuhad, M. S. (2006) Influence of Potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of *Brassica* Species. Brassica Journal 8:71-74.

Siebert, E. T. and Richardson, M. D. (2002) Effects of osmopriming on bermudagrass germination and establishment. Horticultural Studies, AAES Research Series 506: 36-38.

Steenwerth, K. and Belina, K. N. (2008) Cover crops enhance soil organic matter, carbon dynamics and microbiological function in a vineyard agroecosystem. Applied Soil Ecology 40: 359-369.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.8.0]