علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره چهارم/ ۱۳۹۹ (۴۶۱ - ۴۴۷)

DOI: 10.22124/JMS.2020.4642

بررسی تاثیر هالوپرایمینگ بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت دانه‌ای سینگل کراس ۷۰۴ در شرایط تنش شوری

مرضیه خورکی[۱]، روزبه فرهودی[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۸/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۴

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تاثیر پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی و خصوصیات فیزیولوژیک گیاهچه ذرت در قالب دو آزمایش جداگانه به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در هر دو آزمایش، عامل اول محلول پرایمینگ حاصل از نمک‌های سولفات سدیم، کلرید سدیم و نیترات پتاسیم به غلظت دو درصد و عامل دوم سطوح تیمار شوری (۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. نتایج نشان داد تنش شوری در بذرهای پرایم‌شده و پرایم‌نشده سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و پایداری غشا سلولی گیاهچه ذرت شد، البته پرایمینگ بذر با محلول‌های نمکی سبب کاهش تاثیر منفی تنش شوری بر رشد گیاهچه ذرت شد. پرایمینگ بذر با محلول نیترات پتاسیم و کلرید سدیم در مقایسه با نمک سولفات سدیم تاثیر مثبتی بر درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، غلظت اسید جیبرلیک و اکسین و غلظت پتاسیم گیاهچه ذرت در شرایط تنش شوری داشت. در سطح تنش شوری ۸۰ میلی-مولار کلرید سدیم، بیش‌ترین طول گیاهچه در بذرهای تیمارشده با نمک‌های نیترات پتاسیم به‌میزان ۱۳ سانتی‌متر مشاهده شد. در شرایط تنش شوری شدید، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت گیاهچه در بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم (۰/۰۲۲ نانومول بر گرم بافت تازه برگ) مشاهده شد. همچنین پرایمینگ بذر ذرت با محلول نیترات پتاسیم توانست از روند کاهش شدید غلظت اسید جیبرلیک و اکسین تحت تاثیر تنش شوری جلوگیری نماید. در مجموع بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم بیش‌ترین رشد گیاهچه ذرت در شرایط تنش شوری را داشتند.

واژه‌های کلیدی: آلفا آمیلاز، آنزیم آنتی‌اکسیدانت، پتاسیم، طول گیاهچه، هورمون گیاهی

۱- دانش آموخته، علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران
۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران
*نویسنده مسئول: rfarhoudi@gmail.com

مقدمه

بهره‌وری پایین گیاهان زراعی در بسیاری از موارد، به تنش‌های محیطی نسبت داده می‌شود .در بسیاری از نقاط دنیا، گیاهان اغلب با تنش‌های غیر زیستی مانند شوری، خشکی، بالا و یا پایین‌بودن دما و مسمومیت با فلزات مواجه‌اند که تهدید جدی برای تولید گیاهان محسوب می‌شوند (Ahmad and Prasad, 2012). تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محدودکننده رشد گیاهان زراعی است که با تاثیرگذاری بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، گسترش سطح برگ و فتوسنتز سبب تاثیر منفی بر رشد نهایی و عملکرد گیاهان می‌گردد. مرحله جوانه‌زنی یکی از مراحل مهم و حساس در فرآیند رشد و نمو گیاهان است که تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی نظیر تنش شوری قرار می‌گیرد، لذا هر گونه اختلال در فرآیند جوانه‌زنی موجب تاخیر در استقرار و رشد گیاه می‌شود. محققین تنش شوری را تجمع یون‌هایی نظیر سدیم، پتاسیم، سولفات و کلر در محیط ریزوسفر بیان نمودند، به‌نحوی که رشد و نمو طبیعی گیاه را مختل سازد (Cavalanti *et al*., 2007; Ashraf and McNeilly, 2004).

تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی با تاثیر منفی بر جذب آب توسط بذر و ایجاد خشکی کاذب (Bajehbaj, 2010)، تجمع یون‌های مضر نظیر سدیم (Munns and James, 2003) و اختلال در فرآیندهای آنزیمی و تعادل هورمون‌های گیاهی در خلال جوانه‌زنی (Nawaz *et al*., 2011) سبب کاهش جوانه‌زنی و آسیب‌پذیری گیاهچه می‌گردد. تحقیقات نشان داد که تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی ذرت موجب تاخیر در جوانه‌زنی، کاهش رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه و کاهش درصد جوانه‌زنی بذر شد (Zorb *et al*., 2013). در شرایط تنش شوری تجمع یون سدیم در بافت گیاهچه ذرت سبب اختلال در فرآیند جوانه‌زنی، کاهش سرعت جوانه‌زنی و کاهش رشد گیاهچه ذرت شد (Bakht *et al*., 2011). یکی از خسارت‌های تنش شوری که منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌گردد، کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز است. آنزیم آلفاآمیلاز با هیدرولیز ذخایر قندی بذر، انرژی لازم جهت رشد گیاهچه و تکمیل فرآیند جوانه‌زنی را بر عهده دارد. تنش شوری یکی از عوامل محیطی است که فعالیت این آنزیم در خلال جوانه‌زنی را کاهش داده و منجر به کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر می‌شود (Kato-Noguchi and Macias, 2008).

تخریب غشاهای سلولی و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از دیگر اثرات تنش شوری بر رشد گیاهان در مراحل مختلف رشد از جمله جوانه‌زنی است. در شرایط تنش‌های محیطی مانند شوری، میزان پایداری غشا سلولی در شرایط تنش یکی از معیارهای میزان تحمل تنش می‌باشد تجمع یون‌های مضر و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن نظیر سوپراکسید در شرایط تنش شوری موجب تخریب شدید غشاهای سلولی گیاهان می‌گردد و گونه‌های فعال اکسیژن با تاثیرگذاری بر فعالیت اندامک‌های سلولی و سلامت غشاهای سلولی که عمدتا از اسیدهای چرب به‌همراه ترکیبات پروتینی و کربوهیدرات تشکیل شده‌اند، فرآیندهای گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Ashraf and Ali, 2008).

اندازه‌گیری میزان نشت‌پذیری غشا سلولی و میزان پراکسیده‌شدن چربی‌های غشا (از طریق اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید) از جمله راه‌های تعیین پایداری غشای سلولی و میزان تخریب آن در شرایط تنش می‌باشد (Munns and James, 2003). در این حال گیاهان به‌کمک ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانت اقدام به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ پایداری سلولی می‌نمایند. تحقیقات نشان داد افزایش سطح تنش شوری سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه ذرت شد، به‌نحوی‌که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر تنش شوری کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (Hassanzadeh Kohal Sofla, 2014). یکی دیگر از اثرات تنش شوری بر رشد گیاهان، تغییر در غلظت درونی و تعادل میان تنظیم‌کنندگان رشد گیاهی است. به‌عنوان مثال بررسی تاثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی ذرت نشان داد تنش شوری سبب اختلال در تعادل میان غلظت درونی اسید جیرلیک و اسید آبسزیک در گیاهچه ذرت شد که منجر به کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر ذرت گردید (Farhoudi and Lee, 2014)

فرآیند پرایمینگ بذر یک روش آسان فیزیولوژیک جهت بهینه‌سازی جوانه‌زنی و تسریع در فرآیند جوانه‌زنی است که در طی آن جذب آب و تحریک فرآیندهای بیوشیمیایی منجر به جوانه‌زنی، آغاز می‌شود. تحقیقات

بیانگر آن است که اعمال تیمارهای آماده‌سازی بذر (پرایمینگ) با ترکیبات اسمزی، نمک‌ها و تنظیم‌کنندگان رشد گیاهی می تواند ضمن تحریک جوانه‌زنی و بهبود شرایط استقرار گیاهچه، در شرایط نامساعد محیطی نیز به تحمل شرایط تنش و جوانه‌زنی بهتر منجر شود (Mukhtar *et al*., 2013; Ibrahim, 2016). محلول نمک‌های مختلف نظیر کلرید پتاسیم، کلرید سدیم، نیترات پتاسیم و کلرید کلسیم از ترکیبات رایج جهت پرایمینگ بذر می‌باشند. گزارش شده است پرایمینگ بذر ذرت توسط محلول‌های نمکی سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت تحت تأثیر تنش شوری شد، زیرا در بذرهای پرایم‌شده میزان خسارت غشای سلولی کاهش و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و متابولیسم قندهای ذخیره‌ای افزایش یافت (Farhoudi and Lee, 2014). تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه ذرت شد اما پرایمینگ بذر ذرت با محلول‌های نمکی ضمن کاهش اثرات منفی تنش شوری و افزایش آب قابل دسترس گیاهچه سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت در مقایسه با بذرهای پرایم‌نشده شد (Bakht *et al*., 2011). علی‌رغم آن‌که تنش شوری سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بذر گوجه‌فرنگی شد اما پرایمینگ بذر این گیاه با نمک‌های کلرید پتاسیم و کلرید سدیم در شرایط تنش شوری سبب بهبود فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و افزایش درصد جوانه‌زنی بذر گوجه فرنگی شد (Nawaz *et al*., 2011).

پرایمینگ بذر در شرایط تنش‌های محیطی با افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش تخریب غشاهای سلولی یک تکنیک موثر برای بهبود شرایط جوانه‌زنی و تحمل شرایط تنش است (Khan *et al*., 2009). تحقیقات نشان داد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذرهای آفتابگردان تحت تاثیر تنش شوری کاهش یافت درحالی‌که پرایمینگ این بذرها با نمک کلرید سدیم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش تخریب غشاهای سلولی شد (Bajehbaj, 2010). پرایمینگ بذر می‌تواند با تاثیر مثبت بر تعادل هورمون‌های گیاهی، اثرات منفی ناشی از تنش شوری را کاسته و سبب بهبود جوانه‌زنی بذر در شرایط شوری شود (Iqbal *et al*., 2006).

با توجه به اهمیت پرایمینگ بذر در استقرار گیاهچه گیاهان زراعی در شرایط تنش‌های محیطی نظیر شوری، این پژوهش جهت شناسایی ترکیب یا ترکیبات نمکی موثر در بهبود جوانه‌زنی بذر ذرت در شرایط تنش شوری و شناخت فرآیندهای فیزیولوژیک متاثر از پرایمینگ بذر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر در قالب دو آزمایش جداگانه و هر کدام به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد.

آزمایش اول

در مرحله اول به‌منظور بررسی تاثیر پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی بذر ذرت رقم ۷۰۴ انجام شد. در این آزمایش، عامل اول سطوح پرایمینگ بذر شامل پرایمینگ با نمک‌های سولفات سدیم، کلرید سدیم و نیترات پتاسیم به غلظت دو درصد و عامل دوم سطوح تنش شوری به‌میزان ۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. جهت انجام آزمایش، هر کرت آزمایشی شامل یک پتری‌دیش شیشه‌ای با قطر ۹ سانتی‌متر بود که در هر پتری‌دیش ۱۵ عدد بذر ذرت روی ۲ لایه کاغذ صافی قرار گرفت. روی بذرهای شاهد هیچ‌گونه عملیات پرایمینگ و اعمال تنش شوری صورت نگرفت.

قبل از شروع آزمایش پتری‌دیش‌ها و کاغذهای صافی در اتوکلاو با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده و میز کار و ابزار مورد استفاده نظیر پنس نیز توسط الکل طبی ۸۰ درصدکاملا ضدعفونی شد. قبل از عملیات پرایمینگ، بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم سه درصد به‌مدت دو دقیقه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر شسته شدند. جهت پرایمینگ، بذرها به‌مدت ۱۲ ساعت در محلول مورد نظر خیسانده شد و سپس بذرها با آب مقطر شسته شده و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و در سایه روی کاغذ صافی خشک شدند. به‌منظور اعمال تنش شوری ۷ میلی لیتر از محلول شوری مورد نظر به محیط رشد بذر اضافه شد. در طول دوره آزمایش پتری‌دیش‌ها در دستگاه ژرمیناتور با رطوبت نسبی حدود ۵۰ درصد، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی نگهداری می‌شدند. شمارش بذرها هر روز راس ساعت ۱۱ صبح و به‌مدت ۱۰ روز انجام شد.

درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی

یک بذر وقتی جوانه‌زده محسوب شد که طول ریشه‌چه آن به حدود دو تا سه میلی‌متر رسید. درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی بر اساس رابطه ۱ و ۲ محاسبه گردید (Scott *et al*., 1984).

$$GP=(S/T) \times 100$$ (رابطه ۱)

در این رابطه S و T به‌ترتیب تعداد بذرهای جوانه‌زده و کل بذرهای کشت‌شده هستند.

$$MGT= \sum(ND)/ \sum N$$ (رابطه ۲)

در این رابطه $\sum N$ تعداد کل بذرهای کاشته‌شده، N تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز D و D تعداد روزها از ابتدای جوانه‌زنی است.

فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز

جهت بررسی فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، چهار روز پس از آغاز آزمایش، از ۰/۲ گرم بافت بذر استفاده شد. در ابتدا پنج میلی‌لیتر محلول ۶۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=6.8) به بافت گیاهی اضافه و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شد. جهت اندازه‌گیری آنزیم آلفاآمیلاز ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته به داخل لوله آزمایش منتقل شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده به آن اضافه و بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس به‌وسیله ۱ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ۰/۱ نرمال واکنش متوقف و در ادامه یک میلی‌لیتر از معرف ید به آن اضافه شد. پس از آن حجم محتوی لوله با آب مقطر به حدود ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و میزان جذب رنگ با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (DR 6000) در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Kato-Noguchi and Macias, 2008).

آزمایش دوم

در این آزمایش محیط کشت گلدان‌هایی به‌طول و عرض ۳۰ و ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر بود که توسط مخلوط ورمی کمپوست و خاک مزرعه با نسبت ۱ به ۳ پر شده بود. هر کرت آزمایشی شامل دو گلدان بود که در هر گلدان ۱۴ عدد بذر پرایم‌شده با تیمار مورد نظر کشت شد و پس از اطمینان از جوانه‌زنی تعداد گیاهچه‌های هر گلدان به ۱۰ عدد رسید. پس از کاشت بذرها، گلدان‌ها از ابتدا با شوری مورد نظر آبیاری شدند و بعد از ۱۴ روز نمونه برداری به‌منظور بررسی صفات مورد نظر انجام شد. تیمارهای شوری و پرایمینگ بذر مشابه آزمایش اول بود.

طول گیاهچه

به‌منظور بررسی طول گیاهچه از سطح گلدان تا نوک گیاهچه، از کولیس با دقت یک دهم میلی‌متر استفاده شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ابتدا پروتئین گیاهچه استخراج شد (Agrawal *et al*., 2005). برای بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار، ۸ میلی‌مولار گایاکول، ۲/۷۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرولیتر محلول پروتئینی گیاهچه بود. پس از اضافه‌کردن پراکسید هیدروژن بلافاصله میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (DR 6000) در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد (Chance and Maehly, 1995). برای بررسی فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز ۸۰۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار به‌همراه ۵۰ میکرومول محلول پروتینی استخراج شده از گیاهچه، نیم میلی‌مول NADPH و ۱۰ میلی‌مول گلاتیتیون با هم مخلوط شد و میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (DR 6000) در طول موج ۳۴۰ نانومتر به‌مدت ۶ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یک بار بررسی شد (Oracz *et al*., 2007).

غلظت درونی هورمون اکسین و اسید جیبرلیک

برای بررسی غلظت درونی هورمون‌های گیاهی نیم گرم بافت گیاهچه با اضافه‌کردن ۲۰ میلی لیتر متانول در هاون چینی خرد گردید. نمونه‌های خردشده در تاریکی و دمای ۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۶ ساعت نگهداری شد تا عمل انحلال هورمون‌ها به‌خوبی صورت گیرد. نمونه‌های خردشده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد و بافت‌های باقیمانده بر روی فیلتر سه بار توسط متانول شستشو گردید. متانول اضافی توسط دستگاه Freeze Dryer در دمای ۳۵ درجه سلسیوس زیر صفر تبخیر شد. سپس با اضافه‌کردن پتاس ۰/۲ نرمال، اسیدیته محلول به ۸/۵ رسانیده شد. به محلول به‌دست آمده، به‌میزان برابر اتیل استات اضافه شد تا بخشی از ناخالصی‌ها در آن حل شود. در این مرحله محلول دو فازی گردید. فاز بالایی دور ریخته شد و pH فاز پایینی توسط اسید هیدروکلریک ۰/۲ نرمال به حدود ۲/۵ رسانده شد. نمونه از فیلتر

پلیتترافلوئورواتیلن ۰/۴۵ عبور داده شد و سپس به ستون دستگاه HPLC مدل (KNAUER) تزریق گردید. اجزای محلول به‌دست‌آمده توسط دستگاه HPLC با ستون C18، شدت جریان ۷/۰ ml/min و حلال اسید ستیک ۰/۲ درصد و متانول ۱۰۰ درصد به نسبت ۵۰ :۵۰ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس جدا گردیدند (Kamal, 2011).

غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم اندام هوایی

به‌منظور اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم ۰/۲ گرم ماده خشک اندام هوایی در کوره الکتریکی با دمای ۵۸۰ درجه سلسیوس به‌مدت چهار ساعت در کروزه چینی حرارت داده شد. خاکستر به‌دست‌آمده با پنج میلی-لیتر اسید کلریدریک بدون تنش شستشو داده شد تا کاتیون‌ها آزاد شوند. عصاره با کاغذ صافی، صاف شد. به-منظور اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم در محلول حاصله از دستگاه فلایم فتومتر مدل Carl Ziess و منحنی استاندارد استفاده شد (Owen, 1992).

بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدئید و درصد اسید چرب

به‌منظور تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدهید در بافت گیاهچه، ابتدا ۰/۱ گرم گیاهچه در محلول ۲۰ درصد اسید تیوکلرو استیک که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیو باربیتوریک بود کاملاً پودر گردید و آن‌گاه این مخلوط به‌مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس این مخلوط در حمام یخ سرد گردید و غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (DR 6000) در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد (Valentovic *et al*., 2006). جهت بررسی درصد اسید چرب آزاد بافت گیاهچه نیز ۰/۱ گرم بافت گیاهچه درون ارلن مایر قرار داده شد و ۵ میلی‌لیتر الکل اتانول به آن اضافه شد و با افزودن ۱ قطره فنل فتالئین با سود ۰/۱ درصد تیتر گردید تا رنگ صورتی کم‌رنگ حاصل شد پس از ۳۰ ثانیه بر اساس فرمول‌های مربوط درصد اسید چرب آزاد بررسی شد (Valentovic *et al*., 2006).

محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد آماری استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی

بررسی نتایج جدول ۱ نشان داد درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی بذر ذرت تحت تاثیر شوری، پرایمینگ و برهمکنش این تیمارها قرار گرفت. تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و تاخیر در ظهور جوانه‌ها در گیاهان زراعی از جمله ذرت می‌شود (Munns and James, 2003; Bakht *et al*., 2011). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم سبب کاهش درصد جوانه‌زنی بذر ذرت به ۶۶ درصد شد که بیانگر کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر ذرت در مقایسه با سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و شرایط بدون تنش است (جدول ۲). کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در بذور تیمارشده با هر سه نمک نیز مشاهده شد، اما نکته قابل توجه آن است که میزان جوانه‌زنی بذر ذرت تیمارشده با نمک‌های نیترات پتاسیم و کلرید سدیم در سطح شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب ۸۲ و ۸۰ درصد بود که نشانگر تاثیر مثبت پرایمینگ بذر ذرت با این دو نمک بر جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش شوری است. درصد جوانه‌زنی بذرهای تیمارشده با نمک سولفات سدیم در شرایط تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۶۸ درصد بود که نشان‌دهنده عدم تاثیر مثبت پرایمینگ با این نمک بر بهبود شرایط جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری است (جدول۲). تنش شوری سبب افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی بذر ذرت و تاخیر در ظهور گیاهچه شد. در شرایط تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و عدم پرایمینگ میانگین زمان جوانه‌زنی به حدود ۶/۷ روز رسید درحالی‌که نمک‌های نیترات پتاسیم و کلرید سدیم این مدت را به‌ترتیب به ۴/۱ و ۵ روز کاهش دادند که بیانگر تاثیر مثبت هالوپرایمینگ بر کاهش زمان ظهور گیاهچه است. اگر چه پرایمینگ بذر یک تیمار مناسب و توصیه شده جهت بهبود شرایط جوانه‌زنی بذر گیاهان مختلف در شرایط تنش‌های محیطی است اما موفقیت تیمار پرایمینگ به عوامل گوناگونی نظیر نوع ترکیبات استفاده شده، مدت زمان پرایمینگ و غلظت این ترکیبات بستگی دارد (Paparella *et al*., 2015).

فرآیند جوانه‌زنی یک مرحله حساس به تنش شوری در بسیاری از گیاهان زراعی است که تجمع املاح یا

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر تنش شوری و پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی بذر ذرت

Table 1. Analysis of variance of the effect of salt stress and seed priming on germination of corn seed

منابع تغییرات Source of variation	df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز α-amylase activity	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time
پرایمینگ Priming (P)	3	1952.6**	2.2**	3.9**
شوری Salinity (S)	2	1502.0**	3.1**	3.5**
S × P	6	1005.7 **	2.4**	2.1**
خطای آزمایش Error	36	210.1	0.51	0.11
ضریب تغییرات CV (%)		10.7	7.9	11.3

** و *: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد آماری

*, ** Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

کاهش آب قابل دسترس بذر بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی، تعادل هورمونی بذر و سلامت غشاهای سلولی تاثیر گذاشته و سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شود، درحالی‌که پرایمنگ بذر به دلایل مختلف چون کاهش زمان لازم برای جذب آب، فعال‌سازی آنزیم‌های جوانه‌زنی و بهبود کارکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سبب تسریع در جوانه‌زنی بذر در شرایط نامساعد می‌شود (Miransari and Smith, 2014; Farhoudi, 2018). پرایمینگ بذر ذرت با محلول کلرید سدیم در شرایط تنش شوری سبب بهبود جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر ذرت در مقایسه با بذرهای پرایم‌نشده شد (Bakht *et al*., 2011). تحقیقات نشان داد تیمار بذر با ترکیبات مختلف نظیر نمک‌های پتاسیم سبب بهبود جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه می‌گردد، زیرا نمک‌هایی مانند نیترات پتاسیم اثرات منفی نمک‌هایی مانند کلرید سدیم را ندارند (Kaya *et al*., 2006). پژوهش حاضر نیز نشان داد در سطح شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کم‌ترین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذر ذرت در بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم بود (۴/۱ روز) که تاییدکننده این نظر است.

فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز

نتایج نشان داد فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بذر ذرت تحت تاثیر شوری، پرایمینگ و برهمکنش این تیمارها قرار گرفت (جدول۱). تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در بذر ذرت شد به‌طوری‌که سطح تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در بذرهای پرایم-نشده میزان فعالیت این آنزیم را به‌ترتیب به ۶/۶ نانومول بر بذر بر دقیقه و ۳/۱ نانومول بر بذر بر دقیقه کاهش داد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر تنش شوری و پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بذر ذرت

Table 2. Means comparison of salt stress and priming on germination and α-amylase activity of corn seed

پرایمینگ بذر Seed priming	تنش شوری Salt stress (mMol NaCl)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time (day)	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز α-amylase activity (nmol seed^{-1}minute^{-2})
Control	0	97a	2.9a	9.2a
	40	93a	4.9c	6.6c
	80	66c	6.7e	3.1e
KNO3	0	97a	2.8a	9.4a
	40	93a	3.1a	8.0b
	80	82b	4.1b	6.7c
NaCl	0	96a	2.7a	9.0a
	40	94a	3.9b	7.5bc
	80	80b	5.0d	4.8d
Na2SO4	0	96a	2.7a	9.2a
	40	92a	4.8c	6.9c
	80	68c	6.4e	3.0e

داده‌های هر صفت با حروف مشابه، در سطح احتمال آماری ۱ درصد تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means followed by the same letter(s) in each trait are not significantly different at P = 0.01 according to Duncan multiple test

آنزیم آلفاآمیلاز یک آنزیم حیاتی در فرآیند جوانه‌زنی است که با هیدرولیز ذخایر کربوهیدراتی بذر، انرژی لازم برای رشد جوانه و ظهور آن را فراهم می‌کند (Kato-Noguchi and Macias, 2008) لذا عوامل محیطی نظیر تنش شوری که فعالیت این آنزیم را کاهش می‌دهند، در واقع بر متابولیسم ذخایر بذر و ظهور گیاهچه تاثیر منفی دارند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد اگر چه تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در کلیه بذور اعم از پرایم‌شده و پرایم‌نشده، شد اما در بالاترین سطح تنش شوری بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم بیش‌ترین فعالیت این آنزیم را داشتند (۶/۷ نانومول بر بذر بر دقیقه) و پس از نمک نیترات پتاسیم بذرهای پرایم‌شده با کلرید سدیم و سولفات سدیم قرار داشتند (به‌ترتیب ۴/۸ نانومول بر بذر بر دقیقه و ۳ نانومول بر بذر بر دقیقه). در واقع در بالاترین سطح شوری نمک سولفات سدیم نتوانست میزان فعالیت این آنزیم را افزایش دهد. در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نیز بیش‌ترین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم و کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۲). تحقیقات نشان داد تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بذر ذرت و در نتیجه کاهش درصد جوانه‌زنی آن شد، ولی پرایمینگ بذر ذرت در شرایط تنش شوری سبب بهبود فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و استفاده از ذخایر بذر شد (Farhoudi and Lee, 2014). بررسی تأثیر هالوپرایمینگ بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و جوانه‌زنی گوجه‌فرنگی تحت تأثیر تنش شوری نیز نشان داد که پرایمینگ بذر موجب بهبود فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و افزایش جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش شوری شد (Nawaz *et al.*, 2011). در پژوهش حاضر نیز تحت تاثیر کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز کاهش درصد جوانه‌زنی و تاخیر در ظهور گیاهچه مشهود بود، در بالاترین سطح تنش در بذرهای تیمارشده با نمک نیترات پتاسیم و پس از آن کلرید سدیم بهبود فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و در نتیجه کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی و افزایش درصد جوانه‌زنی بذر ذرت مشاهده شد (جدول ۲)

آزمایش دوم

غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم

نتایج جدول ۳ نشان داد غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم گیاهچه ذرت تحت تاثیر تنش شوری، پرایمینگ بذر و برهمکنش این دو فاکتور قرار گرفت. تنش شوری تعادل جذب و متابولیسم یون‌ها را در گیاهان تغییر داده و منجر به تجمع یون‌های مضر نظیر سدیم و کلر در بافت گیاهی و کاهش جذب یون‌های مفید کلسیم و پتاسیم می‌شود. این تجمع یون‌های مضر سبب تخریب غشاهای سلولی، القای تنش اکسیداتیو، کاهش فعالیت‌های آنزیمی و کاهش آب قابل دسترس گیاهچه می‌گردد (Farhoudi and Khodarahmpour, 2015; Poustini and Siosemardeh, 2004). تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار غلظت سدیم و کاهش معنی‌دار غلظت پتاسیم بافت گیاهی ذرت در گیاهچه حاصل از بذرهای پرایم‌شده و بذرهای پرایم‌نشده شد که به معنی تاثیر منفی تنش شوری بر تعادل یون‌ها در بافت گیاهی است (جدول۴).

در بالاترین سطح تنش شوری، کم‌ترین غلظت سدیم بافت گیاهی ذرت در بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم به‌میزان ۱۹/۱ میلی گرم بر وزن خشک و بیش‌ترین میزان این یون در بذرهای پرایم‌شده با سولفات سدیم و بذرهای پرایم‌نشده، به‌میزان ۳۰ و ۲۹/۳ میلی گرم بر وزن خشک مشاهده شد. اگرچه تنش شوری غلظت پتاسیم بافت گیاهچه ذرت را کاهش داد، اما بیش‌ترین غلظت پتاسیم در شرایط تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در گیاهچه‌های پرایم‌شده با نیترات پتاسیم و کلرید سدیم (به‌ترتیب ۳۵ و ۳۴/۳ میلی‌گرم بر وزن گیاهچه) مشاهده شد، درحالی‌که پرایمینگ بذر با سولفات سدیم نتوانست از کاهش شدید غلظت پتاسیم برگ جلوگیری نماید (جدول۴). این نتایج نشان داد پرایمینگ بذر با نیترات پتاسیم و پس از آن کلرید سدیم از جذب شدید یون سدیم و افت غلظت یون پتاسیم در شرایط تنش شوری جلوگیری نمود. تجمع یون‌های مضر نظیر کلر و سدیم در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه موجب القای تنش اکسیداتیو، کاهش پایداری غشا سلولی و رشد گیاهچه می‌گردد و این درحالی است که تجمع یون پتاسیم در شرایط تنش شوری موجب تحمل شرایط تنش، کاهش اثرات منفی یون‌های مضر نظیر سدیم و حفظ پایداری غشاهای سلولی می‌شود (Poustini and Siosemardeh, 2004;). پرایمینگ بذر ذرت با نمک کلرید سدیم سبب بهبود جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه ذرت در شرایط تنش شوری شد، زیرا گیاهچه حاصل از بذرهای پرایم‌شده در مقایسه با بذرهای پرایم‌نشده از غلظت

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر تنش شوری و پرایمینگ بذر بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاهچه ذرت

Table 3. Analysis of variance of the effect of salt stress and seed priming on physiological characteristics of corn seedlings

منابع تغییرات Source of variation	Df	غلظت سدیم Na concentration	غلظت پتاسیم K concentration	درصد اسید چرب آزاد Fatty acid percentage	غلظت مالون دی آلدهید MDA concentration	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز POX activity	فعالیت آنزیم گلوتاتتیون ردوکتاز GR activity	غلظت اکسین IAA content	غلظت اسید جیبرلیک GA content	طول گیاهچه Seedling length
پرایمینگ Priming (P)	3	648.4**	1900.8**	84.2**	0.00011**	19.3**	27.1**	2988.4**	2118.0**	2.6**
شوری Salinity (S)	2	491.3**	1195.5**	33.8**	0.00018**	21.0**	15.8**	3005.7**	2051.4**	1.95**
S x P	6	501.6 **	950.6*	51.0**	0.00013**	14.8**	9.5**	2311.3*	1200.8*	1.18**
خطای آزمایش Error	36	41.9	138.1	4.31	0.00001	2.6	1.8	300.1	129.6	0.15
CV (%)		10.5	12.0	7.9	8.8	6..2	11.4	12.1	9.1	9.9

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

*, **Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

جدول ۴- مقایسه میانگین تاثیر تنش شوری و پرایمینگ بذر بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاهچه ذرت

Table 4. Means comparison of salt stress and priming effect on physiological characteristics of corn seedlings

پرایمینگ بذر Seed priming	تنش شوری Salt stress (mMol NaCl)	غلظت یون سدیم Na+concebtration (mg g-1 dw)	غلظت پتاسیم K +concebtration (mg g-1 dw)	غلظت اسید جیبرلیک GA content (µg g-1)	غلظت اکسین IAA content (µg g-1)	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز POD activity (unit mg-1 pro)	فعالیت آنزیم گلاتیتیون ردکتاز (nmol NAPDH mg−1 protein min−2)	درصد اسید چرب Fatty acid percentage	غلظت مالون دی آلدهید MDA concentration (nmol g-1FW)	طول گیاهچه Seedling length (cm)
Control	0	12.7a	45.1a	152a	112a	4.3e	0.82e	1.2f	0.0061e	15.9a
	40	21.2b	46.7a	131b	118a	4.8e	2.1d	5.8c	0.038b	13.1b
	80	29.3d	29.6c	108d	71d	11.2d	3.9c	18.2a	0.067a	10.1d
KNO_3	0	13.1a	46.1a	151a	114a	4.9e	0.95e	1.2f	0.0069e	15.8a
	40	13.8a	45.2a	148a	119a	19.0b	5.1b	3.7e	0.019d	15.2a
	80	19.1b	35.0b	133b	101b	25.3a	5.3b	5.5cd	0.022cd	13.0b
NaCl	0	12.9a	45.4a	155a	110a	5.0e	0.91e	1.0f	0.0072	16.0a
	40	18.4b	47.4a	150a	112a	10.4d	3.4c	4.9d	0.027c	15.7a
	80	27.9cd	34.3b	122c	103c	16.1c	6.3a	12.3b	0.039b	11.5c
Na_2SO_4	0	14.0a	44.0a	157a	115a	4.5e	0.86e	1.1f	0.0065e	16.1a
	40	24.7c	44.8a	130b	114a	5.1e	2.2d	6.0c	0.041b	12.8b
	80	30.0d	31.0c	105d	81c	9.1d	2.5c	19.0a	0.072a	9.7d

داده‌های هر صفت با حروف مشابه، در سطح احتمال آماری ۱ درصد تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means followed by the same letter(s) in each trait are not significantly different at P = 0.01 according to Duncan multiple test

سدیم کم‌تر و پتاسیم بیش‌تری در بافت گیاهی برخوردارد بودند که منجر به افزایش تحمل شوری در بذرهای پرایم-شده شد (Bakht *et al*., 2011). تغییر و افزایش در فعالیت پمپ‌های جذب‌کننده یون پتاسیم و حبس یون‌های مضر نظیر سدیم در محیط ریشه، یکی از اثرات بارز پرایمینگ بذر گیاهان با ترکیبات مختلف نظیر محلول‌های نمکی است که منجر به کاهش تجمع یون‌های مضر در گیاهان تحت شرایط تنش شوری می‌شود (Paparella *et al*., 2015). تجمع کم‌تر یون سدیم در بافت‌های گیاهی منجر به بهبود فعالیت‌های آنزیمی، تعادل روابط آبی گیاهچه و پایداری غشا سلولی می‌گردد (;2008 Munns, 2002; Ashraf and Ali, Farhoudi, 2018) پرایمینگ بذر می تواند نقش مثبتی در این فرآیند و کاهش تجمع یون سدیم در شرایط تنش شوری ایفا نماید (Bakht *et al*., 2011).

غلظت مالون‌دی‌آلدئید و اسید چرب

نتایج نشان داد غلظت مالون‌دی‌آلدئید و اسید چرب آزاد بافت گیاهچه ذرت تحت تاثیر شوری، پرایمینگ و برهمکنش این دو فاکتور قرار گرفت (جدول ۳). تنش‌های محیطی نظیر شوری با تحریک ایجاد تنش اکسیداتیو موجب کاهش پایداری غشا سلولی و افزایش غلظت مالون-دی‌آلدئید در بافت‌های گیاهی می‌شود. مالون‌دی‌آلدئید یک ترکیب شاخص جهت بررسی میزان سلامت غشاهای سلولی است و در نتیجه اکسید شدن چربی‌های غشا سلولی آزاد می‌شود (Munns, 2002). نتایج نشان داد تنش شوری سبب افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت گیاهچه ذرت شد، به‌نحوی‌که در بذرهای پرایم‌نشده بیش-ترین غلظت این ترکیب در تیمار شوری ۸۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم به‌میزان ۰/۰۶۷ نانومول بر گرم بافت تازه برگ مشاهده شد (جدول ۴). پرایمینگ بذر ذرت با محلول نیترات پتاسیم سبب کاهش روند تخریب غشاهای سلولی شد و در سطح شوری۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت گیاهچه این بذرها به‌ترتیب ۰/۰۱۹ نانومول بر گرم بافت تازه برگ و ۰/۰۲۲ نانومول بر گرم بافت تازه برگ بود که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. پس از نمک نیترات پتاسیم، بذرهای پرایم‌شده با نمک کلرید سدیم در شرایط تنش شوری کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید را به خود اختصاص دادند و پرایمنگ بذر با محلول سولفات سدیم نتوانست از افزایش شدید غلظت مالون‌دی‌آلدئید گیاهچه ذرت جلوگیری نماید (جدول ۴). همچنین تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار اسید چرب آزاد بافت گیاهچه ذرت شد که نشانگر تاثیر منفی تنش شوری بر سلامت غشاهای سلولی است. پرایمینگ بذر ذرت با نیترات پتاسیم از افزایش غلظت اسید چرب آزاد جلوگیری نمود و کم‌ترین درصد اسید چرب یافت گیاهچه در بالاترین سطح تنش شوری در بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم به‌میزان ۵/۵ درصد مشاهده شد. پرایمنگ بذر با سولفات سدیم نتوانست افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد و به خطرافتادن سلامت غشاهای سلولی را متوقف کند (جدول۴).

تخریب غشاهای سلولی از اثرات منفی بارز تنش شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت است (Gondim *et al*., 2010)، درحالی‌که پرایمینگ بذر یک روش موثر فیزیولوژیک در راستای کاهش تخریب غشاهای سلولی در شرایط تنش‌های محیطی است زیرا در گیاهچه حاصل از بذرهای پرایم‌شده معمولا میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت که وظیفه محافظت از سلول و پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن را دارند بیش‌تر است (Jisha *et al*., 2013). علاوه بر این، پرایمینگ بذر با تحریک فرآیندهای بیوشیمیایی نظیر افزایش تولید پرولین و تغییر در تنظیم اسمزی به نفع گیاهچه از تخریب غشای سلولی جلوگیری می‌نماید (Paparella *et al*., 2015). در پژوهش حاضر نیز گیاهچه حاصل از بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم و پس از آن بذرهای تیمارشده با کلرید سدیم کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش شوری را داشتند.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلوتاتیون‌ردوکتاز و گایاکول‌پراکسیداز تحت تاثیر تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش این دو فاکتور قرار گرفت (جدول ۳) تنش شوری در بذرهای پرایم‌شده و پرایم‌نشده سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گایاکول‌پراکسیداز و گلوتاتیون-ردکتاز شد که نشان‌دهنده ایجاد تنش اکسیداتیو تحت تاثیر تنش شوری و فعال‌شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به‌منظور حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (جدول۴). در سطح تنش شوری۸۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم بیش‌ترین فعالیت آنزیم گلاتیتیون‌ردکتاز در بذرهای

پرایم‌شده با نمک کلرید سدیم به‌میزان ۶/۳ نانومول NAPDH بر میلی‌گرم پروتین بر دقیقه مشاهده شد و پس از آن بذرهای تیمارشده با نمک نیترات پتاسیم قرار داشتند. در این سطح شوری بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم بیش‌ترین فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز به‌میزان ۲۵/۳ میلی‌گرم جذب در دقیقه را به خود اختصاص دادند. میزان فعالیت این دو آنزیم در بذرهای پرایم‌شده با سولفات سدیم تفاوت معنی‌داری با بذرهای پرایم‌نشده تحت تاثیر شوری نداشت (جدول۴).

تنش‌های محیطی نظیر خشکی و شوری با تخریب غشاهای سلولی و تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال که قابلیت اکسیدنمودن و تخریب اجزای سلولی را دارند سبب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شوند، لذا گیاهان با تولید انواع ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب محافظت از محیط سلولی می‌شوند (Rao *et al*., 2013). پرایمینگ بذر یک روش موثر جهت تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت است زیرا در شرایط پرایمینگ، تغییر در میزان جذب آب بذر، ایجاد تنش خشکی و شوری کنترل‌شده و یا تغییر در تعادل هورمون‌های درونی گیاهچه سبب تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به‌منظور دفع خطرات احتمالی ناشی از تنش محیطی می‌شود (Mukhtar *et al*., 2013). پرایمینگ بذر سویا با محلول‌های نمکی نظیر کلرید کلسیم سبب بهبود پایداری غشا سلولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد که منجر به رشد مطلوب گیاهچه سویا در شرایط تنش شوری شد (Dai *et al*., 2017).

تنش شوری موجب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه گندم شد و تیمار بذر گندم با نیترات پتاسیم سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه گندم در مقایسه با بذور پرایم‌نشده گردید (Farhoudi, 2018) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد زیرا در بالاترین سطح تنش شوری بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم و کلرید سدیم که بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را داشتند از کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید و اسید چرب آزاد برخوردار بودند. این موضوع بیانگر تاثیر مثبت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در دفع تنش اکسیداتیو و افزایش پایداری غشاء سلولی گیاهچه ذرت است (جدول ۴).

غلظت درونی هورمون‌های گیاهی

غلظت درونی هورمون‌های اکسین و اسید جیبرلیک تحت تاثیر معنی‌دار تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش این دو فاکتور قرار گرفت (جدول۳). تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر اسید جیبرلیک، آبسیزیک اسید و اکسین بر بسیاری از فرآیندهای گیاهی نظیر جوانه‌زنی، نورگرایی، گلدهی و تشکیل میوه و دانه تاثیر داشته و غلظت آن‌ها تحت تاثیر شرایط رشد گیاه و شرایط محیطی نظیر تنش‌های محیطی قرار می گیرد (Zorb *et al*., 2013; Miransari and Smith, 2014). تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار غلظت درونی اسید جیبرلیک و اکسین در بافت گیاهچه ذرت پرایم‌شده و پرایم‌نشده گردید. پرایمینگ بذر ذرت با محلول نیترات پتاسیم توانست از روند کاهش شدید غلظت اسید جیبرلیک تحت تاثیر تنش شوری جلوگیری نماید، به‌طوری‌که بیش‌ترین غلظت اسید جیبرلیک تحت تاثیر تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم در تیمار پرایمینگ نیترات پتاسیم به‌میزان ۱۳۳ میکروگرم بر گرم بافت گیاهی مشاهده شد. در شرایط تنش شوری پرایمینگ بذر با سولفات سدیم تاثیری بر غلظت درونی اسید جیبرلیک نداشت (جدول۴). علی‌رغم کاهش غلظت اکسین تحت تاثیر تنش شوری، پرایمینگ بذر ذرت با نیترات پتاسیم و کلرید سدیم تاثیر مشابهی بر غلظت درونی این هورمون گذاشت و غلظت این هورمون در بذور پرایم‌شده با نیترات پتاسیم و کلرید سدیم همواره بیش از بذور تیمارشده با سولفات سدیم بود (جدول۴). نتایج نشان داد پرایمینگ بذر با نیترات پتاسیم و پس از آن کلرید سدیم تاثیر مثبتی بر غلظت درونی اکسین و اسید جیبرلیک داشت که احتمالا می‌تواند دلیلی بر رشد بهتر گیاهچه و فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط تنش شوری در بذرهای پرایم-شده با نیترات پتاسیم و کلرید سدیم باشد (جدول۴). اکسین و اسید جیبرلیک دو تنظیم‌کننده رشد گیاهی موثر در فرآیند جوانه‌زنی هستند که بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، رشد ریشه‌چه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تاثیر مثبت دارند و کاهش غلظت آن‌ها تحت تاثیر تنش شوری موجب اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (Akbari *et al*., 2007; Zorb *et al*., 2013; Miransari and Smith, 2014). تنش شوری سبب کاهش غلظت درونی اسید جیبرلیک و در

نتیجه کاهش جوانه‌زنی بذر ذرت تحت تاثیر تنش شوری شد اما پرایمینگ بذر ذرت با محلول‌های نمکی سبب ایجاد تعادل در غلظت اسید جیبرلیک، افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و بهبود جوانه‌زنی بذر ذرت شد (Farhoudi and Lee, 2014) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. پرایمینگ بذر سبب ایجاد سلسله واکنش‌های بیوشیمایی می‌شود که گیاهچه گیاهان را آماده رویارویی با شرایط نامساعد می‌کند. از جمله این واکنش‌های افزایش پایداری و غلظت هورمون‌های گیاهی و همچنین حفظ تعادل میان این ترکیبات است تا جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در شرایط نامساعد دچار کم-ترین اختلال گردد. حفظ پایداری هورمون‌ها موجب عملکرد بهتر آنزیم آلفاآمیلاز و حفظ سلامت غشاهای سلولی در شرایط تنش می‌گردد (Iqbal *et al*., 2006; Mukhtar *et al*., 2013). در پژوهش حاضر نیز بذرهای پرایم‌شده با نیترات پتاسیم و پس از آن کلرید سدیم در شرایط تنش شوری از غلظت اسید جیبرلیک و اکسین بیش‌تری برخوردار بودند که منجر به رشد بیش‌تر گیاهچه و پایداری غشاهای سلولی ناشی از فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد.

طول گیاهچه

نتایج جدول ۳ نشان داد طول گیاهچه ذرت تحت تاثیر تنش شوری، پرایمینگ بذر و برهمکنش این دو فاکتور قرار گرفت. تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار طول گیاهچه ذرت شد، به‌طوری‌که تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار نمک سدیم طول گیاهچه را به ۱۳/۱ و ۱۰/۱سانتی‌متر کاهش داد (جدول ۴). تجمع یون‌های مضر نظیر سدیم و کلر، تخریب غشاهای سلولی، کاهش متابولیسم سلولی و کاهش آب قابل دسترس گیاهچه از دلایل کاهش رشد گیاهاچه تحت تاثیر تنش شوری در گیاهان مختلف از جمله ذرت است (Ashraf and Ali, 2008; Bakht *et al*., 2011; Nawaz *et al*., 2011; Farhoudi, 2018). کاهش طول گیاهچه کلزا از اثرات بارز تاثیر تنش شوری بر گیاهچه است زیرا تحت تاثیر تنش شوری تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها کاهش یافته و می‌تواند منجر به کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه شود (Qasim *et al*., 2012). در بالاترین سطح تنش شوری بیش‌ترین طول گیاهچه در بذرهای تیمارشده با نمک‌های نیترات پتاسیم میزان ۱۳ سانتی‌متر و پس از آن در بذر تیمارشده با کلرید سدیم به‌میزان ۱۱/۵ سانتی‌متر مشاهده شده که به‌میزان معنی‌داری بیش‌تر از طول گیاهچه ذرت پرایم‌شده با نمک سولفات سدیم و بذرهای پرایم‌نشده بود (جدول ۲). پرایمینگ بذر ذرت با محلول‌های نمکی سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط تنش شوری و در نتیجه رشد مطلوب گیاهچه ذرت شد (Hassanzadeh Kohal Sofla , 2014). همچنین تنش شوری سبب کاهش رشد گیاهچه ذرت شد اما پرایمینگ بذر با محلول کلرید سدیم سبب افزایش رشد گیاهچه در مقایسه با بذرهای پرایم‌نشده شد، زیرا بذرهای پرایم‌شده از غلظت یون سدیم کم‌تر و غلظت یون پتاسیم بیش‌تری برخوردار بودند (Bakht *et al*., 2011). فرآیند پرایمینگ بذر با محلول‌های نمکی در شرایط تنش شوری و خشکی موجب بهبود رشد گیاهچه ماش شد زیرا رطوبت نسبی گیاهچه حاصل از پرایمینگ بیش از بذرهای پرایم‌نشده بود (Jisha and Puthur, 2014). یکی از دلایل تاثیر مثبت پرایمینگ بذر بر رشد گیاهچه در شرایط تنش‌های محیطی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بهبود عملکرد سلول‌ها تحت تاثیر حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (Islam *et al*., 2015) که با نتایج آزمایش نیز همخوانی دارد. تحقیقات نشان داده بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی که در شرایط تنش شوری به بهبود جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه کمک می‌نمایند تحت تاثیر پرایمینگ بذر پایدار می‌شوند که از آن جمله می‌توان به متابولیسم ذخایر غذایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش جذب یون‌های مضر اشاره نمود (Ibrahim, 2016). بنابراین رشد بیشتر گیاهچه ذرت پرایم‌شده با نمک نیترات پتاسیم در شرایط تنش شوری ناشی از بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کاهش غلظت یون سدیم و افزایش غلظت اکسین و اسید جیبرلیک بود (جدول۴)

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی، طول گیاهچه، غلظت درونی هورمون‌های گیاهی و افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید گیاهچه ذرت شد اما پرایمینگ بذر ذرت با نمک نیترات پتاسیم و پس از آن کلرید سدیم موجب شد در شرایط تنش شوری، جوانه‌زنی بذر ذرت افزایش یافته و طول گیاهچه نیز در مقایسه با

بذرهای پرایم‌نشده بیش‌تر بود. پرایمینگ بذر ذرت با نمک نیترات پتاسیم سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و در نتیجه افزایش جوانه‌زنی و طول گیاهچه ذرت شد. همچنین گیاهچه حاصل از بذرهای تیمارشده با نیترات پتاسیم در شرایط تنش شوری از غلظت کم‌تر یون سدیم و غلظت کم‌تر اسید چرب آزاد برخوردار بوده و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، غلظت یون پتاسیم و غلظت درونی اکسین و اسید جیبرلیک بیش‌تری برخوردار بودند که در مجموع منجر به رشد مطلوب گیاهچه ذرت پرایم‌شده با نیترات پتاسیم در شرایط تنش شوری شد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر قدردانی می‌گردد.

منابع

Agrawal, S., Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Tyagi, A. and Meena, R.C. 2005. Role of ABA, Salicylic Acid, Calcium and Hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedling. Plant Science, 169: 559-570. **(Journal)**

Ahmad, P. and Prasad, M.N.V. 2012. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. New York, Springer. 345p. **(Book)**

Akbari, G., Sanavy, S. and Yousefzadeh, S. 2007. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Pakistanian Journal of Biology Science, 10:2557-2561. **(Journal)**

Ashraf, M. and Ali, Q. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany. 63: 266–273. **(Journal)**

Bajehbaj, A.A. 2010. The effects of NaCl priming on salt tolerance in sunflower germination and seedling grown under salinity conditions. African Journal of Biotechnology, 9:1764–1770. **(Journal)**

Bakht, J., Shafi, Y., Jamal, Y. and Sher, H. 2011. Response of maize (*Zea mays* L.) to seed priming with NaCl and salinity stress. Spanish Journal of Agricultural Research, 9(1): 252-261. **(Journal)**

Cavalanti, F.R., Lima, J.P.M.S., Silva, S.L.F., Viegas, R.A. and Silveira, J.A.G. 2007. Roots and leaves display contrasting Oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. Journal of Plant Physiology, 164:591-600. **(Journal)**

Chance, B. and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidases. Method of Enzymology, 2:764-775. **(Journal)**

Dai, L.Y., Zhu, H.D., Yin, K.D., Du, J.D. and Zhang, X., 2017. Seed priming mitigates the effect of saline stress in soybean seedlings. Chilian Journal of Agriculture Research, 77:118-125. **(Journal)**

Farhoudi, R. 2018. Effect of seed halopriming on germination and seedling physiological characteristics of wheat (Triticum aestivum) cultivars Niknijad and Qods under salt stress condition. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(1): 95-107. **(Journal)**

Farhoudi, R. and Lee, D.J. 2014. Halopriming corn seeds improve seed emergence and carbohydrates metabolism under salinity stress. Seed Science and Technology, 42:1-5. **(Journal)**

Farhoudi, R. and Khodarahmpour, Z. 2015. An evaluation of physiological response 19 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to salinity stress at seedling stage. Journal of Plant Process and Function, 11:67-77. (In Persian, with English Abstract)**(Journal)**

Gondim, F.A., Gomes-Filho, E., Lacerda, C.F., Prisco, J.T., Azevedo Neto, A.D. and Marques, E.C. 2010. Pretreatment with H_2O_2 in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. Brazilian Journal of Plant Physiology, 22:103-112. **(Journal)**

Hassanzadeh Kohal Sofla, S. 2014. Effect of seed priming on seedling growth and antioxidant enzymes activates of sweet corn under salinity condition. Iranian Journal of Plant Ecophysiology, 33(1):21-28. (in Persian with English abstract)**(Journal)**

Ibrahim, E.A. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of Plant Physiology, 192: 38-46. **(Journal)**

Iqbal, M., Ashraf, M., Jamil A. and Ur-Rehman, S. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? Journal of Integrative Plant Biology, 48: 181-189. **(Journal)**

Islam, F., Yasmeen, T., Ali, S., Ali, B., Farooq, M. and Gill, R. 2015. Priming-induced antioxidative responses in two wheat cultivars under saline stress. Acta Physiologiae Plantarum, 37: 153-163. **(Journal)**

Jisha, K.C. and Puthur, J. 2014. Halopriming of seeds imparts tolerance to NaCl and PEG induced stress in *Vigna radiata* (L.) Wilczek varieties. Physiology and Mulecular Biology of Plants, 20(3): 303–312. **(Journal)**

Jisha, K.C., Vijayakumari, K. and Puthur, J.T. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiology Plantarum, 35:1381–1396. **(Journal)**

Kamal, J. 2010. Impact of allelopathy of sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots extract on physiology of wheat (*Triticum aestivum* L.). African Journal of Biotechnology, 10: 14465-14477. **(Journal)**

Kato-Noguchi, H. and Macias, F.A. 2008. Inhibition of germination and α-amylase induction by 6-methoxy- 2-benzoxazolinone in twelve plant species. Biological Plantaum, 52: 351-354. **(Journal)**

Kaya, M.D., Gamze, O., Atal, M., Yakup, M. and Ozer, K. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, 24: 291-295. **(Journal)**

Khan, H.A, Ayub, C.M, Pervez, M.A, Bilal, R.M, Shahid, M.A. and Ziaf, K. 2009. Effect of seed priming with NaCl on salinity tolerance of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) at seedling stage. Soil Environment, 28:81–87. **(Journal)**

Miransari, M. and Smith, D.L. 2014. Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany, 99:110-121. **(Journal)**

Mukhtar, K., Afzal, I., Qasim, M., Maqsood, S., Basra, A. and Shahid Muntz, M. 2013. Dose priming promote germination and early stand establishment of French marigold (*Tagetes patula* L.) seeds by inducing physiological and biochemical changes? Acta Scientiarum Polonorum Hortorumcultus, 12:13-21. **(Journal)**

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

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

Nawaz, A., Amjad, M., Pervez, M.A. and Afzal, I. 2011. Effect of halopriming on germination and seedling vigor of tomato. African Journal of Agricultural Research, 6: 3551-3559. **(Journal)**

Oracz, K., Bailly, C., Gniazdowska, A., Côme, D., Corbineau, D. and Bogatek, R. 2007. Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds. Journal of Chemistry Ecology, 33:251–264. **(Journal)**

Owen, C.P. 1992. Plant Analysis Reference Producers for the Southern Region of the United States. The University of Georgia, PP: 33-45. **(Book)**

Paparella, S., Araújo, S.S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. Plant Cell Reports, 34:1281-1293. **(Journal)**

Poustini, K. and Siosemardeh, A. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. Field Crops Research. 55:125-133. **(Journal)**

Qasim, M., Ashraf, M.M., Jamil, A.M., Rehman, Y.S. and Rha, E.S. 2012. Water relations and gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus* L.) lines under salt stress. Annual Application of Biology, 142: 307-316. **(Journal)**

Rao, A., Ahmad, S.D., Sabir, S.M., Awan, S.I., Shah, A.H., Abbas, S.R., Shafique, S., Khan, F. and Chaudhary, A. 2013. Potential antioxidant activities improve salt tolerance in ten varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.). American Journal of Plant Science, 4:69-76. **(Journal)**

Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science, 24:1192-1199. **(Journal)**

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovi, L. and Gasparikora, O. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize cultivars. Plant Soil Environment, 52: 186-191. **(Journal)**

Zorb, C., Geilfus, C., Mühling, K. and Ludwig-Müller, J. 2013. The influence of salt stress on ABA and auxin concentrations in two maize cultivars differing in salt resistance. Journal of Plant Physiology, 170: 220 – 224. **(Journal)**

Effect of halopriming on germination and seedling growth of single cross 704 corn seeds under salinity stress condition

Marzyeh Khoraki[1], Rozbeh Farhoudi*

Received: August 3, 2019 Accepted: December 25, 2019

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of corn seed priming on germination and physiological characteristics of corn seedling (SC 704) in two separate experiments, each in a factorial experiment with completely randomized design with four replications. In both experiments, the first factor was the priming solution of Sodium Sulfate, Sodium Chloride and Potassium Ntrate at 2% concentration and the second factor was the salinity treatment (0, 40 and 80 mM Sodium Chloride). The results showed that salt stress decreased germination percentage and seedling growth, α-amylase activity and cell membrane stability of maize seeds in primed and non- primed seeds, whereas priming with Potassium Nitrate solution and Sodium Chloride had a positive effect on germination percentage, seedling length, antioxidants enzymes activity, Gibberellic acid and Auxin concentration and potassium concentration of maize seedling in stress conditions. At 80 mM Sodium Chloride level, the maximum seedling length was observed in seeds treated with Potassium Nitrate (13 cm). Under severe salinity conditions, with increasing activity of antioxidant enzymes, the lowest malondialdehyde concentration was observed in seeds treated with Potassium Nitrate (0.02 nmol / g fw). Also, priming of maize seed with Potassium Nitrate solution prevented the reduction of gibberellic acid and auxin concentration under salinity stress. In conclusion, seeds which are treated with Potassium Nitrate had the highest corn seedling growth under salinity stress.

Keywords: α- amylase; Antioxidant enzymes; Potassium; Seedling length; Plant hormone

How to cite this article

Khoraki, M. and Farhoudi, R. 2021. Effect of halopriming on germination and seedling growth of single cross 704 corn seeds under salinity stress condition. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(4): 447-461. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/JMS.2020.4642

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Gratuated of Seed Science and Technology, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

*Corresponding author: rfarhoudi@gmail.com