علوم و تحقیقات بذر ایران
سال ششم/ شماره دوم/ ۱۳۹۸ (۱۸۷ - ۱۷۷)

DOI: 10.22124/jms.2019.3598

اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذر و برخی خصوصیات جوانه‌زنی و فیزیولوژیک گیاهچه سرخارگل (توده محلی کلات)

آرزو پراور[1*]، سعیده ملکی فراهانی[2]، نسرین سادات عیسی نژاد[3]، ریحانه صادقی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱۶

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار بذر سرخارگل با اسید سالیسیلیک بر رشد گیاهچه سرخارگل، درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، مقدار پرولین و تغییر فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۵ به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش شامل اسید سالیسیلیک در چهار سطح (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و تنش خشکی در چهار سطح (عدم تنش، ۲-، ۴- و ۶- بار) بود. پارامترهایی از قبیل درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، پرولین و کاتالاز معنی‌دار بود. تنش خشکی تا سطح ۴- بار سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز شد. هورمون اسید سالیسیلیک در غلظت یک میلی‌مولار بر افزایش پارامترهای اندازه‌گیری‌شده تاثیر گذارد بود. نتایج نشان داد که بهترین غلظت اسید سالیسیلیک برای مقابله با اثرات تنش خشکی، غلظت یک میلی‌مولار در شرایط سطوح پایین تنش خشکی بود. بنابراین با افزایش سطوح تنش خشکی تیمارکردن بذرها با هورمون اسید سالیسیلیک موثر نبود.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، پرولین، تنش خشکی، سرخارگل، کاتالاز

۱- دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
*نویسنده مسئول: paravararezoo@yahoo.com

مقدمه

سرخارگل گیاهی علفی و چندساله که به تیره کاسنی تعلق دارد، و تمام اندام‌های گیاه حاوی مواد ارزشمندی نظیر ترکیبات آلکیل آمیدی، ایزوبوتیل آمید، متیل بوتیل آمید و اسید شیکوریک است. مواد موثره این گیاه سبب تقویت سیستم دفاعی بدن و افزایش تولید ایمونوگلوبولین می‌شود (Paravar *et al*., 2015). جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه اهمیت ویژه‌ای در تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح دارد بنابراین بذرهایی که بتوانند در مرحله جوانه‌زنی واکنش مناسبی نسبت به تنش خشکی نشان دهند، در مرحله گیاهچه‌ای رشد بهتری داشته و سیستم ریشه‌ای توسعه یافته‌تری را تولید می‌کنند (Korramde *et al*., 2012). کاهش پتانسیل آب خاک، موجب تاخیر و کاهش جوانه‌زنی و استقرار گیاهان می‌گردد (Meyar Sadeghi *et al*., 2010). تحقیقات اخیر نشان داده است که علاوه بر تغییرات فیزیولوژیک که در اثر کمبود آب در گیاه ایجاد می‌شود، صدمات اکسیداتیو نیز از عوامل مهم محدودکننده رشد و تولیدات گیاهی است که در اثر نبود شرایط مناسب ایجاد می‌شود. در شرایط تنش بیش‌ترین صدمه با صدمه اکسیداتیو در سطح سلول همراه است (Tabatabaei, 2014). ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (Sairam and Srivastava, 2001).

پرایمینگ بذر یکی از روش‌های تیمار قبل از کاشت می‌باشد. استفاده از این روش باعث آبنوشی و فعال‌شدن فرایندهای متابولیکی آغازکننده‌های جوانه‌زنی می‌گردد، ولی ظهور ریشه‌چه رخ نمی‌دهد (Khorramdel *et al*., 2012). پرایمینگ بذر موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود و توانایی بیش‌تر بذرها در سبزشدن در شرایط تنش ممکن است به‌دلیل افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در بذر تیمارشده باشد (Ansari *et al*., 2013). اسید سالیسیلیک یکی از ترکیبات فنلی است که در گیاهان تولید می‌شود. ترکیبات این گروه می‌توانند به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد عمل کنند (Meyar Sadeghi *et al*., 2010). اخیراً تحقیقات زیادی بر نقش سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یک ملکول پیام‌رسان مهم در واکنش گیاه به عوامل بیماری‌را انجام شده است (Vicente and Plasencia, 2011). مطالعات نشان داده است که سالیسیلیک‌اسید یک ترکیب آنتی‌اکسیدانت و از جمله یکی از هورمون‌های گیاهی قابل حل در آب است (Zaki and Radwan, 2011). به نظر می‌رسد سالیسیلیک‌اسید نقش عمده‌ای در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در طی حیات گیاه تحت تنش‌های زنده و غیرزنده داشته است (Vicente and Plasencia, 2011). تحقیقات نشان داده است که تیمارکردن تاج خروس با اسید سالیسیلیک در مراحل مختلف رشد در طی تنش خشکی از کاهش ماده خشک تولیدی گیاه جلوگیری کرد (Umebese *et al*., 2009). گزارش کردند که پیش‌تیمارکردن بذرهای کلزا با اسید سالیسیلیک موجب گردید تا سرعت و درصد گیاهچه‌های سبزشده در مزرعه افزایش یابد (Meyar Sadeghi *et al*., 2010). پرولین یکی از اسید آمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش بسزایی دارد و گیاه با تجمع پرولین، پلی آمین، تره-هالوز، افزایش فعالیت آنزیمی نیترات ردوکتاز، افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها و پروتئین سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong *et al*., 2000). افزایش غلظت پرولین تحت تنش ممکن است نشان-دهنده نقش احتمالی این اسید آمینه در تنظیم اسمزی باشد (Martin *et al*., 1993) با توجه به این‌که تنش آبی از عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌شود، تحقیق درباره سازکار مقاومت گیاهان به کم آبی حائز اهمیت است. در این میان، استفاده از پیش‌تیمارهای بذر با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در بهبود و رفع آثار کم آبی در گیاهان سودمند است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تیمار بذر سرخارگل با غلظت-های مختلف اسید سالیسیلیک بر سبزشدن، رشد گیاهچه سرخارگل، تغییرات آنزیمی و محتوای پرولین تحت شرایط تنش خشکی است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه‌های تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید سالیسیلیک با جرم

مولکولی (۱۳۸/۱۲ grmol-1) در چهار سطح (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و پتانسیل آب در چهار سطح (صفر، ۲-، ۴- و ۶- بار) بودند. برای انجام آزمایش، کلیه ظروف و سپس بذرها به‌طور کامل ضدعفونی شدند. برای این منظور بذرهای دارویی سرخارگل (*Echinacea angustifolia*) از منطقه کلات با طول و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۱۲ دقیقه شمالی و ۵۸ درجه و ۳۲ دقیقهٔ شرقی و ارتفاع ۱۶۰۰ متر از سطح دریا در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری گردیده و داخل یخچال با دمای معمولی ۱۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. به‌منظور اجرای آزمایش بذرها با محلول هیپوکلریت‌سدیم سه درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی و پس از آن چندبار با آب مقطر شستشو گردیدند. برای پیش‌تیمار بذر با محلول اسید سالیسیلیک (خلوص ۹۹ درصد)، بذرها به مدت ۶ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس درون محلول اسید سالیسیلیک با غلظت (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) قرار گرفتند (Khorramdel *et al*., 2012). پس از آن بذرها تا قبل از آزمون جوانه‌زنی به مدت ۳۶ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ نیز با استفاده از روش میشل کافمن (Michel and Kaufmann, 1973) تهیه شد. برای ایجاد پتانسیل صفر از آب مقطر استفاده گردید. به‌منظور انجام آزمون جوانه‌زنی، ۵۰ عدد بذر روی کاغذ صافی واتمن شماره دو قرار گرفت و سپس به هر پتری ده میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ با پتانسیل مربوطه افزوده شد به‌طوری‌که بذرها در تماس با محلول باشند (Khorramdel *et al*., 2012). سپس پتری‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند. بذرهای جوانه‌زده هر روز با معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر شمارش و ثبت شدند. بود. بذرها جهت جوانه‌زنی در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۴۵ درصد و سیکل نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند (Paravar and Maleki Farehani., 2017). به‌منظور اجتناب از اثرات منفی تبخیر آب، میزان آب تبخیرشده با استفاده از ترازو تعیین و از طریق افزودن آب مقطر جبران گردید. (Bukhtiar *et al*., 1990). شمارش بذرهای جوانه‌زده از روز دوم به‌صورت روزانه در ساعتی معین و به‌مدت ۱۴ روز انجام گردید (Paravar and Maleki , 2017 Farehani). طول گیاهچه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و جهت اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه، گیاه به‌طور کامل برداشت شد و سپس در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس و به‌مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس وزن شدند. به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گیاهچه‌ها در شرایط مختلف و تیمارهای مختلف در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- سلسیوس نگهداری شدند (Tabatabaei, 2014).

درصد جوانه‌زنی از رابطه یک محاسبه شد (Paravar *et al*., 2015)

$$GP=100\times(\frac{S}{T}) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آن GP= درصد جوانه‌زنی، S= تعداد بذر جوانه‌زده و T= تعداد کل بذور می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی از رابطه دو محاسبه شد (Kalsa , 2012 and Abebie)

$$GR=\Sigma\frac{ni}{di} \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که GR= سرعت جوانه‌زنی،ni =تعداد بذور جوانه‌زده در روز iام، di= زمان پس از کاشت مرتبط با ni بر حسب روز.

برای اندازه‌گیری میزان پرولین ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاهچه خرد شده و در ده میلی‌لیتر سولفات اسید سالیسیلیک ده درصد حل و سپس فیلتر شد. دو میلی‌لیتر از مایع فیلترشده با دو میلی‌لیتر اسید نااین هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید مخلوط شد و به‌مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر محاسبه گردید (Bates *et* , 1973 *.al*). فعالیت کاتالاز با روش اسپکتوفتومتری و بر اساس کاهش جذب پراکسیدهیدروژن در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم پنج میلی‌مولار با اسیدیته ۷، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با اضافه کردن H_2O_2 آغاز شد و کاهش جذب در مدت ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری گردید. مقدار پراکسیدهیدروژن تجزیه‌شده با مقایسه منحنی استاندارد محاسبه شد (Dhindsa *et al*., 1981).

داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای

دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات تنش خشکی و پرایمینگ بذر برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده از قبیل درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاه‌چه، پراکسیداسیون لیپید، آنزیم و پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و همچنین آثر متقابل خشکی و پرایمینگ بذر برای کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

درصد جوانه‌زنی: تنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین و تنش خشکی ۶- بار کم‌ترین جوانه را دارا بودند. به‌طورکلی با افزایش تنش خشکی تا ۶- بار روند کاهشی در درصد جوانه‌زنی مشاهده گردید (شکل ۱). چنین به نظر می‌رسد که کاهش میزان جوانه‌زنی را می‌توان به کاهش سرعت جذب اولیه آب نسبت داد. تنش خشکی با محدودکردن جذب آب توسط بذر، تأثیر بر حرکت انتقال ذخایر بذر و با تأثیر مستقیم بر ساختمان آن بیش‌تر پروتئین در جنین جوانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Fernandez, 1992). بنابراین، کاهش جذب آب توسط بذر در اثر تنش خشکی می‌تواند منجر به کاهش فرایندهای متابولیک و فیزیولوژیک بذر شده و در نتیجه مواد مورد نیاز رشد بذر را با مشکل روبرو سازد (Khorramdel *et al*., 2010). بیش‌ترین و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی در تیمار یک میلی‌مولار و دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده گردید. کاهش درصد جوانه‌زنی در بذرهای پرایم‌نشده با بیش‌تر شدن تنش خشکی مشاهده شد. درحالی‌که پیش‌تیمار بذرها با اسید سالیسیلیک موجب افزایش درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی تا ۴- بار شد و در شرایط تنش ۶- بار درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. هم‌چنین بذرهای تیمارشده در غلظت دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک درصد جوانه‌زنی کم‌تری را در شرایط تنش نسبت به بذرهای پرایم‌نشده داشت. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تیمارشده سرخارگل در شرایط ۱ میلی‌مولار در تنش خشکی ۴- بار (۹۳ درصد) مشاهده شد، درحالی‌که شرایط تنش ۶- بار در غلظت دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک کم‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی (۳۳ درصد) را داشت (شکل ۱). بنابراین می‌توان بیان کرد که در تنش شدید تیمار بذر با اسیدسالیسیلیک موثر نیست. مطالعات نشان داده است که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان جوانه‌زنی بذرهای جو به‌ترتیب در سطح یک و صفر میلی‌مولار مشاهده شد و با بیش‌ترشدن غلظت اسید سالیسیلیک، درصد جوانه‌زنی کاهش یافت (El-Tayeb, 2005). مطالعات نشان داده است که استفاده از اسید سالیسیلیک بیش از یک میلی‌مولار اثر کاهنده بر درصد جوانه‌زنی گیاه کلزا داشت و میزان کم‌تر از آن باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شد (Mazaherani Tirani and Manocheri Kalantari, 2007).

سرعت جوانه‌زنی: در تنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین و تنش خشکی ۶- بار کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد. بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی برای شرایط تنش ۴- بار و کم‌ترین آن برای تنش خشکی ۶- بار مشاهده شد (شکل ۲). بسیاری از آزمایش‌ها نیز کاهش سرعت جوانه‌زنی را در اثر اعمال تنش خشکی گزارش کردند (Khorramdel *et al*., 2010). کاهش سرعت جوانه‌زنی به‌دلیل آن است که تنش باعث افزایش فشار اسمزی در محیط اطراف بذر یا ریشه‌چه گیاه می‌شود که در این صورت جذب آب توسط بذر یا ریشه با مشکل مواجه می‌گردد (Saeidi *et al*., 2007). در پیش‌تیمار یک میلی‌مولار و دو میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد. بذرهای پرایم‌نشده در شرایط کنترل شده نسبت به شرایط تنش خشکی سرعت جوانه‌زنی بیش‌تری داشتند. افزایش سرعت جوانه‌زنی در بذرهای پرایم‌شده نسبت به بذرهای پرایم‌نشده مشاهده شد، اما میزان سرعت جوانه‌زنی بذرهای پرایم‌شده با غلظت دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک کم‌تر از بذرهای پرایم‌نشده در شرایط تنش خشکی بود. البته بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی در پرایمینگ یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در شرایط ۴- بار (۲/۶ بذر جوانه‌زده در روز) و کم‌ترین آن در شرایط تنش ۶- بار در پرایمینگ دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۱/۳ بذر جوانه‌زده در روز) مشاهده شد (شکل ۲)، بنابراین می‌توان بیان کرد که در تنش شدید تیمار بذر با اسیدسالیسیلیک موثر نیست. در پژوهشی اثر اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی گیاه کلزا نشان داده شده است که سرعت جوانه‌زنی با افزایش سطوح پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک کاهش یافت (Mazaherani Tirani and Manocheri Kalantari, 2007).

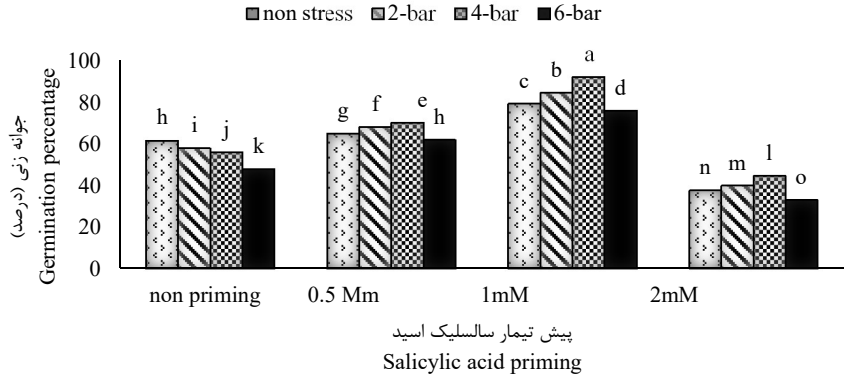
چنین به نظر می‌رسد که اختلال در جذب آب به دلیل اعمال تنش خشکی، باعث کاهش جذب آب و انتقال مواد غذایی از لپه‌ها شده که در نهایت منجر به کاهش سرعت جوانه‌زنی می‌گردد (Khorramdel*et al*., 2010).

طول گیاهچه: در تنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین و ۶- بار کم‌ترین طول گیاهچه مشاهده شد (شکل ۳). توسعه رشد

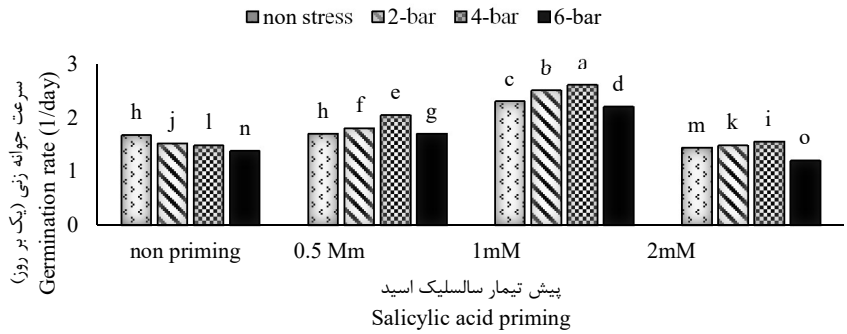
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاه سرخارگل
Table 1. Analysis of variance on plant traits of *Echinacea angustifolia*

		میانگین مربعات Mean square					
منابع تغییرات Sources of variance	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rete	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	پرولین Proline	کاتالاز Catalase activity
تنش خشکی (Drought stress)	3	4046.5**	2.34**	2.57**	0.001**	0.001**	855.68**
پرایمینگ (Priming)	3	141.2**	0.057**	1.12**	0.0009**	0.0001**	77.68**
پرایمینگ ×خشکی(Priming×drought stress)	9	80.6**	0.059**	0.65**	0.001**	0.0001**	61.02**
خطای آزمایش (Error)	32	1.14	0.001	0.02	0.000001**	0.000001	1.01
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		1.57	2.2	3.73	2.84	4.06	5.04

ns،* و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد
ns ,*and ** not significant significant at 1% and 5% level,respectively



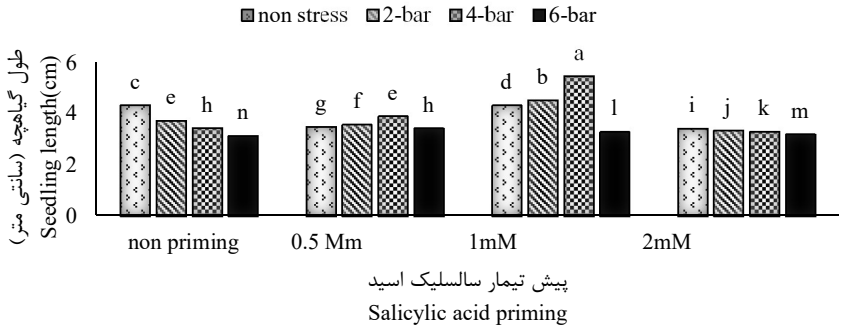
شکل ۱- اثر متقابل مصرف اسید سالیسیلیک و خشکی بر درصد جوانه‌زنی سرخارگل
Figure 1. Interaction effect of salicylic acid and drought stress on germination percentage of *Echinacea angustifolia*



شکل ۲- اثر متقابل مصرف اسید سالیسیلیک و خشکی بر سرعت جوانه‌زنی سرخارگل
Figure 2. Interaction effect of salicylic acid and drought stress on on germination rate of *Echinacea angustifolia*

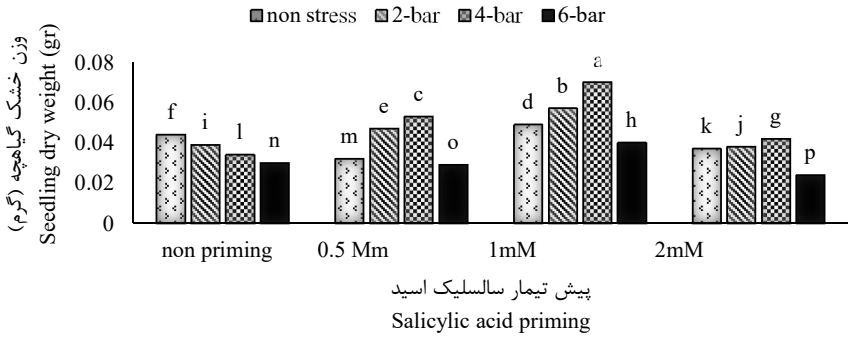
طولی گیاهچه از مکانیزم‌های مهم و اولیه در مواجه با تنش خشکی است که ژنوتیپ‌هایی که رشد گیاهچه بیش‌تری داشته باشند می‌تواند بر روی قابلیت تأمین آب برای فعالیت گیاهی تحت شرایط تنش خشکی تأثیر گذاشته و گیاه را از اثرات مخرب تنش مصون دارد (Balouchi, 2010). اعمال پتانسیل آب و در نتیجه بروز تنش خشکی باعث کاهش جذب آب به وسیله بذر شده که این امر باعث اختلال در ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌های موثر در جوانه‌زنی و رشد بذر شده که در نهایت منجر به کاهش طول گیاهچه می‌گردد. بیش‌ترین و کم‌ترین طول گیاهچه به‌ترتیب در غلظت یک میلی‌مولار و دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. مقدار طول گیاهچه بذرهای پرایم‌نشده با افزایش تنش خشکی کاهش یافت درحالی‌که مقدار طول گیاهچه بذرهای تیمارشده با اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی تا ۴- بار افزایش یافت. بذرهای تیمارشده در غلظت دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مقدار طول گیاهچه کم‌تری را نسبت به بذرهای پرایم‌نشده داشتند. بذرهای سرخارگل در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در تنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین طول گیاهچه (۵/۴۷ سانتی‌متر) و کم‌ترین طول گیاهچه را در غلظت ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۳/۲۴ سانتی‌متر) در شرایط تنش ۶- بار داشت (شکل ۳). نتایج نشان می‌دهد که با افزایش سطوح تنش خشکی تیمارکردن بذرها با اسید سالیسیلیک موثر نیست. نتایج خرم‌دل و همکاران (Khorramdel *et al*., 2010) در بررسی تأثیر تنش خشکی و پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار در تنش خشکی ۵- بار بیش‌ترین طول گیاهچه را داشت بنابراین طول گیاهچه در مقایسه با سایر صفات، از حساسیت بیش‌تری نسبت به تنش خشکی برخوردار است؛ بنابراین چنین به نظر می‌رسد که اختلال در جذب آب به‌دلیل اعمال تنش خشکی، باعث کاهش و یا عدم جذب آب به‌دلیل اعمال تنش خشکی، باعث کاهش و یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها شده که در نهایت، منجر به کاهش رشد گیاهچه می‌شود. علاوه بر آن کاهش جذب آب توسط بذر به‌دلیل کاهش ترشح هورمون‌های مؤثر در تنظیم رشد و نمو گیاهچه باعث اختلال در رشد و در نتیجه کاهش طول گیاهچه می‌گردد.

وزن خشک گیاهچه: در تنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین و ۶- بار کم‌ترین مقدار وزن خشک گیاهچه مشاهده شد (شکل ۴). مطالعات نشان داده است که کاهش وزن خشک گیاهچه در اثر افزایش تنش خشکی امری طبیعی است (Sharefi, 2008). در پژوهشی گزارش شده است که با افزایش تنش خشکی، وزن خشک گیاهچه مارتیغال کاهش یافت (Yazdani *et al*., 2010). مقدار وزن خشک گیاهچه در غلظت یک میلی‌مولار و دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار طول گیاهچه را داشت. مقدار وزن خشک گیاهچه بذرهای پرایم‌نشده با بیش‌ترشدن تنش خشکی کاهش یافت درحالی‌که بذرهای تیمارشده با اسید سالیسیلیک بیش‌ترین مقدار وزن خشک گیاهچه را تا سطح تنش خشکی ۴- بار داشتند. بذرهای تیمارشده در غلظت ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مقدار وزن خشک گیاهچه کم‌تری را نسبت به بذرهای پرایم‌نشده در شرایط تنش خشکی داشتند. بیش‌ترین مقدار وزن خشک گیاهچه در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت تنش ۴- بار (۰/۷۰۰ گرم) و کم‌ترین در غلظت دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در شرایط تنش ۶- بار (۰/۲۴۰ گرم) مشاهده شد (شکل ۴). نتایج بدست آمده در این شاخص همانند نتایج فوق می‌باشد که در شرایط تنش شدید پیش‌تیمار کردن بذرها با اسید سالیسیلیک موثر نیست. مشابه این نتایج، پژوهشی نیز افزایش وزن خشک گیاهچه را در شرایط پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک اثبات کرده است (Tabatabaei, 2013). خرم‌دل و همکاران (Khorramdel *et al*., 2010) افزایش وزن خشک گیاهچه در شرایط پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک گزارش کردند. به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش وزن خشک گیاهچه در پتانسیل‌های آب پایین، تحرک کم مواد غذایی و انتقال کم‌تر آن‌ها از لپه‌ها به محور جنینی باشد. بنابراین عواملی که سرعت رشد محور جنینی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، می‌توانند بر تحرک مواد غذایی و انتقال آن‌ها از لپه به محور جنینی نیز تأثیر بگذارند. بدین ترتیب بین میزان تجمع ماده خشک و رشد ساقه‌چه گیاهان متحمل به تنش‌های مختلف از جمله خشکی، رابطه مستقیمی گزارش شده است (Nagashiro and Shibata, 1995).



شکل ۳- تأثیر اثرمتقابل مصرف اسید سالیسیلیک و خشکی بر طول گیاهچه سرخارگل

Figure 3. Interaction effect of salicylic acid and drought stress on seedling length of *Echinacea angustifolia*



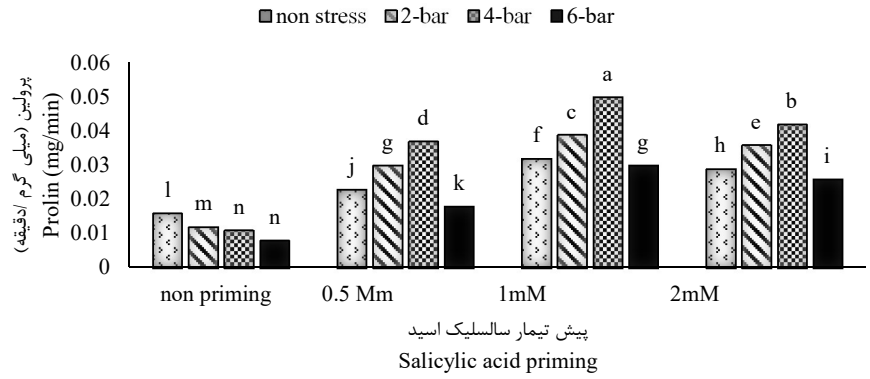
شکل ۴- اثر متقابل مصرف اسید سالیسیلیک و خشکی بر وزن خشک گیاهچه سرخارگل

Figure 4. Interaction effect of salicylic acid and drought stress on seedling dry weight of *Echinacea angustifolia*

پرولین: درتنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین و تنش خشکی ۶- بار کم‌ترین مقدار پرولین مشاهده شد (شکل ۵). پرولین به عنوان یک ماده محافظت‌کننده غیر سمی، برای تنظیم اسمزی در شرایط خشکی و سایر تنش‌های محیطی مطرح است. از سوی دیگر پرولین تجمع‌یافته در گیاهان، باعث افزایش ظرفیت پاداکسایشی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌شود، بنابراین به نظر می‌رسد تجمع آمینو اسید پرولین به عنوان سازوکاری مؤثر جهت کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ محتوای آب گیاه تحت شرایط خشکی مطرح باشد. بنابراین بیش‌ترین مقدار پرولین را بذرهای تیمارشده با اسید سالیسیلیک نسبت به بذرهای تیمارنشده داشتند. این ماده پرولین یک ترکیب مهم در طیف واکنش‌های میانجی‌گیری و القاءشده با اسید سالیسیلیک در گیاهان در پاسخ به تنش خشکی و کمبود آب است که هم در القاء اثرات مخرب عوامل تنش و هم در تسریع ترمیم و انجام متابولیسم‌ها در گیاهان همکاری می‌کند (Rahimi Tashi and Niknam, 2016). بذرهای تیمارشده با اسید سالیسیلیک بیش‌ترین مقدار پرولین را در شرایط تنش نسبت به بذرهای پرایم‌نشده داشت. به‌طوری‌که در بذرهای پرایم‌نشده با افزایش تنش خشکی مقدار پرولین کاهش یافت اما در بذرهای پرایم‌نشده تا سطح تنش خشکی ۴- بار افزایش مقدار پرولین مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار پرولین در بذرهای پرایم‌شده در غلظت ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در تنش خشکی ۴- بار (۰/۰۵ میلی‌گرم بر دقیقه) و کم‌ترین آن در بذرهای پرایم‌نشده سرخارگل در تنش خشکی ۶- بار (۰/۰۰۸ میلی‌گرم بر دقیقه) مشاهده شد (شکل ۵). نتایج مشابه با این پژوهش گزارش کرد که استفاده از اسید سالیسیلیک در بذرهای سیاه‌دانه منجر به افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش گردید (Tabatabaei, 2014).

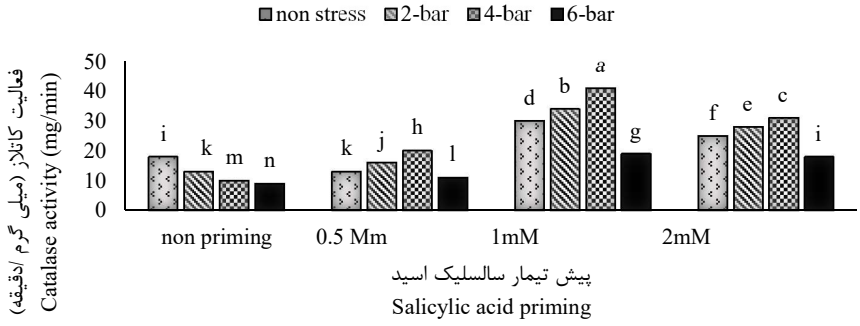
فعالیت آنزیم کاتالاز: در تنش خشکی ۴- بار بیش‌ترین و تنش خشکی ۶- بار کم‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد (شکل ۶). مشابه این نتایج گزارش شده است

که فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Tabatabaei, 2014). فعالیت آنزیم کاتالاز در بذرهای پرایم‌شده در شرایط تنش خشکی تا سطح ۴- بار افزایش یافت درحالی‌که در بذرهای پرایم‌نشده با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در تنش خشکی ۴- بار و کم‌ترین آن در بذرهای پرایم‌نشده در شرایط تنش ۶- بار مشاهده شد (شکل ۶). نتایج بازگوکننده این است که با افزایش سطوح تنش خشکی تیمارکردن بذرها لازم نیست چون حتی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در این شرایط پایین است. تنش از مهم‌ترین عواملی است که سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسید هیدروژن می‌شود. در واقع آنزیم کاتالاز این مولکول را تبدیل به آب می‌کند (Hegedus *et al*., 2001). همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌تواند شاخصی برای افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نظر گرفته شود، به‌طوری‌که افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور در شرایط تنش خشکی و شوری گزارش شده است (Kukreja *et al*., 2005). طباطبایی (Tabatabaei, 2014) گزارش کرد که غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون اسید سالیسیلیک حالتی شبیه به تنش ایجاد کرد و سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد.



شکل ۵- اثر متقابل مصرف اسید سالیسیلیک و خشکی بر طول پرولین سرخارگل

Figure 5. Interaction effect of salicylic acid and drought stress on proline of *Echinacea angustifolia*



شکل ۶- اثر متقابل مصرف اسید سالیسیلیک و خشکی بر طول پرولین سرخارگل

Figure 6. Interaction effect of salicylic acid and drought stress on catalase activity *Echinacea angustifolia*

نتیجه‌گیری

تنش خشکی تا سطح ۴- بار سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز شد. استفاده از اسید سالیسیلیک سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی شد. اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پرولین در شرایط تنش خشکی می‌تواند تأثیرات مضر تنش خشکی را کاهش دهد و سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش شود. در این

آزمایش، بهترین غلظت اسید سالیسیلیک برای مقابله با تأثیرات تنش خشکی، غلظت یک میلی‌مولار در شرایط تنش و نبود تنش بود و غلظت‌های کم‌تر و بیش‌تر از آن، تأثیرات مثبت کم‌تری بر مقابله با تنش خشکی ایجاد کردند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد جهت همکاری ابراز می‌دارند.

منابع

Balouchi, H.R. 2010. Screening wheat parents of mapping population for heat and drought tolerance, Selection of wheat genetic variation. International Journal of Biological and Life Sciences, 6: 56-66. (In Persian)**(Journal)**

Ansari, O., Azadi, M.S., Sharif-Zadeh, F. and Younesi, E. 2013. Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress conditions. Stress Physiology and Biochemistry, 9(3): 61-71. (In Persian)**(Journal)**

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

Bukhtiar, B. and Shaykr, A. 1990. Drought tolerance in lentil. II Differential genotypic response to drought. Journal of Agricultural Research Lahore, 28: 117-126. **(Journal)**

Dhindsa, R.S., Dhindsa, P. and Thorpe, T. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32: 93-101. **(Journal)**

El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation, 45: 215-225. **(Journal)**

Fernandez, G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Proceeding of the Sympozium. Taiwan, 13-16 August. **(Conference)**

Hegedus, A., Erdei, S. and Horvath, G. 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. Plant Science, 160: 1085-1093. **(Journal)**

Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z. and Verma, D.S. 2000. Removal of feedback inhibition of 1-pyrrolin -5-carboxylate synthetas results in increased prolin accumulation and prodaction of plant from osmotic stress. Plant Physiology, 122: 1129-1136. **(Journal)**

Kalsa, K.K. and Abebie, B. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigour traits of *Vicia villosa* a sp. dasycarpa (Thn). African Journal of Agricultural Research, 7(21): 3202-3208. **(Journal)**

Khorramdel, S., Rezvani Moghadam, P., Amin Qafori, A. and Shabahang, J. 2012. Effect of priming by salicylic acid and water stress on germination characteristics of *Nigella Sativa.* Iranian Journal of Field Crops Research, 10(4): 709-725. (In Persian)**(Journal)**

Kukreja, S., Nandval, A.S., Kumar, N., Sharma S.K., Sharma, S.K. Unvi, V. and Sharma, P.K. 2005. Plant water status, H_2O_2 scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. Biology Plantarum, 49: 305-308. **(Journal)**

Martin, M., Micell, F., Morgan, J.A., Scalet, M. and Zerbi, G .1993. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. Agronomy and Crop Science, 171: 176-184. **(Journal)**

Mazaherani Tirani, M. and Manocheri Kalantari, M.R. 2007. Three factors salicylic acid and ethylene drought stress and their interaction on seed germination of canola. Journal of Biology, 9: 408-418. (In Persian)**(Journal)**

Meyar Sadeghi, S., Shekari, F., Fotovat, R. and Zangani, E. 2010. The effect of priming by salicylic acid on vigor and seedling growth of canola (*Brassica napus*) under water deficit condition. Journal of Plant Biology, 2(6): 55-70. (In Persian)**(Journal)**

Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 51(5): 914-916. **(Journal)**

Nagashiro, C. and Shibata, W.F. 1995. Influence of flooding and drought conditions on herbage yield and quality of phases bean (*Macroptillium lathyroides*). Grassland Science, 41:218-225. **(Journal)**

Paravar, A., Omidi, H., Esanezhad, N. and Amirzadeh, M. 2015. Effect hydropriming seed germination and seedling growth coneflower (*Echinaceac prupurea*) under salt stress. Journal of Seed Ecophysiology, 1(1): 57-69. (In Persian)**(Journal)**

Paravar, A. and Maleki Farehani, S. 2017. Effect of time and priming temperature on germination of coneflower (*Echinacea angustifolia*) under salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(1): 31-44. (In Persian)**(Journal)**

Rahimi Tashi, T. and Niknam, V. 2016. Evaluation of salicylic acid pretreatment and salinity stress on some physiological and biochemical parameters in *Triticum aestivum* L. Iranian Journal of Plant, 28 (2): 297-306. (In Persian)**(Journal)**

Saeidi, M., Ahmadi, A. Postini, K. and Jahansooz, M.R. 2007. Evaluation of germination traits of different genotypes of wheat in osmotic stress situation and their correlations with speed of emergence and drought tolerance in Farm situation. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 11: 281-293. (In Persian)**(Journal)**

Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. Journal of Agronomy and Crop Science, 186: 63-70. **(Journal)**

Sharefi, S. 2008. Assess the impact of drought and salinity levels on plant traits Martyghal. Third Symposium of Medicinal Plants, Tehran, Shahed University, November:1-5. (In Persian)**(Conference)**

Tabatabaei, S.A. 2014. Effects of barely seed priming with salicylic acid on seedling growth, proline and antioxidant enzyme activities under drought stress. Crops Improvement, 16(2): 475-486. (In Persian)**(Journal)**

Effect of priming by salicylic acid and drought stress on seed germination and some physiological characteristics of *(Echinacea angustifolia*) seedling (Kalat landrace)

Arezoo Paravar[1*], Saeideh Maleki Farehani[2], Nasrin Sadat Esanezhad[3], Reyhaneh Sadeghi[4]

Received: May 23, 2016 Accepted: November 6, 2016

Abstract

In order to evaluate the effect of seed priming with salicylic acid coneflower(*Echinacea angustifolia*) seedling growth, percentage and speed of germination, length and seedling dry weight, proline and change of catalase activity under drought stress as a factorial design trial It was conducted with three replications in Shahed University of laboratory of seed Science and Technology in 2017. The treatments include salicylic acid in four levels (non priming, 5.0, 1 and 2 mM) and drought in four levels (control, -2, -4 and -6 bar). Parameters such as percent germination, seedling dry weight and length, proline and catalase activity were measured. The salicylic acid was effected on increases the measured parameters in concentration 1 mM. The results showed that the best concentration of salicylic acid to counter the effects of drought stress, drought stress was a concentration of 1 mM at low level. Thus, increased levels of stress hormone treatment acorns salicylic acid were not effective concentrations less stress and more positive impact less on dealing with drought stress created.

Keywords: Catalase, Coneflower, Drought stress, Proline, Salicylic acid

How to cite this article

Paravar, A., Maleki Farahani, S., Esanezhad, N.S. and Sadeghi, R. 2019. Effect of priming by salicylic acid and drought stress on seed germination and some physiological characteristics of *(Echinacea angustifolia*) seedling (Kalat landrace). Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(2): 177-187. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2019.3598

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. Ph.D student, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
3. MSc graduated, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
4. MSc student, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran,
*Corresponding author: paravararezoo@yahoo.com