علوم و تحقیقات بذر ایران
سال ششم/ شماره اول/ ۱۳۹۸ (۳۶۸ - ۳۵۹)

DOI: 10.22124/jms.2019.3818

اثر متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی، پرولین و آنزیم پراکسیداز در رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) تحت تنش کلرید سدیم

رضا زینلی[۱]، فرشاد صادقی[۲]، مرضیه دهقان[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۱

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تاثیر پرایمینگ بذر بر برخی خصوصیات رازیانه در مرحله جوانه‌زنی، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۹۴-۱۳۹۳ در دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل فاکتور اول (A): متیل جاسمونات در سه سطح (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور دوم (B): کلرید سدیم در ۴ سطح (صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر) بود. صفات مورد بررسی شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، محتوای پرولین و میزان آنزیم پراکسیداز بود. نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث شد درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش (غلظت صفر کلرید سدیم) بیش-ترین مقدار (۱۰۰ درصد) را داشته باشد. همچنین پیش‌تیمار بذرهای رازیانه توسط غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در شرایط نرمال شد. کاربرد غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث شد بیش‌ترین محتوای پرولین در شرایط تنش شوری متوسط (۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) و شدید (غلظت ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) مشاهده گردید. بر اساس نتایج حاصل از اثر متقابل پرایمینگ و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم مشخص شد پیش‌تیمار بذرهای رازیانه توسط متیل جاسمونات با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شوری شدید (غلظت ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر) شد. در مجموع، نتایج حاصل نشان داد که پیش‌تیمار بذر توسط متیل جاسمونات در مناطق مستعد تنش شوری می‌تواند باعث مقاومت بذر گیاه رازیانه در مرحله جوانه‌زنی شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، پرولین، رازیانه، شاخص جوانه‌زنی، کلرید سدیم

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
۳- کارشناس سازمان جهاد کشاورزی استان فارس، شیراز، ایران
*نویسنده مسئول: marzeiehd@gmail.com

مقدمه

گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) یکی از مهم-ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی از خانواده چتریان می‌باشد، که عمدتاً به‌منظور استفاده از اسانس حاصل از آن در صنایع مختلف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی مورد کشت قرار می‌گیرد (Darzi and Haj Sayed Hadi, 2002). با توجه به سابقه استفاده از گیاهان دارویی و نیز تغییر نگرش و افزایش تقاضای جهانی در خصوص استفاده از این گیاهان در درمان بیماری‌ها و با عنایت به مضرات ناشی از مصرف داروهای شیمیایی (Hayouni *et al.,* 2008) ضرورت دارد تا در مورد گیاهان دارویی تحقیقات جامعی صورت گیرد. از طرفی با عنایت به وسعت اراضی تحت تنش شوری در ایران و با در نظر گرفتن روند رو به رشد جمعیت جهان همراه با کاهش و تخریب منابع آب و خاک، تحقیق در خصوص گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی دارای اهمیت است (Fallahi *et al.,* 2009). در این مناطق، اغلب مقدار بارندگی به اندازه‌ای نیست که بتواند نمک‌های خاک را شسته، از دسترسی ریشه خارج کند. به‌علاوه در این مناطق، اغلب میزان تبخیر از سطح خاک به اندازه‌ای زیاد است که موجب تجمع مقدار زیادی نمک در سطح خاک می‌شود (Salimi and Shekari, 2012).گزارش شده است که مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی در مراحل مختلف چرخه زندگی متفاوت است و معمولاً در اغلب گیاهان، مرحله جوانه‌زنی به‌عنوان حساس‌ترین مرحله رشدی تلقی می‌شود (Radosevich, 1997). تحمل به شوری در طی این مرحله برای استقرار گیاهان مهم می-باشد، زیرا که جوانه‌زنی ضعیف و کاهش رشد گیاه‌چه منجر به استقرار ضعیف و کاهش محصول می‌شود (El-Keblawy and Al-Rawai, 2005). در مناطقی که اغلب با تنش شوری مواجه هستند، جوانه‌زنی بذر با مشکل مواجه می‌شود (Ashraf and Foolad, 2005). این تنش‌ها با ایجاد خشکی فیزیولوژیک و محدودکردن جذب آب، منجر به کاهش تجزیه مواد ذخیره‌ای بذر، اختلال در سنتز پروتئین‌های ذخیره‌ای و کاهش جوانه‌زنی بذور می-شود (Ashraf and Foolad, 2005). طبق گزارش پاتادا و همکاران (Patade *et al.,* 2011) شاخص‌های جوانه-زنی در اثر اعمال تنش در گیاهان مختلف کاهش می‌یابد. همچنین محمدی (Mohammadi, 2013) اظهار داشت که با افزایش تنش شوری، شاخص‌های مربوط به مصرف مواد ذخیره‌ای بذر کاهش می‌یابد. پرایمینگ بذر عبارت است از آبنوشی کنترل‌شده پیش از کاشت بذر و به‌دنبال آن پسابیدگی بذر است، یک شیوه معمول برای افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبزشدن تحت شرایط تنش و غیر تنش می‌باشد (Ashraf and Foolad, 2005). انواع پرایمینگ شامل اسموپرایمینگ، هالوپرایمینگ، هیدروپرایمینگ، ماتریک‌پرایمینگ، ترموپرایمینگ، بیوپرایمینگ و پرایمینگ بذر با هورمون-های رشد گیاهی می‌باشد (Ashraf and Foolad, 2005). در طی پرایمینگ، بذرها معمولاً در معرض یک پتانسیل آب بیرونی که به قدر کافی برای ممانعت از جوانه‌زنی کافی است، اما اجازه اتفاق‌افتادن مراحل بیوشیمیایی و فیزیولوژیک قبل از جوانه زنی را می‌دهد، قرار می‌گیرند. بذرهای تیمارشده هنگامی که در محیط جوانه‌زنی مناسب قرار می‌گیرند بسیار سریع‌تر از بذرهای تیمارنشده جوانه خواهند زد. تاکنون تحقیقات متعددی در خصوص واکنش برخی گیاهان دارویی به تنش‌های شوری در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه‌ای صورت گرفته است (Burnett *et al.,* 2005). بررسی شوری بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه‌چه اسفرزه نشان داد که صفات طول ساقه-چه، طول ریشه‌چه و گیاه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، بنیه بذر، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و میانگین مدت جوانه‌زنی کاهش معنی‌داری داشت (Shariatmadary *et al.,* 2009).کائور و همکاران (Kaur *et al.,* 1998) گزارش کردند که پیش‌تیمار با اسید جیبرلیک موجب بهبود جوانه‌زنی و رشد نخود ایرانی در طی تنش خشکی شد. همچنین پیش‌تیمار بذر با دیگر هورمون‌های گیاهی سبب افزایش جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی بذور گردید (Wang and Li, 2006). انصاری و همکاران (Ansari *et al.,* 2012) و شیخ باگلو و همکاران (Sheykhbaglou *et al.,* 2014) گزارش کردند که پیش‌تیمارهای مختلف بذر سبب افزایش در شاخص‌های مرتبط با مصرف مواد ذخیره‌ای و رشد گیاه‌چه چاودار کوهی و سورگوم می‌شود.

هدف از این پژوهش بررسی تحمل بذر رازیانه در هنگام جوانه زنی به تنش شوری و همچنین جستجوی ترکیب و غلظت مناسب هورمونی در افزایش تحمل این گیاه به تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌منظور بررسی خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی رازیانه در بهار سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز انجام شد. بذر رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) مورد آزمایش از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. تاریخ تولید بذرهای تهیه‌شده مربوط به سال ۱۳۹۳ بود. قبل از اجرای آزمایش، جهت تعیین قوه‌نامیه بذر از آزمون تترازولیوم استفاده شد. برای این منظور، محلول تترازولیوم یک دهم، که از ترکیب ۰/۱ میلی‌لیتر تترازولیوم با الکل حاصل شده است، با pH = ۷ درصد تهیه شد. سپس تعداد ۲۰ عدد بذر به دو نیم تقسیم شدند و در محلول تترازولیوم غوطه‌ور گردیدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفتند. جنین‌های زنده رنگ قرمز به خود گرفتند. در نهایت با استفاده از رابطه (۱) درصد زنده‌بودن بذرها محاسبه گردید. که مشاهده-های این آزمون بیانگر زنده‌بودن تمامی بذرها بود.

(رابطه ۱) ۱۰۰ × (تعداد کل بذرها / تعداد بذرهای تغییر رنگ‌یافته) = درصد زنده‌بودن بذر

بذرها قبل از اعمال تیمار با محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر به‌صورت سطحی روی کاغذ خشک‌کن، خشک شدند و سپس به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲±۲۵ درجه سلسیوس) به‌طور کامل خشک گردیدند. به‌منظور تعیین درصد و سرعت جوانه‌زنی و میزان آنزیم پراکسیداز و محتوای پرولین بذرهای گونه مذکور، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. میانگین داده‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. متیل جاسمونات در سه سطح (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و کلرید سدیم در چهار سطح (۰، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمینس بر متر) فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق بودند. بذرها به‌مدت ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات پرایم شدند و سپس دمای اتاق به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

۳۰ بذر در هر پتری که حاوی کاغذ صافی بود، قرار گرفتند و به هر پتری ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های کلرید سدیم مربوطه اضافه شد. کشت‌ها در دمای $20 \pm 2\ ^{\circ}C$ و در تاریکی مطلق به‌مدت هفت روز نگهداری شد. جوانه‌زنی در این آزمایش به‌صورت خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه حداقل به‌میزان ۵ میلی‌متر در نظر گرفته شد. پس از کشت بذور، به‌صورت روزانه تعداد بذور جوانه‌زده در هر واحد آزمایشی به‌منظور برآورد سرعت جوانه‌زنی در هر واحد آزمایشی شمارش می‌شد و این کار تا زمانی انجام شد که در هر واحد آزمایشی سه روز متوالی تغییری در تعداد بذور جوانه‌زده مشاهده نشد (طی دوره رشد در صورت نیاز در شرایط آزمایشگاهی استریل با تیمارهای مربوطه، آبیاری واحدهای آزمایشی صورت می‌گرفت). پس از روز هفتم، سرعت و درصد نهایی جوانه‌زنی، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم پراکسیداز اندازه‌گیری شد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد (Patade *et al.,* 2011):

(رابطه ۲) $GR = \sum (I / (۱۰۰ \times \text{تعداد بذور جوانه زده تا روز } I$

که در آن I، شماره روزهای مورد نظر پس از شروع آزمایش

درصد نهایی جوانه‌زنی با استفاده از فرمول (۳) محاسبه شد (Patade *et al.,* 2011):

(رابطه ۳) $FGP=\sum(I$ روز تا زده جوانه بذور تعداد / (۱۰۰ × بذور تعداد کل

محتوای پرولین آزاد به‌روش بیتس و همکاران (Bates *et al.,* 1973) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، پس از توزین ۰/۵ گرم گیاه‌چه رازیانه و همگن‌سازی آن‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد، نمونه‌ها سانتریفوژ شده و معرف نین‌هیدرین و اسید استیک خالص به روشناور افزوده شد. پس از قراردادن نمونه‌ها در حمام آب گرم به‌مدت یک ساعت، چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه و محلول بالایی جدا گردید و در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر طبق روش قناتی و همکاران (Ghanati *et al.,* 2002) انجام شد. ۰/۲ گرم از بافت گیاه‌چه تازه منجمدشده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲مولار، pH=۶/۸ در دمای ۴-۰ درجه سلسیوس ساییده و عصاره‌گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ و محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی، بافر، گایاکول با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر

مدل (cintra 6 GBC) خوانده و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام گرفت و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. همچنین از نرم افزار Excel جهت ترسیم نمودارها استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف تنش شوری و پرایمینگ بذر قرار گرفت و در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین اثر متقابل پرایمینگ بذر و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۱). بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، پرایم‌کردن بذرهای رازیانه با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین این تیمارها وجود نداشت. کم‌ترین درصد جوانه‌زنی (۶۶/۶۱ درصد) بذرهای رازیانه مربوط به بذرهای شاهد بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، با افزایش غلظت کلرید سدیم از درصد جوانه-زنی بذرهای رازیانه کاسته شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به غلظت صفر (۹۲/۱۱ درصد) و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به غلظت ۷/۵ دسی-زیمنس بر متر کلرید سدیم بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم نشان داد، پیش‌تیمار بذرهای رازیانه توسط غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث شد درصد جوانه‌زنی در شرایط نرمال (غلظت صفر) به ۱۰۰ درصد برسد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر متیل جاسمونات در شرایط تنش شوری بر شاخص جوانه‌زنی و آنزیمی رازیانه

Table 1. Analysis of Variance of Metyljasmonate effect under NaCl stress condition on fennel germination Index and enzyme

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germinartion rate	محتوای پرولین Prolin content	آنزیم پراکسیداز Peroxidas enzyme
متیل جاسمونات Metyljasmonate(A)	2	2080.61**	9.33**	0.51**	1596.00**
کلرید سدیم NaCl (B)	3	245.54**	1.06ns	0.027**	129.33**
A × B	6	6.82**	0.029 ns	0.004**	15.33**
خطای آزمایش Error	24	0.75	1.00	0.000094	1.00
ضریب تغییرات (٪) C.V.	-	10.0	17.56	1.24	1.44

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ درصد

ns,** are non-significant and significant at 1% of probability level, respectively.

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و کلرید سدیم بر درصد جوانه‌زنی بذر رازیانه

Table 2. The effect of different concentrations of methyl jasmonate and NaCl on germination percentage of fennel seeds

کلرید سدیم sodium chloride / متیل جاسمونات methyleJasmonate	0	2.5 dS/m	5 dS/m	7.5 dS/m	میانگین Mean
شاهد Control	76.33 d	73.47 e	68.61 f	66.61 g	71.25 C
متیل جاسمونات ۵۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 500 mg/l	100.0 a	100.0 a	89.06 c	89.00 c	94.51 A
متیل جاسمونات ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 1000 mg/l	100.0 a	95.41 b	90.17 c	88.74 c	93.58 B
میانگین Mean	92.11 A	89.62 B	82.61 C	81.45 D	-

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هر ستون و ردیف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Average with the same letters in each column and row are not significantly different from each other.

همچنین پیش‌تیمار بذرها با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث شد در شرایط نرمال و تنش شوری ملایم (غلظت ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) درصد جوانه‌زنی برابر با ۱۰۰ درصد باشد و تفاوت معنی‌داری با تیمار فوق نداشته باشد (جدول ۲). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر پرایمینگ بذر قرار گرفت و در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشتند. در شرایط تنش شوری سرعت جوانه‌زنی بذرها معنی‌دار نبود. همچنین اثر متقابل پرایمینگ بذر و تنش شوری معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش مشخص شد سرعت جوانه‌زنی بذرهایی که توسط غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات پیش‌تیمار شدند، بیش‌تر از سایر تیمارها بود و به‌طور متوسط در هر روز ۶ بذر جوانه‌زنی داشت. بررسی اثر متقابل پرایمینگ و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم نشان داد، پیش‌تیمار بذرهای رازیانه توسط غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در شرایط نرمال شد. همچنین سرعت جوانه‌زنی بذرهای تیمارشده توسط غلظت ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات در شرایط تنش شوری ملایم (غلظت ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نداشت. سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم کاهش یافت و کم‌ترین مقدار را داشت و غلظت‌های مختلف متیل جازمونات نتوانست اثرات تنش کلرید سدیم را کاهش دهد (جدول ۳).

جدول ۳ - اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و کلرید سدیم بر سرعت جوانه‌زنی بذر رازیانه

Table 3. Effect of different concentrations of methyl jasmonate and NaCl on fennel seed germination rate

کلرید سدیم sodium chloride / متیل جاسمونات methyleJasmonate	0	2.5 dS/m	5 dS/m	7.5 dS/m	میانگین Mean
آب مقطر Distilled water	5.00 ab	4.80 ab	4.50 ab	4.40 b	4.67 B
متیل جاسمونات ۵۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 500 mg/l	6.60 a	6.60 a	5.90 ab	5.90 ab	6.25 A
متیل جاسمونات ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 1000 mg/l	6.60 a	6.30 ab	5.90 ab	5.80 ab	6.15 A
میانگین Mean	6.06 A	5.90 A	5.43 A	5.36 A	

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هر ستون و ردیف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Average with the same letters in each column and row are not significantly different from each other

.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر پرایمینگ بذور توسط تنظیم‌کننده‌های رشد و همچنین تأثیر تنش شوری بر محتوای پرولین گیاه‌چه رازیانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل پرایمینگ و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پرولین معنی‌دار بود (جدول ۱).

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش پرایمینگ بذور رازیانه توسط غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث شد محتوای پرولین در گیاه‌چه افزایش یابد و بیش‌ترین مقدار (۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را دارد. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش بیش‌ترین محتوای پرولین (۰/۸۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به گیاه‌چه‌هایی بود که در شرایط تنش شوری شدید (۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) قرار داشتند. در غلظت‌های پایین‌تر محتوای پرولین کاهش یافت. بررسی اثر متقابل پرایمینگ و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم نشان داد، بیش‌ترین محتوای پرولین مربوط به گیاه‌چه‌هایی بود که توسط غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات پیش‌تیمار شده بودند و در شرایط تنش شوری متوسط (۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) و تنش شوری شدید (غلظت ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) قرار داشتند. در بذرهایی که توسط آب مقطر پرایم شده بودند و در شرایط تنش شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر قرار داشتند، کم‌ترین میزان پرولین مشاهده شد (جدول ۴). نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر پرایمینگ بذور توسط تنظیم‌کننده‌های رشد و همچنین تأثیر تنش

شوری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه رازیانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل پرایمینگ و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۴- اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و کلرید سدیم بر محتوای پرولین گیاهچه رازیانه

Table 4. Effect of different concentrations of methyl jasmonate and NaCl on the fennel seedling proline content

کلرید سدیم sodium chloride / متیل جاسمونات methyleJasmonate	0	2.5 dS/m	5 dS/m	7.5 dS/m	میانگین Mean
آب مقطر Distilled water	0.49 h	0.53 g	0.50 h	0.64 f	0.54 C
متیل جاسمونات ۵۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 500 mg/l	0.79 e	0.82 d	0.92 b	0.93 b	0.86 B
متیل جاسمونات ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 1000 mg/l	0.86 c	0.93 b	0.96 a	0.96 a	0.92 A
میانگین Mean	0.71 D	0.76 C	0.79 B	.084 A	-

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هر ستون و ردیف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Average with the same letters in each column and row are not significantly different from each other

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه‌هایی که توسط متیل جاسمونات با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پیش‌تیمار شده بودند، بیش‌ترین مقدار را دارا بود(جدول ۵). پیش-تیمار بذور توسط غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات باعث شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کم‌تر از تیمار فوق باشد. در اثر تنش شوری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به شرایط تنش شوری شدید (۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) بود. در غلظت‌های پایین‌تر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز کاهش یافت. بر اساس نتایج حاصل از اثر متقابل پرایمینگ و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (شکل ۱)پیش‌تیمار بذرهای رازیانه توسط متیل جاسمونات با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شوری شدید (غلظت ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر) شد. در سایر تیمارها میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کم‌تر از تیمار فوق بود.

بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد، آماده‌سازی بذرهای رازیانه با محلول‌های متیل جاسمونات، بر صفات جوانه‌زنی تأثیرگذار است. ترکیب متیل جاسمونات سبب افزایش درصد جوانه‌زنی شد. هیدروپرایمینگ بذرها نسبت به ترکیبات متیل جاسمونات جوانه‌زنی کم‌تری داشت. آماده-سازی بذرها با متیل جاسمونات تولید پلی آمین آزاد را در بافت‌های گیاهی تحریک می‌کند، بنابراین متیل جاسمونات و پلی آمین به‌صورت سینترژیسم عمل می کنند و آماده‌سازی بذر با متیل جاسمونات درصد و سرعت

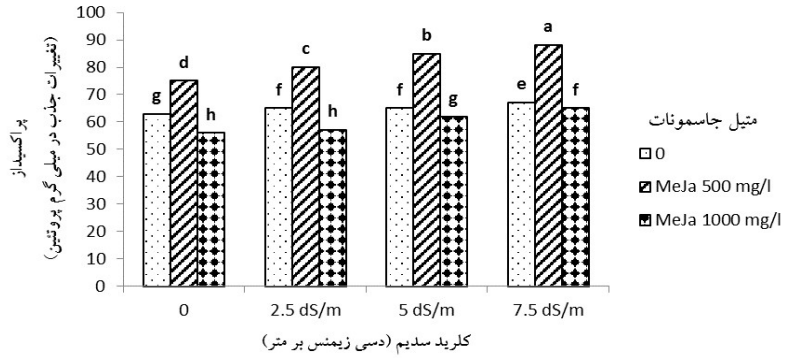
جدول ۵-اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و کلرید سدیم بر میزان آنزیم پراکسیدازگیاهچه رازیانه

Table 5. The effect of different concentrations of methyl jasmonate and NaCl on the fennel seedling peroxidase enzyme

کلرید سدیم sodium chloride / متیل جاسمونات methyleJasmonate	0	2.5 dS/m	5 dS/m	7.5 dS/m	میانگین Mean
آب مقطر Distilled water	63.0 g	65.0 f	65.0 f	67.0 e	65.00 B
متیل جاسمونات ۵۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 500 mg/l	75.0 d	80.0 c	85.0 b	88.0 a	82.00 A
متیل جاسمونات ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر MeJa 1000 mg/l	56.0 h	57.0 h	62.0 g	65.0 f	60.00 C
میانگین Mean	64.00 D	67.33 C	70.66 B	73.33 A	

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هر ستون و ردیف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Average with the same letters in each column and row are not significantly different from each other.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و NaCl بر میزان آنزیم پراکسیداز گیاه‌چه رازیانه

Figure 1. Effect of different concentrations of methyl jasmonate and NaCl on fennel seedling peroxidase enzyme

جوانه‌زنی و ظهور گیاه‌چه را افزایش می‌دهد. همچنین غلظت‌های مختلف کلرید سدیم باعث شد درصد جوانه‌زنی در رازیانه کاهش یابد و کاهش غلظت در غلظت‌های ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم بیش‌تر بود. کاهش جوانه‌زنی در اثر اعمال تنش در دیگر گیاهان نیز گزارش شده است (Patade *et al.,* 2011). با افزایش شوری و منفی‌شدن پتانسیل آب توسط نمک، جذب آب برای جنین سخت‌تر می‌شود و در نتیجه افزایش شوری افت جوانه‌زنی و بنیه بذر را در پی دارد. محققین مختلف دریافتند که طویل‌شدن محور جنینی شدیداً به‌واسطه سطوح بالای کلرید سدیم موجود در محلول آبیاری بازداشته می‌شود (Poljakoff-Mayber, *et al.,* 1994). آزمایش رجبی و پوستینی (Rajabi and Postini, 2005) نشان داد که سطح شوری صفر و ۳ دسی‌زیمنس بر متر از نظر درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری داشته و این تنش سبب ایجاد سمیت یونی و در نتیجه کاهش جوانه‌زنی شد. از طرف دیگر کلرید سدیم به‌دلیل اثر بازدارندگی در جذب آب به‌وسیله بذر، پتانسیل اسمزی را افزایش می‌دهد. پیش‌تیمار بذر با محلول اسموتیک حاوی کلرید سدیم و کلرید کلسیم باعث افزایش و تجمع قندها و اسید آمینه پرولین (تنظیم‌کننده اسمزی) در بذر و اندام‌های گیاه شده که این موضوع سبب می‌شود تا سدیم کم‌تر و پتاسیم و کلسیم بیش‌تری در بذر و ریشه‌ها انباشته شود. برخی مطالعات نشان می‌دهد که تعادل نسبت سدیم به کلسیم در بذرهای پرایم‌شده تحت سطوح شوری یکسان به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و مقاومت در برابر تنش شوری در بذرهای پرایم‌شده از طریق افزایش تجمع کلسیم و پتاسیم با تنظیم اسمزی به‌واسطه تجمع محلول‌های آلی حاصل می‌شود (Tabatabaee, 2013).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد، آماده‌سازی بذرهای رازیانه با محلول‌های متیل جاسمونات، بر سرعت جوانه‌زنی تأثیرگذار است. همچنین هیدروپرایمینگ بذرها هم نسبت به ترکیبات متیل جاسمونات سرعت جوانه‌زنی کم‌تری داشت. یکی از دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی مانند متیل جاسمونات بر جوانه‌زنی بذر رازیانه احتمالاً مربوط به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد مانند آبسیزیک اسید می‌باشد. این محرک‌های شیمیایی می‌توانند سبب شکستن خواب فیزیولوژیک بذر این گونه‌ها شوند. این رویدادها به‌طور همزمان رخ داده و جوانه‌زنی در بذرها نتیجه توازن بین هورمون‌ها می‌باشد (Tipirdamaz and Gomurgen, 2000). در این آزمایش، افزایش غلظت کلرید سدیم باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرهای رازیانه شد. علت کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی با افزایش شوری را می‌توان به‌حضور بیش از حد کاتیون‌ها و آنیون‌ها نسبت داد که علاوه بر ایجاد مسمومیت، با توجه به قابل انحلال‌بودن آن‌ها در آب، پتانسیل آب را نیز کاهش می‌دهند، به‌طوری‌که علی رغم وجود آب در محیط به‌علت این که ظرفیت واکنش آن‌ها در اشغال یون‌های موجود قرار می‌گیرد، گیاه قادر به جذب آب نبوده و با نوعی کمبود آب مواجه می‌شود (Singh *et al.,* 2003). نتایج این آزمایش نشان داد، پرایم کردن بذرهای رازیانه توسط غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات باعث افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش شوری شدید (۷/۵ دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم) شد. با توجه به نقش احتمالی پرولین در تنظیم

اسمزی، به نظر می‌رسد پرایم با متیل جاسمونات تا حدودی باعث مقاومت گیاه‌چه در برابر تنش شده باشد. تجمع پرولین با افزایش شوری و افزایش فشار اسمزی درون سلولی، خود یکی از سازوکارهای مقاومت به شوری می‌باشد. چون در گیاهان، در واکنش به نمک و تنش خشکی، پرولین تجمع می‌یابد، احتمالاً ساخت پرولین در گیاه باید در نتیجه واکنش غیر اختصاصی به پتانسیل آب کم باشد. گزارش شده در شرایط تنش شوری پرولین نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه دارا می‌باشد(Miri, 2009). پرولین احتمالاً درسلول‌های تحت تنش، نقش آنتی اکسیدانی دارد و با تجمع در سیتوپلاسم سلول‌ها از طریق کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی تجمع نمک در واکوئل را تنظیم می‌کند(Akhkha *et al.*, 2011).

در این بررسی بذرهای رازیانه که توسط غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر متیل جاسمونات پرایم شده بودند، بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را در شرایط تنش شوری شدید (۷/۵ دسی زیمنس بر متر) دارا بودند. پرایمینگ بذرها توسط تنظیم‌کننده‌های رشد به‌طور مستقیم و غیر مستقیم آنزیم‌های آنتی اکسیدانت را فعال می‌کند. این تنظیم کننده‌ها می‌تواند به‌عنوان یک سوبسترای دهنده الکترون برای کاتالاز و پراکسیداز عمل نماید. شوری موجب افزایش میزان ترکیبات سمی تولیدشده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست، تخریب مولکول‌های کلروفیل و غشای کلروپلاست به وسیله پراکسید هیدروژن می‌شود که در نهایت منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به سلول و چربی غشاء می‌شود. مقدار آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به‌عنوان یک راه کار دفاعی در گیاه افزایش می‌یابد. این آنزیم‌ها سبب می‌شوند مولکول‌ها به آب و اکسیژن تبدیل شود (Asada, 1999). این نتایج با یافته‌های دولت آبادیان و همکاران (DolatAbadian, 2008) در کلزا مطابقت دارد. آنان اعلام کردند که شوری موجب افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز شده و محلول‌پاشی با جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد از افزایش فعالیت این آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که کلرید سدیم باعث محدودیت در جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه می‌شود. تنش از طریق افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی و کاهش سرعت جوانه‌زنی به کاهش درصد جوانه‌زنی می‌انجامد. گیاه برای مقابله با این تغییرات میزان فعالیت آنتی اکسیدانت‌ها مانند پراکسیداز و اسید آمینه پرولین را افزایش می‌دهد. یکی از اثرات متیل جازمونات شاید تنظیم اسمزی باشد و به‌علت سازگاربودن توانست در تنش‌های ملایم تنش کلرید سدیم را در هنگام جوانه‌زنی کاهش دهد و اثرات دیگر متیل جازمونات، کاهش تنش اکسیداتیو می‌باشد که از اثرات ثانویه تنش کلرید سدیم هست.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین آزمایشگاه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Akhkha, A., Boutra, T. and Alhejely, A. 2011. The rates of photosynthesis, chlorophyll content, dark respiration, proline and abscicic acid (ABA) in wheat (*Triticum durum*) under water deficit conditions. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 13: 215- 221. **(Journal)**

Ansari, O., Choghazardi, H.R., Sharif Zadeh, F. and Nazarli, H. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secalemontanum*) as affected by drought stress. Cercetări Agronomiceîn Moldova, 2(150): 43-48. (In Persian)**(Journal)**

Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen's and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Biology, 50: 601-639. **(Journal)**

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in Agronomy, 88: 223–271. **(Journal)**

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

Burnett, S., Thomas, P. and Van Iersel, M. 2005. Postgermination drenches with PEG-8000. reduce

growth of salvia and marigolds. Horticultural Science, 40**:** 675-679. **(Journal)**

Darzi, M.T. and Haj Sayed Hadi, M.R. 2002. Agronomic and ecological issues in chamomile and fennel. Olive Magazine, 152: 43-49. (In Persian)**(Journal)**

Dolatabadian, A., Modares sanavi, M.A. and Etemadi, F. 2008. Effects of salicylic acid pretreatment on wheat seed germination (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. Iranian Journal of Biology, 21(4): 692-702. (In Persian)**(Journal)**

El-Keblawy, A. and Al-Rawai, A. 2005. Effects of salinity, temperature and light on germination of invasive *Prosopisjuliflora*. Journal of Arid Environments, 61: 555-565. **(Journal)**

Fallahi, J., Ebadi, M.T. and Ghorbani, R. 2009. The effects of salinity and drought stresses on germination and seedling growth of clary. Environmental Stresses in Agricultural Sciences, 1(1), 57-67. (In Persian)**(Journal)**

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by excess Boron in Tabacco cell. Soil Science and Plant Nutrition, 48(3): 357-364. **(Journal)**

Hayouni, E.A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouix, M., Leveau, J., Mohammed, H. and Hamdi, M. 2008. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology, 125: 242–251. **(Journal)**

Kaur, S., Gupta, K.A. and Kaur, N. 1998. Gibberellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chickpea. Plant Growth Regulation, 25: 29-33. **(Journal)**

Miri, H.R. 2009. Plant stress physiology. Kermanshah Branch, Islamic Azad University Press. 472p. (In Persian)**(Book)**

Mohammadi, H. 2013. The Role of priming on seed reserve utilization and germination of barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds under drought stress. International Journal of Agronomy and Plant Production, 4(10): 2543-2547. **(Journal)**

Patade, V.Y., Maya, K. and Zakwan, A. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Journal of Seed Science, 4(3): 125 -136. **(Journal)**

Poljakoff-Maybo, A., Somers, G.F., Werker, E. and Galagher, M. 1994. Seeds of *Kosteletzkya virginica* (Malvaceae): Their structure, germination and salt tolerance. American Journal of Botany, 81: 54- 59. **(Journal)**

Radosevich, S., Holt, J. and Ghersa, C. 1997. Weed Ecology Implications for Management. New York: Wiley. **(Book)**

Rajabi, R. and Postini, K. 2005. Effect of NaCl on thirty cultivars of bread wheat seed germination. Agricultural Science, 27: 1. 29-45. (In Persian)**(Journal)**

Salimi, F. and Shekari, F. 2012. The effect of methyl jasmonate and salinity on some morphological characteristics and flower yield of German chamomile (*Matricaria chamomilia* L.). Plant Biology, 4(11): 27-38. (In Persian)**(Journal)**

Shariatmadary, M.H., Golbashy, M., ShoaHosiny, M., JamalyRafsanjan, M. and Zamni-Than, R.K. 2009. Study the effect level different of salt stress (NaCl) on germination and growth of Fleawort. The Conference of Water, Soil, Plant and Agriculture, Dezful, Iran. (In Persian)**(Conference)**

Sheykhbaglou, R., Rahimzadeh, S., Ansari, O. and Sedghi, M. 2014. The effect of salicylic acid and gibberellin on seed reserve utilization, germination and enzyme activity of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) seeds under drought stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 10(1): 5-13. **(Journal)**

Singh, B. and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulations, 39: 137- 141. **(Journal)**

Tabatabaee, S.A. 2013. Effects of maize seed treatments on germination indices and trends of drug storage in saline conditions. Science and Technology Seed, 3(4): 44-51. **(Journal)**

Tipirdamaz, R. and Gomurgen, N. 2000. The effects of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) Salisb. Seeds. Turkish Journal of Botany, 24: 143-145. **(Journal)**

Wang, L.J. and Li, S.H. 2006. Thermo tolerance and related antioxidant enzyme activities induced by heat accumulation and salicylic acid in grape (*Vitis vinifera* L.) leaves. Plant Growth Regulations, 48: 137-144. **(Journal)**

Effect of methyl jasmonate on Germination index, proline and peroxidaze enzyme activity at fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) under NaCl stress

Reza Zeinali[1], Farshad Sadeghi[2], Marziyeh Dehghan[3]

Received: September 1, 2016 Accepted: December 11, 2016

Abstract

This study was carried out fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) under NaCl stress, seed germination with Methyl jasmonate priming. a factorial experiment at CRD design with three replications in 2014-2015 at the Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Shiraz. the factor A:includes Methyl jasmonate(MeJa) at three levels (0, 500 and 1000 mg/l) and factor (B): sodium chloride(NaCl) at 4 levels (0, 2.5, 5 and 7.5 dS/m). The characteristics such as Rate and percentage of germination, proline content and peroxidase. The results indicated that concentration of 1000 mg/l of MeJa led to increased germination under Control (100 %). Priming of Fennel seeds at 500 and 1000 mg/l of MeJa increase the germination rate were in Control. 1000 mg/l of MeJa led to the largest concentration of proline content in moderate NaCl stress conditions (5 dS/m) and severe (7.5 dS/m) is observed. Based on the results obtained from the interaction between priming and different concentrations of NaCl was found that priming of fennel seeds by 500 mg/l of MeJa increase peroxidase activity at 7.5 dS/m of NaCl. Finally, the results showed that Priming of fennel seeds by MeJa improve seed index, proline and peroxidaze enzyme activity at NaCl stress.

Key words: Fennel; Germination index; NaCl; Peroxidase; Proline

How to cite this article

Zeinali, R., Sadeghi, F. and Dehghan, M. 2019. Effect of methyl jasmonate on germination index, proline and peroxidaze enzyme activity at fennel (Fo*eniculum vulgare* Mill) under NaCl stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(3): 359-368. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2019.3818

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. MSc student, Department of Horticultural Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2 .Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

3. Expert, Agricultural Organization of Fars Province, Shiraz, Iran

*Corresponding author: minamirast@gmail.com