

اثر پیش تیمار بذر گاوزبان بر برخی از خصوصیات بیوشیمیایی نشا در شرایط تنش شوری

عبدالکریم سرشتی^۱، پژمان مرادی^{۲*} و ابراهیم هادوی^۳

۱ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۳)

چکیده

شوری، از تنش‌های محیطی است که تاثیر منفی بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهان دارد؛ در نتیجه عملکرد کمی و کیفی را کاهش می‌دهد. بدین منظور، آزمایشی به صورت شوری در چهار سطح (۱، ۳، ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر) و پرایمینگ در شش سطح (بدون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ، آسکوربیک‌اسید ۱۰ و ۲۰ و هیومیک‌اسید ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار، در کرج انجام شد. نتایج نشان داد که میزان کلروفیل کل، پرولین، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX)، به طور معنی‌داری تحت تاثیر پرایمینگ قرار دارند. در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک‌اسید، میزان پرولین (۳۲/۲۴ میکروگرم بر گرم)، کاتالاز (۲/۹۴ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین) و سوپراکسیددیسموتاز (۰/۲۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد. در تیمار هیومیک‌اسید ۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر نیز، میزان کلروفیل ۰/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک‌اسید در شرایط تنش ۹ دسی‌زیمنس بر متر، بیشترین میزان پراکسیداز به میزان ۵/۳۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین را به خود اختصاص داد. در این آزمایش، تیمار هیدروپرایمینگ در تمامی صفات، راندمان قابل قبولی نداشت.

واژه‌های کلیدی: آسکوربیک‌اسید، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گیاهان دارویی.

The effect of seed priming on biochemical characteristics of Borage (*Borago officinalis*) transplant in salt stress conditionAbdolkarim Sereshti¹, Pezhman Moradi^{2*} and Ebrahim Hadavi³

1, 3. Former M. Sc. Student and Assistant Professor, College of Agriculture Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2. Associate Professor, College of Agriculture Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

(Received: Oct. 19, 2016 - Accepted: Sep. 25, 2017)

ABSTRACT

Salinity stress, is one of the environmental stresses that has negative effects on seed germination and plant establishment in a soil and reduced the quantitative and qualitative performance indices of plants. For this purpose, salinity in four levels (1, 3, 6, and 9 ds/m) and priming in six levels – including no-priming, hydropriming, ascorbic acid in 10 and 20 mg/l and humic acid in 100 and 200 ml/l – were used. This experiment carried out in a factorial test based on completely randomized design with three replications. Results demonstrated that studied traits were significantly influenced by priming treatments. In the treatment of 20 mg of ascorbic acid, proline content (32.24 micrograms per gram), catalase activity (2.94 mol mg protein), and superoxide dismutase activity (0.28 U mg protein) were observed. The treatment of humic acid (200 ml/l) increased chlorophyll content to 0.57 mg/gFw. The treatment of ascorbic acid in 10 mg/l in extreme conditions of salinity (9 ds/m) showed the highest rate of peroxidase (5.34U/mg). In this experiment, the treatment of hydropriming had not acceptable efficiency in all traits.

Keywords: Ascorbic acid, Catalase, Peroxidase, Medicinal Plant, Superoxide dismutase.

مقدمه

گیاه گاوزبان^۱ گیاهی علفی، یک‌ساله به ارتفاع ۱۵ تا ۷۰ سانتی‌متر و دارای ساقه منشعب شیاردار و پوشیده از تارهای خشن است؛ خاستگاه آن سوریه است، اما احتمالاً برخی گونه‌های Borago از نواحی شمال آفریقا نیز منشأ گرفته‌اند (Omidbaigi, 2014). بحرانی‌ترین مرحله زندگی هر محصول، زمان جوانه‌زنی و سبز شدن آن است؛ زیرا در این مرحله، بذر در معرض شرایط نامساعد محیطی قرار می‌گیرد و استقرار بوته در مزرعه دچار مشکل می‌شود. یکی از روش‌های غلبه بر این مشکل، استفاده از روش پیش‌تیمار بذرها، قبل از فرایند جوانه‌زدن است که پرایمینگ نام دارد. گزارش‌های مختلفی حاکی از آن است که پرایمینگ باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می‌شود (Campoy *et al.*, 2011). در تحقیقی که بر روی گیاه مرزنجوش^۲ انجام گرفت، غلظت‌های متفاوت آسکوربیک‌اسید (ASA) بر روی گیاهان تحت شرایط شوری نمک (NaCl) به کار رفت؛ نتایج نشان داد که آسکوربیک‌اسید می‌تواند ضمن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به بیش از ۵ برابر شاهد، به نحو مؤثرتری از فعالیت رادیکال‌های آزاد، تحت شرایط تنش شدید شوری جلوگیری کرده و بقای بیشتر گیاه را تضمین نماید (Selahvarzi *et al.*, 2011). هیومیک‌اسید می‌تواند باعث کاهش اثرات منفی تنش‌هایی مانند گرما، شوری، pH و غیره شود. ترکیبات هیومیکی به‌طور مؤثری باعث افزایش نفوذپذیری غشا، تسهیل نقل و انتقال عناصر ضروری در ریشه، تسهیل جذب اکسیژن و فسفر، افزایش کارایی تنفس و فتوسنتز و طول‌شدن ریشه می‌شوند (Daneshvar Hakimi Meybodi *et al.*, 2011). در پژوهشی مشخص شد که طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در گیاه مرزه^۳ در شرایط تنش شوری (۴ دسی‌زیمنس بر متر) و تیمار یک درصد هیومیک‌اسید، به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (Khalesro *et al.*, 2015). با توجه به اهمیت استقرار

بذر و همچنین توسعه شوری در آب‌ها و اراضی کشاورزی کشور، این تحقیق با هدف مطالعه و ارزیابی اثر پرایمینگ بر برخی از خصوصیات بیوشیمیایی نشا گیاه دارویی گاوزبان در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بهار سال ۱۳۹۵، در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل شوری در چهار سطح (۱، ۳، ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر) و پرایمینگ در شش سطح (بدون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ، آسکوربیک‌اسید ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و هیومیک‌اسید ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) بودند که در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، در ۳ تکرار انجام شد. برای این منظور، بذور گیاه دارویی گاو زبان، بعد از ضدعفونی و آب‌کشی در پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. سپس برای پیش‌تیمار بذرها در محلول‌ها، به مدت ۶ ساعت در تاریکی و دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند (Metwally *et al.*, 2003). پس از این مرحله، بذرها تیمار شده در سینی‌های کشت حاوی پرلیت و کوکوپیت (هر یک به نسبت ۴۵ درصد) و ورمی‌کمپوست (به نسبت ۱۰ درصد) کشت شدند. به‌منظور اعمال تنش شوری، آبیاری بذور با محلول کلریدسدیم، مطابق تیمارهای آزمایش، انجام شد. بعد از هر چند بار آبیاری با کلریدسدیم، یک بار آبیاری با آب‌مقطر انجام شد تا از انباشته شدن نمک در بستر کشت جلوگیری شود. شش هفته پس از کشت بذور، میزان کلروفیل کل، پرولین، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) اندازه‌گیری شد. همه تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹-۱ انجام شد.

نتایج و بحث

همان‌گونه که در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص است، تیمارهای مورد آزمایش بر تمامی صفات دارای اثرات معنی‌دار بودند ($P \leq 0.01$)؛ اما اثرات متقابل تیمارها، فقط در صفت میزان پرولین و آنزیم کاتالاز، اثر معنی‌داری نداشت.

1. *Borago officinalis*
2. *Origanum majorana* L.
3. *Satureja hortensis* L.

معنی‌داری بر افزایش میزان پرولین داشت و موجب افزایش ۴۷/۸۸ درصدی میزان پرولین نسبت به تیمار شاهد شد. پیش از این نیز نقش مثبت آسکوربیک‌اسید در افزایش غلظت اسیدآمینه پرولین گزارش شده بود (Emam & Helel, 2008). نتایج تیمارهای مختلف پرایمینگ بر میزان کاتالاز، بیان‌گر نقش مثبت آسکوربیک‌اسید، به‌ویژه در غلظت بالا، بر این صفت است.

نتایج مقایسه میانگین تیمار شوری و پرایمینگ نشان می‌دهد بالاترین میزان کلروفیل در تیمار بدون شوری و در کاربرد ۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد (جدول ۳). با افزایش شوری به‌شدت از میزان کلروفیل کاسته شد؛ اما آنچه مشخص است این است که پرایمینگ با ترکیبات شیمیایی، توانست از کاهش کلروفیل جلوگیری نماید. بیشتر گزارش‌ها نشان می‌دهند که محتوای کلروفیل کل، تحت تنش شوری کاهش می‌یابد و برگ‌های پیر و نکرزه شده، با ادامه دوره شوری شروع به ریزش می‌نمایند (Parida & Das, 2005). این کاهش ممکن است نتیجه تشکیل آنزیم‌های پروتئولیتیک نظیر کلروفیلاز، در شرایط تنش اسمزی ناشی از شوری باشد که باعث تجزیه کلروفیل می‌گردد و به سیستم فتوسنتزی آسیب می‌رساند (Tuna et al., 2008).

مقایسه میانگین‌های اثر پرایمینگ بر میزان پرولین نشان داد که تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک‌اسید با افزایش ۴۷/۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد، در بیشترین حد خود بود (جدول ۲). در شرایط حداکثری تنش شوری، فعالیت کاتالاز به‌میزان ۵۱ درصد و به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بر میزان کاتالاز نشان داد که تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک‌اسید بیشترین میزان فعالیت کاتالاز (۶۲/۴ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد) و تیمار شاهد، کمترین میزان کاتالاز را داشتند (جدول ۲). در شرایط فاقد شوری (۱ دسی‌زیمنس بر متر) و استفاده از ۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر هیومیک‌اسید، باعث تولید بیشترین میزان کلروفیل کل در گیاه شده است (۵۰/۶ درصد بیشتر از تیمار شاهد)؛ درحالی‌که در شرایط تنش بسیار شدید شوری، در حداقل میزان خود بود. افزایش میزان پرولین، همزمان با تشدید تنش شوری، روی گیاه ارزن پادزهری نیز مشاهده شده بود. براساس این گزارش یکی از مکانیسم‌های مهم تحمل به شوری در گیاهان، تجمع محلول‌های سازگار مانند پرولین، گلايسین‌بتائين و مواد مشابه است (Eshghizadeh et al., 2011). استفاده از تیمارهای آزمایش به‌ویژه آسکوربیک‌اسید در شرایط تنش شوری، تأثیر

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده بذر گاو زبان تحت تأثیر شوری و پرایمینگ

Table 1. Variance analysis of measured traits under effect of salinity and priming

SOV	df	Mean of Squares				
		Chlorophyll	Proline	SOD	CAT	POX
Salinity	3	0.494**	385.11**	0.094**	2.988**	100.92**
Priming	5	0.092**	194.76**	0.017**	1.896**	26.11**
Sal. × Prim	15	0.007**	22.50 ^{ns}	0.001**	1.26 ^{ns}	1.89**
Error	48	0.0009	15.62	0.00012	0.089	0.221
C.V. (%)		13.62	14.11	13.90	12.21	12.77

***, **, * و ns: معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار.

***, **, *, ns: Significant differences at 5% and 1% of probability levels, and non-significant, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر پرایمینگ بذر گاو زبان بر صفات بیوشیمیایی

Table 2. Mean comparison of priming effects on biochemical characteristics

Traits	Priming					
	Control	Hydropriming	ASA10 (mg/lit)	ASA20 (mg/lit)	Hu.100 (ml/lit)	Hu.200 (ml/lit)
Chlorophyll mg g ⁻¹ .FW	0.38c	0.45b	0.57a	0.61a	0.51b	0.57a
Proline content (µg g ⁻¹)	23.83d	26.85cd	30.07bc	35.24a	28.59c	32.31ab
Catalase (µmol mg ⁻¹ protein)	1.81d	2.16c	2.37c	2.94a	2.37c	2.68b
SOD U mg ⁻¹ protein	0.17e	0.20d	0.24bc	0.28a	0.23cd	0.26ab
POX U mg ⁻¹ protein	6.09c	6.46c	9.01a	9.73a	7.53b	8.80a

حروف مشترک در هر ردیف بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها بر پایه آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

Means within a row followed by the same letter are not significantly different at p<0.05 according to the Duncan's test.

شوری، بیشترین میزان پراکسیداز را به خود اختصاص داد (۵۳/۴ درصد بیشتر از تیمار شاهد)؛ و به همراه چهار تیمار دیگر، در گروه برتر آماری قرار گرفتند (جدول ۳). در تحقیقی گزارش شد که کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیدازها، بخشی از سیستم آنتی اکسیدانی گیاهان هستند که در پاسخ به شرایط تنش (شوری)، میزان بیان ژن این آنزیم‌ها و در نتیجه فعالیت آن‌ها افزایش پیدا می‌کند (Selahvarzi *et al.*, 2011).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاکی از تأثیر مثبت استفاده از تکنیک پرایمینگ بذر، در شرایط تنش شوری بود. تقریباً در تمامی صفات، بذرها پرایم شده، وضعیت بهتری نسبت به شاهد (عدم استفاده از پرایمینگ) داشتند. در بین تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق، به ترتیب اسیدآسکوربیک و اسیدهیومیک دارای بیشترین اثر بودند. هیدروپرایمینگ در بیشتر صفات، اثر مثبت و معنی‌داری نداشت.

در آزمایشی کاربرد مواد دارای هیومیک در مزرعه، انباشتگی پتاسیم، کلسیم، منیزیم و آهن را در برگ‌های زیتون افزایش داد؛ در این آزمایش، انباشته شدن آهن در برگ‌ها، یکی از دلایل اصلی افزایش رنگدانه کلروفیل عنوان شد (Fernandez- Escobar *et al.*, 1996).

استفاده از ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط تنش بسیار شدید شوری، باعث افزایش ۲۷۴ درصدی میزان سوپراکسیددیسموتاز شد (جدول ۳). روند تغییرات سوپراکسیددیسموتاز در شرایط مختلف آزمایش نیز بیانگر وجود پیچیدگی در تفسیر نتایج است؛ به طوری که تیمارهای مختلف هیومیک اسید و آسکوربیک اسید در برخی از سطوح شوری نقش هم‌افزایی^۱ و در سطوح دیگر شوری نقش متضاد^۲ داشتند. افزایش آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تحت تأثیر آسکوربیک اسید، در گیاه باقلا نیز گزارش شده بود (Younis *et al.*, 2010). تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط تنش بسیار شدید

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پرایمینگ بذر گاو زبان بر صفات کلروفیل، SOD و پراکسیداز

Table 3. Mean comparison of salt-priming interaction on Chlorophyll, SOD and POX

Salinity (dS/m)	Priming	Traits		
		Chlorophyll mg g ⁻¹ .FW	SOD U mg ⁻¹ protein	POX U mg ⁻¹ protein
1	Control	0.5466 d-f	0.1033 l	7.9633 f-j
	Hydropriming	0.6033 c-e	0.2766 c-g	9.4367 c-g
	ASA10 (mg/lit)	0.7600 ab	0.3466 ab	5.1567 mn
	ASA20 (mg/lit)	0.7400 ab	0.1500 i-l	11.3633 a-c
	Hu.100 (ml/lit)	0.6333 b-d	0.2866 b-f	9.5933 c-g
	Hu.200 (ml/lit)	0.8233 a	0.3366 a-c	10.3633 a-e
3	Control	0.4133 g-j	0.2133 g-i	6.8967 i-m
	Hydropriming	0.4866 e-i	0.2533 e-g	6.8867 i-m
	ASA10 (mg/lit)	0.6900 bc	0.2566 e-g	10.8033 a-d
	ASA20 (mg/lit)	0.6500 b-d	0.3066 b-e	12.0833 ab
	Hu.100 (ml/lit)	0.6500 b-d	0.2700 d-g	8.3700 e-i
	Hu.200 (ml/lit)	0.6433 b-d	0.3266 a-d	9.9633 c-f
6	Control	0.3566 i-k	0.1733 h-k	5.9567 j-m
	Hydropriming	0.4700 f-i	0.1833 h-j	5.8867 k-m
	ASA10 (mg/lit)	0.5033 e-h	0.2266 f-h	7.8867 g-k
	ASA20 (mg/lit)	0.6833 bc	0.2800 c-g	10.1600 b-e
	Hu.100 (ml/lit)	0.4833 e.i	0.2400 e-h	7.2933 h-l
	Hu.200 (ml/lit)	0.5333 d-g	0.2333 f-h	9.1233 d-h
9	Control	0.2066 l	0.2233 f-h	3.5500 n
	Hydropriming	0.2633 kl	0.1166 kl	3.6600 n
	ASA10 (mg/lit)	0.3333 j-l	0.1566 i-l	12.2200 a
	ASA20 (mg/lit)	0.3866 h-k	0.3866 a	5.3367 mn
	Hu.100 (ml/lit)	0.2766 kl	0.1466 j-l	4.8767 mn
	Hu.200 (ml/lit)	0.3066 j-l	0.1766 h-k	5.7533 m

حروف مشترک در هر ستون بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها بر پایه آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) است.

Means within a column followed by the same letter are not significantly different at p < 0.05 according to the Duncan's test.

1. Synergism
2. Antagonism

REFERENCES

1. Campoy, J. A., Ruiz, D. & Egea, J. (2011). Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: a review. *Scientia Horticulturae*, 130 (2), 357-372.
2. Daneshvar Hakimi Meybodi, N., Kafi, M., Nikbakht, A. & Rejali, F. (2011). The effect of humic acid on some qualitative and quantitative traits of Speedy green (*Lolium perenne* L.) turfgrass. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 42 (4), 403- 412. (in Farsi)
3. Emam, M. M. & Helal, N. M. (2008). Vitamins Minimize the Salt-Induced Oxidative Stress Hazards. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2, 1110-1119.
4. Eshghizadeh, H., Kafi, M. & Nezami, A. (2011). Effect of NaCl salinity on the pattern and rate of root development of blue panic grass (*Panicum antidotale* Retz.). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 5 (18), 11-24. (in Farsi)
5. Fernandez-Escobar, R., Benlloch, M., Barranco, D., Duenas, A. & Guterrez Ganan, J.A. (1996). Response of olive trees to foliar application of humic substance extracted from leonardite. *Scintia Horticulturae*, 66, 191-200.
6. Khalesro, S., Salehi, M. & Mahdavi. B. (2015). Effect of humic acid and salinity stress on germination characteristic of savory (*Satureja hortensis* L.) and dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Biological Forum-An International Journal*, 7(2), 554-561.
7. Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. & Dietz, K. J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Physiology and Biochemistry of Plant*, 132, 272- 281.
8. Omidbaigi, R. (2014). *Production and Processing of Medicinal Plants*. (4th Ed.). Astan Ghods Razavi Publication. (in Farsi)
9. Parida, K. A. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
10. Selahvarzi, Y., Goldani, M., Nabati, J. & Alirezai, M. (2011). Effect of exogenous application of hydrogen peroxide on some salt tolerance indices in oregano (*Origanum majorana* L). *Journal of Horticulture Science*, 43(2), 159-167. (in Farsi)
11. Tuna A. L., Kaya, C., Dikilitas, M. & Higgs, D. (2008). The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental of Botany*, 62, 1-9.
12. Younis, M. E., Hasaneen, M. N. A. & Kazamel, A. M. S. (2010). Exogenously applied ascorbic acid ameliorates detrimental effects of NaCl and mannitol stress in *Vicia faba* seedlings. *Protoplasma*, 239, 39-48.