اثر پرایمینگ با نیترات کلسیم و نانو اکسید روی بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه سیاهدانه تحت تنش شوری

مسلم مددی، سعید خماری*، احمد جوادی و امید سفالیان
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۰۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۲/۰۵)

چکیده:

انواع روش‌های پرایمینگ بذر به طور گسترده جهت بهبود قابلیت جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه بسیاری از گیاهان اقتصادی به ویژه تحت تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار گرفته است. در این راستا جهت ارزیابی سودمندی پرایمینگ بر شاخص‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه سیاهدانه در شرایط تنش شوری، آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مجموعه آزمایشگاهی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. عوامل آزمایشی شامل پنج سطح پرایمینگ (شاهد بدون پرایمینگ، پرایمینگ با نانو اکسید روی، نیترات کلسیم، نانو اکسید روی+نیترات کلسیم و پیش تیمار آبی) و سه سطح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بود. نتایج این پژوهش نشان داد که با وجود اثر بازدارنده شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه سیاهدانه، پیش تیمار بذر با افزایش میانگین این شاخص‌ها اثرات سوء ناشی از تنش شوری را تا حدود زیادی رفع نمود. با افزایش غلظت نمک در محیط جوانه‌زنی بذور، میزان پروتئین کل گیاهچه‌ها کاهش و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت، ولی با اعمال پرایمینگ مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ها تحت تنش شوری روند افزایشی داشت. از بین تیمارهای به کار رفته، پیش تیمار نانو اکسید روی+کلسیم بیشترین کارایی و بهترین عملکرد را در کاهش اثرات سوء ناشی از تنش شوری بر صفات مورد اندازه گیری در گیاه دارویی سیاهدانه داشت.

کلید واژه‌ها: پرایمینگ بذر، تنش شوری، سیاهدانه، سیستم آنتی اکسیدان، قابلیت جوانه‌زنی.

مقدمه:

در سال‌های اخیر، سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) به عنوان یکی از گونه‌های متعلق به خانواده آلاله (Ranunculaceae) به خاطر روغن و سایر ترکیبات زیستی فعال موجود در بذور آن مورد توجه قرار گرفته است. امروزه این گیاه دارویی در طب سنتی مورد استفاده واقع شده و همچنین به عنوان گیاه زینتی و تولید کننده‌ی شهد زیاد در گل‌ها شناخته شده است. مثل اغلب گیاهان زراعی، مراحل اولیه جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه و در ادامه رشد رویشی و زایشی و عملکرد نهایی گیاهان دارویی و معطر نیز می‌تواند تحت تاثیر محدودیت‌های محیطی نظیر تنش شوری قرار گیرد. به طوری که در تعدادی از مطالعات، اثرات منفی شوری بر جوانه‌زنی گیاهان دارویی مختلف و کاهش عملکرد روغن و اسانس توام با تغییر در ترکیب مواد موثره گزارش گردیده است (Filippo *et al*., 2002).

شوری خاک یکی از عوامل محیطی است که پراکنش و قابلیت تولید بسیاری از گیاهان اقتصادی را به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک دچار محدودیت می‌کند. گذشته از این بر اساس

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: saeid.khomari@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

برآوردها، مساحت خاک‌های شور در جهان به طور متوسط سالانه حدود ۱۰ درصد افزایش می‌یابد (Ashraf and Foolad, 2005). در بسیاری از گیاهان، مرحله جوانه‌زنی بذر و سبز شدن گیاهچه جزو حساس‌ترین مراحل رشدی به تنش شوری محسوب می گردد (یاوری و همکاران، ۱۳۸۰؛ Munns and James, 2003). حضور نمک در محیط ممکن است آغاز فرآیند جوانه زدن را به تاخیر انداخته، سرعت آن را کاهش داده و همچنین غیر یکنواختی جوانه‌زنی بذر را سبب شود. یکی از نخستین مشکلات فیزیولوژیکی که در طی جوانه‌زنی در شرایط شور رخ می‌دهد، کاهش جذب آب توسط بذر به علت پتانسیل آبی پایین در محیط می‌باشد. آب نوشی آهسته توسط بذر ممکن است موجب یک سری تغییرات متابولیکی گردد که شامل افزایش یا کاهش فعالیت برخی آنزیم‌ها، اختلال در انتقال مواد غذایی معدنی به بافت‌های در حال توسعه، اختلال در متابولیسم نیتروژن، عدم تعادل در سطوح مواد تنظیم کننده رشد گیاه، افت هیدرولیز و استفاده از ذخایر غذایی و تجمع مواد اسمزی سازگار نظیر قندهای محلول، پرولین آزاد و پروتئین‌های محلول می‌باشد (Ashraf and Foolad, 2005؛ کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

اثرات منفی شوری می‌تواند به وسیله اقدامات مختلفی رفع گردد که پرایمینگ (پیش تیمار) بذر از جمله این روش‌ها محسوب می‌شود. انواع پرایمینگ دارای محاسن و معایبی خواهند بود و بسته به گونه گیاهی، مرحله نموی گیاه، غلظت عامل پیش تیمار و مدت زمان اعمال تیمار اثرات متفاوتی بر جا خواهند گذاشت (Ashraf and Foolad, 2005). از فواید پرایمینگ بذر می‌توان به افزایش درصد جوانه‌زنی، خروج یکنواخت‌تر و سریع‌تر گیاهچه‌ها، ایجاد دامنه دمایی وسیع‌تر برای جوانه‌زنی، بازسازی و ترمیم سلول‌های آسیب دیده، کاهش موانع رشد جنین، افزایش کمی و کیفی سنتز پروتئین‌ها، حذف خواب بذر، افزایش تحمل به تنش‌های محیطی هنگام کشت و افزایش قدرت نموی گیاه اشاره کرد (McDonald, 2000). تحقیقات زیادی نشان داده است که رشد گیاه در شرایط شور به واسطه پیش تیمار بذر با آب یا ترکیبات آلی بهبود می‌یابد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

عناصر غذایی نقش‌های متعددی را در گیاه ایفا می‌کنند و به ویژه وجود این عناصر در حد کفایت برای بهبود رشد گیاه در شرایط وقوع تنش‌های محیطی لازم است، که در این میان عناصر روی و کلسیم از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (ملکوتی و همکاران، ۱۳۷۸). از طرف دیگر، پرایمینگ بذر به عنوان یکی از روش‌های کم هزینه، علاوه بر بهبود جوانه‌زنی در شرایط محدودیت عناصر روی و کلسیم، ممکن است مزایایی برای گیاه سیاهدانه به جهت افزایش استقرار مزرعه‌ای و عملکرد دانه در بر داشته باشند. در این راستا، Murata و همکاران (۲۰۰۸) اثر مثبت پیش تیمار بذر بادام زمینی با نمک نیترات کلسیم بر افزایش سرعت جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه‌ها را گزارش کردند. از طرفی بنا به نظر محققان، کمبود عنصر روی رشد اولیه گیاهچه‌ها را به تاخیر انداخته و باعث حساسیت آن‌ها به تنش‌های بعدی می‌شود (Bort *et al*., 1998; Jones and Wahbi 1992). در خاک‌های دچار کمبود روی، ماده خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای حاوی روی بالاافزایش یافت و همچنین در مراحل بعدی رشد نیز این عنصر را با کارایی بیشتری جذب نمودند (Graham and Rengel, 1993). پوشش دادن سطحی بذرهای گندم با روی، باعث افزایش معنی‌دار عملکرد شد (Yilmaz *et al*., 1998). اخیراً، Harris و همکاران (۱۹۹۹) به اثرات مثبت پرایمینگ بذر ذرت با عنصر ریز مغذی روی (به شکل سولفات روی) اشاره داشته و افزایش پارامترهای جوانه زنی و رشد گیاهچه در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار) را گزارش نمودند. با در نظر گرفتن مسائل ذکر شده و نیز محدودیت منابع علمی در زمینه کاربرد نانو اکسید روی به عنوان یک عامل پرایمینگ بذر هدف از انجام این تحقیق ارائه ی راه حلی در جهت کاهش آسیب‌های ناشی از شوری بر جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه سیاهدانه بود. در همین راستا، پرایمینگ بذور با نانو اکسید روی و نیترات کلسیم در شرایط وقوع تنش شوری بر شاخص‌های قدرت بذر و گیاهچه سیاهدانه مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

مواد و روش‌ها:

بذور سیاهدانه (یک توده بومی مورد تایید سازمان جنگل‌ها و مراتع استان اردبیل) مورد استفاده در آزمایش‌ها از سازمان جنگل‌ها و مراتع استان اردبیل تهیه گردید. در راستای اجرای این تحقیق، آزمایش اصلی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی و تکنولوژی بذر دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی پیاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج روش پرایمینگ (شاهد، هیدرو پرایمینگ، پرایمینگ با نانو اکسید روی، نیترات کلسیم و نانو اکسید روی+نیترات کلسیم) و سه سطح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بود. دراین آزمایش، از نانواکسید روی و نیترات کلسیم به ترتیب به عنوان منابع عناصر روی و کلسیم استفاده گردید. به منظور بهینه سازی غلظت عناصر و مدت زمان اعمال پیش تیمارها آزمایش‌های مقدماتی در قالب آزمون جوانه‌زنی استاندارد ISTA ترتیب داده شد و در نهایت با ملحوظ داشتن حداکثر درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، غلظت ۰/۰۵ میلی مولار (از بین غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی مولار) برای نانو اکسید روی و غلظت ۰/۱ میلی مولار (از بین غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی مولار) برای نیترات کلسیم و مدت زمان ٤٨ ساعت (از بین دوره‌های ١٢، ٢٤، ٣٦، ٤٨ و ٦٠ ساعت) برای پرایمینگ بذور سیاهدانه تعیین شد. از طرف دیگر به منظور ایجاد سطوح شوری، از نمک NaCl (نمک غالب در خاک‌های زراعی شور) استفاده گردید.

بذرها پس از ۱۰ دقیقه ضد عفونی سطحی با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم، بین چند لایه کاغذ صافی کاملا مرطوب در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد جهت انجام تیمارهای پرایمینگ قرار داده شدند. تیمار بدون پرایمینگ نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بذور پیش تیمار شده، در دمای آزمایشگاه تدریجا خشک گردیده و میزان رطوبت آن‌ها به مقدار اولیه (با کنترل وزن نمونه‌ها) رسانده شد. در ادامه، آزمون جوانه‌زنی استاندارد مطابق با روش ایستا (ISTA) به صورت چهار تکرار ۵۰ بذری در پتری دیش و در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. شمارش تعداد بذور جوانه زده (خروج دو میلی‌متری ریشه‌چه) به طور مرتب و روزانه صورت گرفت و تا پایان روز چهاردهم از شروع آزمایش ادامه یافت. در پایان آزمایش، تعداد بذور زنده، درصد جوانه‌زنی استاندارد، طول و وزن خشک گیاهچه در هر واحد آزمایشی تعیین گردید. میانگین زمان جوانه‌زنی نیز با استفاده از فرمول زیر (Ellis and Roberts, 1981) محاسبه شد:

آغاز آزمایش $\Sigma Dn / \Sigma n$= میانگین زمان جوانه‌زنی

n= تعداد بذور جوانه زده در هر روز، D= تعداد روز از

اندازه گیری پروتئین کل گیاهچه‌های سیاهدانه با استفاده از روش Bradford (۱۹۸٦) انجام گرفت. محلول‌های لازم جهت استخراج و کمی نمودن پروتئین کل گیاهچه شامل: ۱- بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH= ۷/۵) و ۲- معرف برادفورد بود. استانداردهای پروتئین به صورت mg/ml ۲۰۰-۲۰ از آلبومین سرم گاوی (BSA) تهیه گردید.جهت استخراج پروتئین کل گیاهچه‌های سیاهدانه مقدار ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی با یک میلی‌لیتر بافر فسفات درون هاون چینی ساییده شد و پس از انتقال به لوله اپندورفدر۱۲۰۰۰rpm به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از روشناور به لوله‌های آزمایشی که قبلا پنج میلی‌لیتر معرف برادفورد ریخته شده بود اضافه گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه از تثبیت رنگ محلول، جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از گیاهچه‌های سیاهدانه به روش اسپکتروفوتومتری با استفاده از روش Aebi (۱۹۸٤) انجام گرفت. به منظور استخراج آنزیم کاتالاز، ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه گیاهی در یک میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات+PVP)، در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد (با استفاده از هاون چینی سرد) ساییده شد. خمیر (هموژنای) تهیه شده پس از انتقال به لوله‌ها در ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۱۵دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. جهت ممانعت از تخریب آنزیم تا زمان اندازه‌گیری فعالیت، نمونه‌های سانتریفیوژ شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس نمونه‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

عصاره حاوی آنزیم از فریزر خارج و در یخ قرار داده شدند. در ادامه ۳ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی مولار،pH=۷) و ٤٠ میکرو لیتر محلول پراکسید هیدروژن (۳۰ میلی مولار) در سل کوارتزی ریخته شدند. در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد و بعد از پنج دقیقه از شروع واکنش در دمای آزمایشگاه، جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. اعداد مربوط به جذب بر عدد ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن ($۳۹/٤\mu M^{-1}.cm^{-1}$) تقسیم شدند و واحد فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میکرومول H_2O_2 تولید شده در دقیقه بیان شد. محلول جذب زمینه (Blank) شامل تمام مواد به جز عصاره استخراج شده بود. آنزیم کاتالاز بدون نیاز به عامل احیاء کننده H_2O_2 را به O_2 و H_2O تبدیل می‌کند. تجزیه و تحلیل داده‌ها بـا استفاده از نرم افزار آماری SPSS و MSTATC و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج:

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، درصد بذور زنده، درصد جوانه‌زنی استاندارد، میانگین زمان جوانه‌زنی بذور و طول و وزن خشک گیاهچه‌های سیاهدانه از نظر روش پرایمینگ، شوری بستر کشت و اثرات متقابل پرایمینگ×شوری تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند (جدول ۱).

با افزایش سطوح شوری در بستر کشت، تعداد بذور زنده و گیاهچه‌های عادی سیاهدانه به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. از طرف دیگر، پرایمینگ بذور با نانواکسید روی+نیترات کلسیم به طور قابل توجهی باعث کاهش اثرات سوء ناشی از تنش شوری شد، به طوری که در هر دو سطح شوری، پرایمینگ بذور با نانو اکسید روی+نیترات کلسیم سبب افزایش حدود ۹ درصدی بذور زنده و جوانه‌زنی استاندارد نسبت به شاهد (عدم پرایمینگ در تنش شوری۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) گردید. در مورد هیدرو-پرایمینگ می‌توان چنین اظهار نمود که پیش تیمار آبی در شرایط شور تا حدودی اثر مثبت بر قوه زیست و قابلیت جوانه‌زنی بذور سیاهدانه نسبت به شاهد داشت (شکل ۱و ۲).

میانگین زمان جوانه‌زنی بذرها نیز تحت تاثیر تنش شوری به طور معنی داری افزایش یافت. به طوری که بیش‌ترین زمان جوانه‌زنی در شرایط شوری ۱۰۰ میلی مولار نمک NaCl مشاهده شد. پرایمینگ بذور سیاهدانه با نانو اکسید روی+نیترات کلسیم سبب کاهش مدت زمان جوانه‌زنی در حضور نمک گردید. در این راستا با توجه به نتایج مقایسات میانگین، پرایمینگ بذور با نانو اکسید روی و نیترات کلسیم به صورت توام، به طور قابل ملاحظه‌ای جوانه‌زنی بذور در شرایط شوری را سرعت بخشید. البته پرایمینگ با نانو اکسید روی و نیترات کلسیم به صورت مجزا و همچنین پیش تیمار آبی (هیدرو-پرایمینگ) بذور نیز اثرات سوء تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی را تعدیل نمودند، ولی این تیمارها از لحاظ آماری با پیش تیمار نانو اکسید روی+نیترات کلسیم در یک گروه قرار نگرفتند (شکل ۳).

طول و وزن خشک گیاهچه سیاهدانه تحت تاثیر تنش شوری به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با شاهد (محیط غیر شور) کاهش یافت. کمترین طول و وزن خشک گیاهچه درشوری ۱۰۰ میلی مولار به دست آمد. در مجموع، روش‌های مختلف پرایمینگ موجب افزایش معنی دار طول و وزن خشک گیاهچه سیاهدانه نسبت به شاهد (عدم پیش تیمار) شدند. از طرف دیگر، پیش تیمار بذور با عناصر کلسیم و روی در مقایسه با هیدرو-پرایمینگ به طور متوسط گیاهچه درشت‌تری را ایجاد نمود. پرایمینگ بذور با استفاده از نانو اکسید روی، نیترات کلسیم و همچنین آب مقطر (پیش تیمار آبی) تا حدودی سبب جبران اثرات سوء ناشی از تنش شوری شد، به طوری که بیشترین افزایش در طول (حدود ده سانتی متر) و وزن خشک (حدود ۱/۷ میلی گرم) گیاهچه‌ها در پیش تیمار نانواکسید روی+نیترات کلسیم در شرایط شوری مشاهده گردید (شکل‌های ٤ و ۵).

براساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، روش

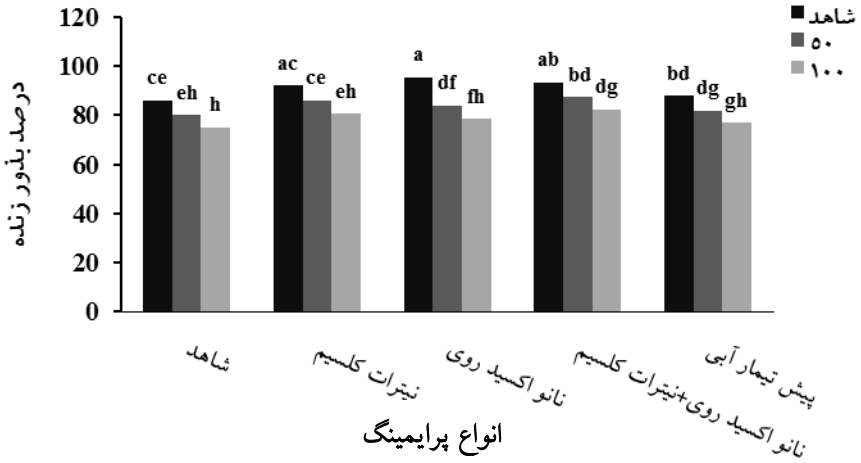
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

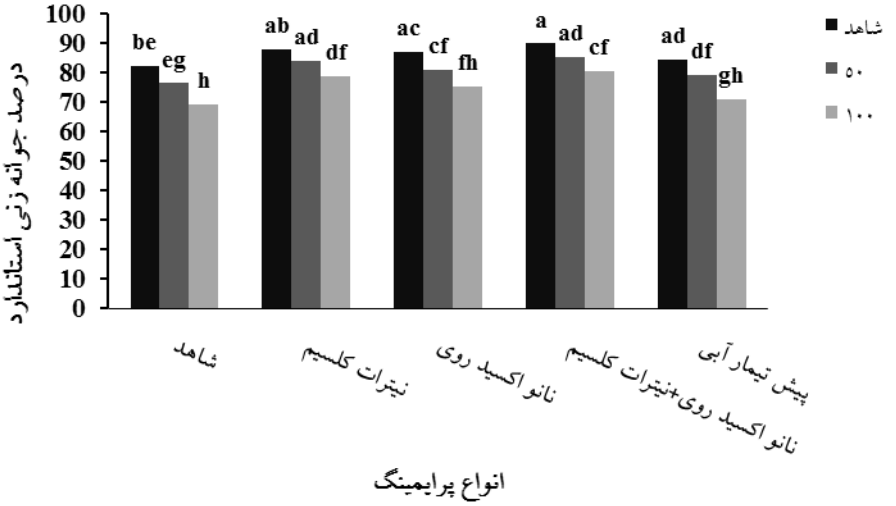
جدول۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و شوری بردرصد بذور زنده، درصد جوانه‌زنی استاندارد، میانگین زمان جوانه‌زنی بذور، طول و وزن خشک گیاهچه‌های سیاهدانه

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		درصد بذور زنده	درصد جوانه زنی استاندارد	میانگین زمان جوانه زنی	طول گیاهچه	وزن خشک گیاهچه
بلوک	۳	۱/۲**	۱۷/۲٤٤^{ns}	۰/٦۱۷^{ns}	۰/٥٥٤**	۳/۰۸۲**
پرایمینگ	٤	۱۷۹/۷۳۳**	۱٦۹/۱**	۸/۰۳۳**	۱۰/٤۰۲**	۰/۲٦٤**
شوری	۲	۱۸۰/۲٦۷**	٦٤۰/٤٦۷**	۱٦/۹٤۸**	۱۰٤/۳٦٥**	۰/٥۲٥**
پرایمینگ×شوری	۸	٦/۹۳۳**	٤۰/۸**	۰/۲۰۹**	۰/٥۸۳**	۰/۰۲۱**
خطا	٤۲	۱/۹۲	۱٦/٤۸۳	۰/۰۲۳۲	۰/۰۷۰۷	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (٪)	–	٤/۹۷	٥/۰۲	۱۰/٦۱	۲/٦۱	۱۰/۲۷

****= معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ns = غیر معنی دار**



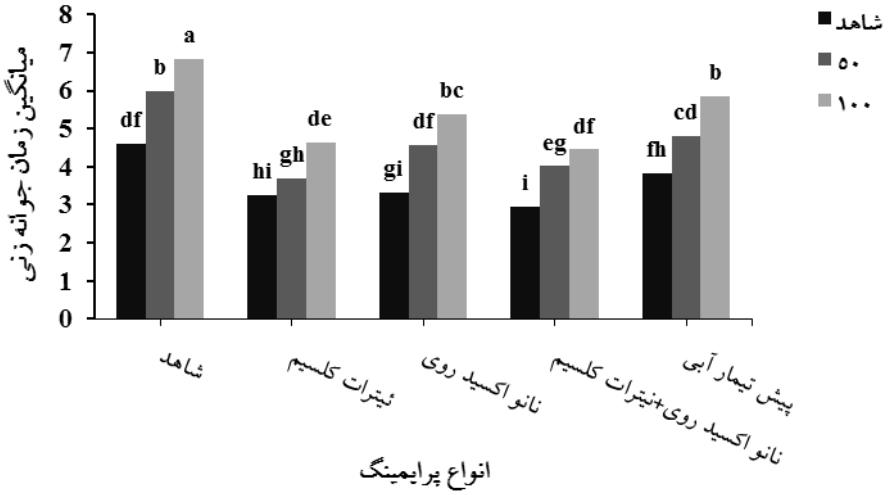
شکل ۱- میانگین درصد بذور زنده سیاهدانه متأثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



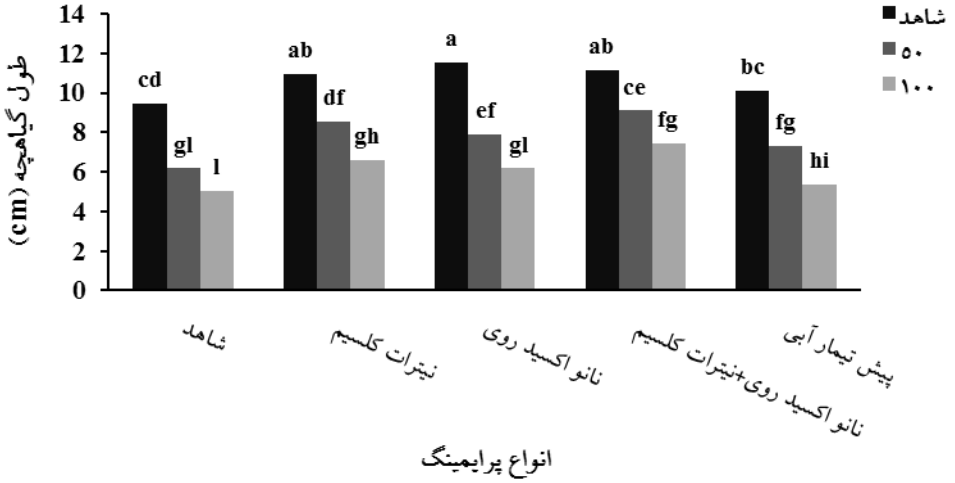
شکل ۲- میانگین درصد جوانه زنی بذور سیاهدانه متاثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

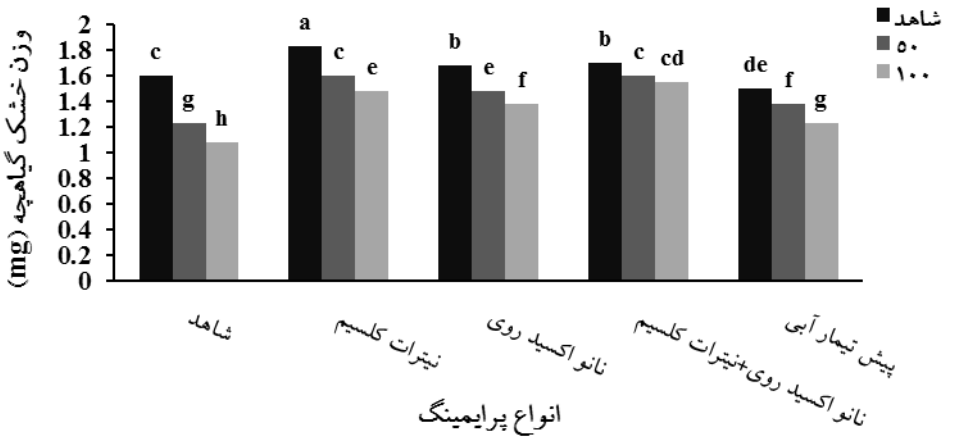
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]



شکل ۳- میانگین زمان جوانه زنی بذور سیاهدانه متأثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ٤- میانگین طول گیاهچه‌های سیاهدانه متأثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ۵- میانگین وزن خشک گیاهچه‌های سیاهدانه متأثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

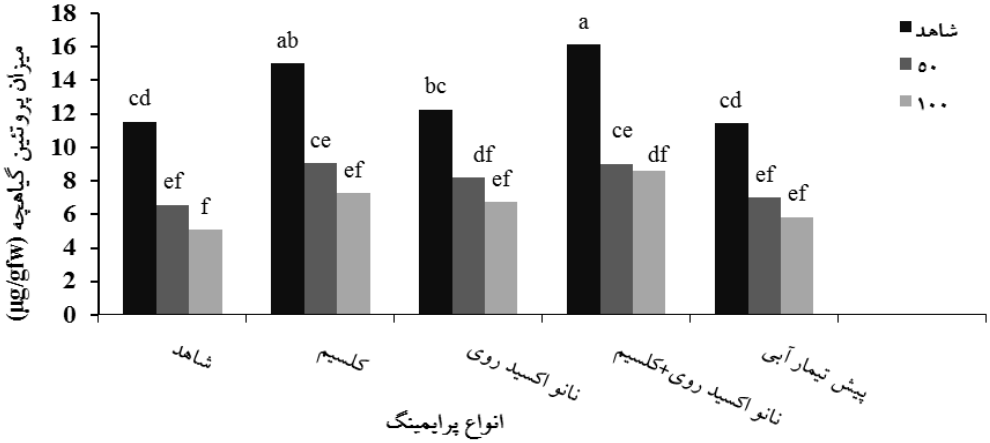
های پرایمینگ بذور سیاهدانه و سطوح شوری محیط از نظر مقدار پروتئین کل و فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه تفاوت معنی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ و شوری بر مقدار پروتئین کل و فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ی سیاهدانه

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		پروتئین کل	کاتالاز
بلوک	۳	۱۱/٤٥۱^{ns}	۰/٤۷۷**
پرایمینگ	٤	۲۷/۰۳٦**	۱٤/۳۸۸**
شوری	۲	۲۳٦/۱۲٥**	۱۳/۷٤۸**
پرایمینگ × شوری	۸	۳۰/۹۲**	٦/۳٥۱**
خطا	٤۲	٤/۷٤۹	۰/۹۸۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۲۳/۳۹	۳٥/٤٦

****= معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ns = غیر معنی‌دار**

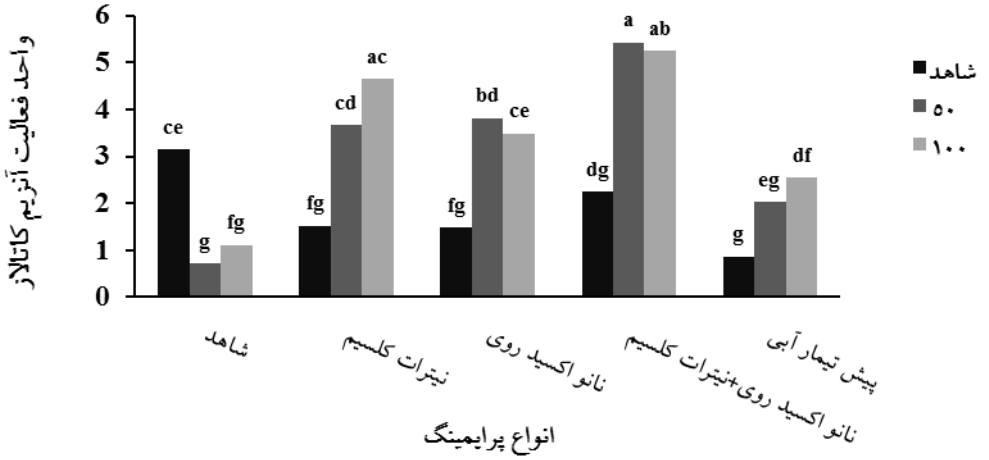


شکل ٦- میانگین میزان پروتئین گیاهچه‌های سیاهدانه متأثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند. اثرات متقابل بین پرایمینگ و شوری نیز به لحاظ این دو صفت معنی دار بود. در کل، میزان پروتئین کل گیاهچه‌ی سیاهدانه با افزایش شوری محیط جوانه‌زنی بذر به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. تکنیک پرایمینگ بذور، بهبود نسبی در میزان پروتئین کل گیاهچه ایجاد نمود. به طوری که در شوری ۵۰ میلی مولار پیش تیمار بذور با روی+کلسیم و پیش تیمار بذور با کلسیم، بالاترین میزان پروتئین کل را به خود اختصاص دادند و از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند (شکل ٦). از طرف دیگر در شرایط غیر شور نیز اثرات مثبت قابل توجه پرایمینگ با نیترات کلسیم و نانو اکسید روی+نیترات کلسیم بر محتوای پروتئین کل گیاهچه‌ی سیاهدانه در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار) کاملا مشهود بود. در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار بیش‌ترین محتوای پروتئین کل در گیاهچه‌های حاصل از بذور پرایم شده با نانو اکسید روی+کلسیم ملاحظه گردید. پیش تیمار آبی بذور نیز سبب افزایش نسبی میزان پروتئین کل گیاهچه سیاهدانه در شرایط شوری شد، ولی این افزایش جزئی از لحاظ آماری معنی دار نگردید (شکل ٦).

فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه سیاهدانه به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر تیمارهای پرایمینگ بذور قرار گرفت. به طور کلی در شرایط بدون تنش شوری، بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد (بدون پرایمینگ) مشاهده شد (شکل ۷). از طرف دیگر، با حضور نمک NaCl در بستر کشت بذور سیاهدانه تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز روند متفاوتی را بروز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]



شکل ۷- میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ی سیاهدانه متأثر از پرایمینگ بذور و سطوح شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

داد. به طوری که در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار، بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز (حدود پنج برابر شاهد) در تیمار پرایمینگ با نانو اکسید روی+نیترات کلسیم مشاهده شد. پیش تیمار آبی بذور نیز در شرایط شور سبب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه نسبت به بذور پرایم-نشده گردید. روی هم رفته، فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه سیاهدانه در شرایط تنش شوری و اعمال روش‌های مختلف پرایمینگ بذور تغییرات زیادی داشت. به طوری که در پیش تیمارهای آبی و نیترات کلسیم فعالیت آنزیم کاتالاز با شدیدتر شدن شوری روند افزایشی داشت، ولی در پرایمینگ بذور با نانو اکسید روی و همچنین نانواکسید روی+کلسیم با افزایش شوری فعالیت این آنزیم روند کاهشی جزئی غیر معنی‌دار نشان داد.

بحث:

با توجه به نتایج به دست آمده، تنش شوری به واسطه افزایش میانگین زمان و کاهش درصد جوانه‌زنی و طول و وزن خشک موجب ممانعت از رشد گیاهچه سیاهدانه گردید. این چنین اثرات بازدارنده شوری بر استقرار اولیه گیاهچه گیاه دارویی سیاهدانه با یافته‌های قبلی برخی محققان (Gulzar and Khan, 2001 ;Rajabi and Postini, 2005 ; رحیمی و همکاران، ۱۳۸۹) که روی بذر انواع گیاهان اقتصادی از جمله گیاهان دارویی پژوهش نموده‌اند مطابقت داشت. درطی تحقیقات گذشته ثابت شده است که از بین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر، درصد و سرعت جوانه زنی از مهم‌ترین خصوصیات تاثیر پذیر در شرایط تنش شوری می‌باشند (Munns, 2002; Serraj and Sinclair, 2002; Rajabi and Postini, 2005). رحیمی و همکاران (۱۳۸۹) در مطالعه‌ای که روی سیاهدانه انجام دادند گزارش نمودند که افزایش تنش شوری منجر به کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور و افزایش تعداد گیاهچه‌های غیر عادی گردید. از طرف دیگر، در شرایط تنش شوری علاوه بر اینکه درصد و سرعت جوانه زنی بذور کاهش می‌یابد، به دلیل تاخیر در جوانه‌زنی، شروع رشد گیاهچه نیز ممکن است به کندی انجام شود، که این فرآیند سبب کاهش طول و وزن خشک گیاهچه می‌گردد (Gulzar and Khan, 2001).

با وجود این، به کار گیری روش‌های مختلف پیش تیمار بذر در مطالعه حاضر توانست اثرات منفی نمک بر قابلیت جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه در سیاهدانه را تا حدود زیادی تقلیل دهد، به طوری که نتایج مشابهی در سایر آزمایش‌ها روی گیاهان مختلف شامل ذرت، برنج و نخود (Harris *et al.*, 1999)، تاج خروس زینتی (Khan *et al.*, 2003)، جو (Ajouri *et al.*, 2004)، لوبیا (Kaya *et al.*, 2007) و کلزا (محمدی و شریف زاده، ۱۳۹۳) به دست آمده است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

اثرات بهبود دهنده نسبی روش‌های مختلف پرایمینگ بذر در شرایط تنش‌های غیر زنده مانند شوری ممکن است با افزایش متابولیسم پروتئین‌ها و RNA در بذرهای پیش تیمار شده (Khan *et al*., 2003)، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (افزایش کارآیی متابولیسم مواد ذخیره‌ای بذر) و نیز افزایش سنتز پروتئین در جنین (Siviritepe and Dourado, 1995) که در نهایت جملگی منجر به افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه خواهد گردید در ارتباط باشد. Marschner (۱۹۹۵) عنوان نمود که عنصر کلسیم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک به ویژه آلفا-آمیلاز و افزایش تقسیم و توسعه سلولی و همچنین استحکام دیواره سلول‌ها در گیاهان می‌گردد. عنصر روی با تاثیر بر سیستم‌های آنزیمی و نیز تنظیم سرعت واکنش‌های متابولیکی، به رشد و توسعه گیاهچه کمک می‌کند (Price, 1970). از دیگر نقش‌های این عنصر فلزی، نقش آن در ایجاد یک سیستم دفاعی سلولی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است (Murray, 1989). از طرف دیگر، روی نقش اساسی در حفاظت و نگهداری (استحکام) ساختمان غشاهای سلولی (Cakmak *et al*., 1999) ایفا می‌کند. علیرغم عدم استفاده از ترکیبات شیمیایی مختلف حاوی روی در این آزمایش، به نظر می‌رسد نانو اکسید روی به دلیل برخورداری از اندازه ذرات بسیار ریز و سطح ویژه بیشتر در مقایسه با سایر نمک‌های این عنصر از مزیت بالاتری در جذب توسط سلول های بذری و انتقال بعدی برخوردار باشد. بنابراین، با توجه به افزایش تولید ROS و در نتیجه تخریب غشاهای زیستی و دیواره سلولی به واسطه تنش شوری (Bhattacharjee and Mukherjee, 2002; Ashraf and McNeilly 2004)، می‌توان دلایل احتمالی تأثیر مثبت و ترمیمی پرایمینگ بذر با نانو اکسید روی و نیترات کلسیم بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و توسعه گیاهچه سیاهدانه تحت تنش شوری را موارد ذکر شده در بالا دانست.

با توجه با نتایج آزمایش، با افزایش سطوح شوری به طور قابل ملاحظه‌ای پروتئین گیاهچه‌های سیاهدانه کاهش یافت. در این راستا Dubey (۱۹۹۹) گزارش نمود که، شوری با کاهش سنتز پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک میزان پروتئین را در گیاه کاهش می‌دهد. از آنجا که ROSهای تولیدی در شرایط تنش شوری باعث تخریب پروتئین می‌شود، لذا برای خنثی نمودن تخریب ROSها، تغییر کمی پروتئین‌هایی که نقش مهمی در به دام انداختن ROS دارند، از قبیل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کربونیک آنیدراز نقش مهمی را ایفا می‌کنند (Caruso *et al*., 2009). در این مطالعه نیز مقدار بیان آنزیم کاتالاز تحت تنش شوری افزایش یافت. آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین اجزای سیستم آنتی اکسیدان می‌باشد که با شدت تنش افزایش می‌یابد و با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان تحت تنش را افزایش بیش‌تری داد (Moosavi *et al*., 2009). برای مثال گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پرایم شده خربزه در مقایسه با گیاهچه‌های رشد یافته از بذرهای پرایم نشده، فعالیت کاتالاز بیش‌تری را نشان داند (Farhoudi *et al*., 2007). دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش‌های محیطی در اثر پرایمینگ، می‌تواند به واسطه بهبود و تسریع ساخت DNA در بافت‌ها جنینی در مدت پرایمینگ باشد. لذا با توجه به اثر عنصر روی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان (Murray, 1989) و همچنین ضرورت حضور عنصر کلسیم جهت فعال سازی پروموتورهای ژن‌های تنشی (Sheen, 1996)، بهبود فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوی پروتئینی گیاهچه‌های سیاهدانه تحت تاثیر پرایمینگ بذور با نانواکسید روی و نیترات کلسیم قابل توجیه است.

نتیجه‌گیری:

پیش تیمار بذور با نانو اکسید روی، افزایش قابلیت جوانه‌زنی بذر و توسعه گیاهچه در شرایط غیر تنش (شاهد) را باعث شد. از طرف دیگر، در تنش شوری از سودمندی پرایمینگ با نانو اکسید روی در مقایسه با شاهد (عدم اعمال شوری) به طور قابل ملاحظه‌ای کاسته شد. در کل، پرایمینگ بذور با نیترات کلسیم و نیترات کلسیم+نانو اکسید روی موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه سیاهدانه در شرایط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

وقوع تنش شوری گردید. با توجه به گزارش‌های متعدد مبنی بر اثرات مثبت و محرک عنصر کلسیم در رفع آسیب‌های ناشی از تنش شوری و در نتیجه القای تحمل به تنش در گیاهان، می‌توان کاربرد انواع ترکیبات معدنی کلسیم دار نظیر نیترات کلسیم را به منظور پرایمینگ بذور گیاهان اقتصادی توصیه نمود. مطالعات ما در راستای ارزیابی بیشتر و دقیق‌تر در ارتباط با اثرات مثبت و محرک پرایمینگ بذر بر افزایش قابلیت تحمل گیاهان اقتصادی مختلف علی‌الخصوص گیاهان دارویی به تنش‌های محیطی از جمله شوری و نیز بررسی جزئیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پاسخ‌های گیاهی در این زمینه کماکان ادامه دارد.

منابع:

رحیمی، ا.، شمس الدین سعید، م.، اعتمادی، ف. (۱۳۸۹) اثر تنش شوری بر جوانه زنی، رشد رویشی و مقادیر یونی سیاهدانه . فصلنامه علمی- پژوهشی خشک بوم، ۱: ۲۰-۳۰.

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

محمدی، ی.، شریف زاده، ف. (۱۳۹۳) اثر پرایمینگ با کلسیم کلرید بر مولفه‌های جوانه زنی و رشد اولیه بذر کلزا در شرایط تنش شوری. سیزدهمین گنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر، کرج، ٦-٤ شهریور،۸۷-۹۲ .

ملکوتی، ج.، جیرفتی، م.، لطف‌اللهی، م. (۱۳۷۸) نقش روی در افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی سلامتی جامعه، چاپ اول، نشر آزمون کشاورزی، تهران.

یاوری، ا.، صادقیان، ی.، مصباح، م. (۱۳۸۰) استفاده از مانیتول به عنوان عامل تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه چغندرقند در کشت درون شیشه. مجله چقندرقند ۱۷: ۳۷-۴۳.

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method enzymol 105: 121-126.

Ajouri, A., Asgedom, H. and Becker, M. (2004) Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 167:630–636.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2005) Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. Advances in Agronomy 88: 223-271.

Ashraf, M. and T. McNeilly. (2004) Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Review of Plant Science 23: 157-174.

Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A. K. (2002) Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. Seed Science and Technology 30: 279-287.

Bort, J., Araus, J. L., Hazzam, H., Grando, S. and Ceccarelli, S. (1998) Relationships between early vigor, grain yield, leaf structure and stable isotope composition in field grown barley. Plant Physiology and Biochemistry 36: 889-897.

Bradford, K. Y. (1986) Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. Horticultural Science 21: *1105-1112*.

Cakmak, I., Kalayci, M., Ekiz, H., Braun, H. J., Yilmaz, A. (1999) Zinc deficiency as an actual problem in plant and human nutrition in Turkey: A NATO – Science for Stability Project. Field Crops Research 60: 175-188.

Caruso, G., Cavaliere, C., Foglia, P., Gubbiotti, R., Samperi, R. and Lagana, A. (2009) Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. Plant Science 177: 570–576.

Dubey, R. S. (1999) Protein synthesis by plants under stressful conditions. In: handbook of plant and crop stress. (ed. Pessarakli, M.) Pp. 153-167. New York. Marcel Dekker, USA.

Ellis, R. and Roberts E. (1981) The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology 9: 373-409.

Farhoudi, R., Sharifzadeh, F., Poustini, K., Makkizadeh, M.T. and Kochakpor, M. (2007) The effects of NaCl priming on salt tolerance in canola (*Brassica napus* L) seedlings grown under saline conditions. Seed Science and Technology 35 :754-759.

Filippo, L., Moretti, A. and Lovat, A. (2002) Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. And *Nigella damascena* L. Industrial Crops and Products 15: 59-69.

Graham, R. D. and Rengel, Z. (1993) Genotypic variation in zinc uptake and utilization by plants. In:

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]

353-358.

Munns, R. and James, R. A. (2003) Screening method for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil 253: 201-218.

Munns, R. (2002) Comparative physiology ofsalt and water stress. Plant, Cell and Environment 25: 239-250.

Murata, M. R., Zharare, G. E. and Hammes, P. S. (2008) Pelleting or priming seed with calcium improves groundnut seedling survival in acid soils. Journal of Plant Nutrition 31: 1736-1745.

Murray, D. R. (1989) Biology of food irradiation. Research Studies Press. U. K.

Price, G. (1970) Molecular Approaches to plant physiology. Me Grow Hill book co., New york, 338 Pp.

Rajabi, R. and Postini, K. (2005) Effect of NaCl on thirty caltivars of bread wheat seed germination. Journal of Agricultural Science 27: 29-45.

Serraj, R. and Sinclair, T. R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? Plant Cell Environment 25, 333-341.

Sheen, J. (1996) Ca^{2+}-dependent protein kinases and stress signal transduction in plants. Science 274:1900–1902.

Siviritepe, H. O., and Dourado, A. M. (1995) The effects of priming treatments onthe viability and accumulationof chromosomal damage in aged pea seeds. Annual Botany 75: 165-171.

Yilmaz, A., Ekiz, H., Gültekin, I., Torun, B., Barut, H., Karanlik, F. and Cakmak, I. (1998) Effect of seed zinc content on grain yield and zinc concentration of wheat grown in zinc-deficient calcareous soils. Journal of Plant Nutrition 21: 2257- 2264.

Zinc in Soils and Plants (ed. Robson, A. D.) Pp. 107-118. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Gulzar, S., Khan, M. A. (2001) Seed germination of a halophytic grass *Aeluropus lagopoides.* Annals of Botany 87 319- 324.

Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P. and Sodhi, P. S. (1999) On-farm seed priming in semi-arid agriculture: Development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. Experimental Agriculture 35:15-29.

Jones, M. J. and Wahbi, A. (1992) Site-factor influence on barley response to fertilizer in on-farm trials in northern Syria: descriptive and predictive models. Experimental Agriculture 28: 63- 87.

Kaya, M., Atak, M., Khawar, K. M., Çiftçi, C. Y., Ozcan, S. (2007) Effect of pre-sowing seed treatment with zinc and foliar spray of humic acids on yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). International Journal of Agriculture and Biology 7: 875-878.

Khan, M., Qasim, M., Javid Iqbal, M., Naeem, A. and Abbas, M. (2003) Effectof seed humidification on germinability, vigor and leakage in Cockscom (*Celosia argentea* L.). International Journal of Agriculture and Biology 5: 499-503.

Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed., Academic Press.

McDonald, M. B. (2000) Seed Priming. In: Seed Technology and Its Biological Basis (ed. Black, M. and Bewley, J. D.) Pp. 287-325. Sheffield Academic Press, Sheffield.

Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. (2009) Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, andperoxidase activities of four amaranth cultivars. Journal of Food Agriculture and Environment 7:

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7]