



علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم / شماره اول / ۱۳۹۹ (۹۱ - ۷۹)

DOI: 10.22124/jms.2020.4342

تأثیر اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی، بنیه بذر و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم آرماویرسکی تحت تنش خشکی

احمد افکاری*

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۲۹

چکیده

از آنجایی که تولید گیاهان روغنی می‌تواند تحت تأثیر عوامل محیطی مانند محدودیت آب قرار گیرد، لذا تیمار با اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد، قادر است مقاومت به خشکی را در گیاهان افزایش دهد. در این راستا، به‌منظور بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و جوانه‌زنی بذر گیاه آفتابگردان در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کلبهر در سال زراعی ۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در چهار سطح (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) و سطوح مختلف تنش خشکی ایجادشده با پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در پنج سطح با پتانسیل‌های صفر (آب مقطر)، ۵-، ۱۰-، ۱۵- و ۲۰- مگاپاسکال) بودند. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. برهمکنش تنش و اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، بنیه بذر، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش خشکی درصد و سرعت جوانه‌زنی کاهش و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت افزایش یافت. در پژوهش انجام‌شده کاربرد پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های مالون دی‌آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و مؤلفه‌های جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد گردید. نتایج کلی این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌ویژه در غلظت ۱ میلی‌مولار با کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذر آفتابگردان شد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آفتابگردان، اسید سالیسیلیک، بیومارکر، جوانه‌زنی، خشکی

مقدمه

آفتابگردان یکی از مهم‌ترین محصولات روغنی در جهان می‌باشد و به‌عنوان یکی از گیاهان روغنی نقش قابل توجهی در تأمین روغن مورد نیاز کشور دارد. از سوی دیگر دستیابی به عملکردهای بالای محصولات در گرو فراهم‌نمودن نیازهای گیاه زراعی و ایجاد شرایطی مناسب برای گیاه در استفاده از نهاده‌ها می‌باشد (Nematollahi et al., 2012). جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه در بذر آفتابگردان به‌دلیل وجود پوسته بذر که باعث جذب آب می‌گردد، طولانی‌مدت می‌باشد. به‌عبارتی پوسته بذر با جلوگیری از جذب آب یا کندکردن انتقال رطوبت به جنین و آندوسپرم باعث طولانی‌ترشدن روند جوانه‌زنی در بذر می‌گردد (Kaya et al., 2006). در بین تنش‌های محیطی، تنش خشکی از تنش‌های بسیار مهم در کاهش رشد و تولید محصولات زراعی می‌باشد (Atak et al., 2006). گیاهان ممکن است در طی چرخه زندگی، به کرات در معرض تنش کمبود آب قرار گیرند که این شرایط می‌تواند در مناطقی غیر مناطق خشک و نیمه خشک نیز دیده شود (Pakmehr et al., 2014). اولین اثر تنش بر گیاهان، عدم یکنواختی جوانه‌زنی و استقرار ضعیف گیاهچه می‌باشد به‌نحوی که منجر به کاهش تراکم نهایی گیاهی در واحد سطح و در نتیجه عملکرد محصول می‌گردد (Younesi and Moradi, 2015). پیش‌تیمار بذر از استراتژی‌های پیش از کشت بذر است که نمو گیاهچه را از طریق تغییر دادن فعالیت‌های متابولیک پیش از ظهور ریشه چه و به‌طور کلی افزایش میزان جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Seiadat et al., 2012). حیدری (Heidari, 2013) با بررسی اثر آبیاری با آب آلوده به مواد شوینده را بر جوانه‌زنی و رشد گیاه آفتابگردان بررسی نموده و نتیجه گرفتند مواد شوینده در غلظت‌های بالا (۲ و ۲۰ گرم بر لیتر) موجب کاهش جوانه‌زنی بذر، تحمل بذر، ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، زیست توده ساقه در آفتابگردان می‌شوند. نرین و اشرف (Noreen and Ashraf, 2008) با بررسی اثرات سوء تنش شوری بر روی آفتابگردان با اضافه‌کردن اسید سالیسیلیک بر رشد و فتوسنتز نتیجه گرفت که تنش شوری باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، وزن تر و خشک ساقه آفتابگردان می‌شود. با این

حال ساقه تازه و وزن خشک با توجه به اضافه‌کردن اسید سالیسیلیک هم در شرایط استرس هم در شرایط عدم استرس بسیار افزایش یافت. معماریان و همکاران (Memarian et al., 2018) گزارش کردند که بذرهای گیاه آفتابگردان قادرند در محیطی با غلظت ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین جوانه بزنند، اما به‌دلیل تغییر پتانسیل اسمزی محلول آبی اطراف بذر، خاصیت آبگریزی و غیرقطبی نفتالین، میزان دسترسی به آب بذرهای کاهش می‌یابد و جوانه‌زنی با سرعت کم‌تری نسبت به شاهد اتفاق می‌افتد. یاری و همکاران (Yari et al., 2014) گزارش نمودند بذرهای آفتابگردان که در دمای ۲۰ درجه سلسیوس انبار شده بودند دارای شاخص طولی بنیه بذر بیشتر و از درصد جوانه‌زنی بالاتری برخوردار بودند. سلطانی و همکاران (Soltani et al., 2006) تأثیر پرایمینگ بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه پنبه در شرایط تنش خشکی بررسی کردند و نتیجه به‌دست‌آمده بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی و افزایش مقاومت پنبه تحت تأثیر پرایمینگ را تأیید می‌کند. پرایمینگ بذر روشی است که با جوانه‌زنی سریع، همزمان و یکنواخت بذر موجب بهبود استقرار گیاهچه در مزرعه می‌شود و هیدروپرایمینگ، هیدروترموپرایمینگ، اسموپرایمینگ، بیوپرایمینگ و انواعی دیگر را شامل می‌شود (Seyed Sharfi and Khavazi, 2012). جوانه‌زنی به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به‌ویژه دما و رطوبت خاک قرار می‌گیرد. مطالعات مختلف نشان داده است که شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تأثیر تنش‌های مختلف غیر زنده کاهش می‌یابد (Tabatabai, 2012). تنش خشکی ۶- بار به‌طور معنی‌داری جوانه‌زنی بذر نخود فرنگی را کاهش می‌دهد (Gamze et al., 2005). گیاهان به‌منظور حفاظت در برابر انواع فعال اکسیژن (ROS)، به دفاع آنتی‌اکسیدانت مانند ترکیبات آنتی‌اکسیدان سوبراکسید دیسموتاز و کاتالاز مجهز هستند (Agarwal et al., 2005). در گیاهان فعالیت آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT) پراکسیداز (POD)، سوبراکسید دیسموتاز (SOD) موجب خنثی‌سازی فعالیت فعال اکسیژن (ROS) تولیدشده در سلول‌ها می‌گردد و تولید فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی موجب تحریک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان اشاره‌شده می‌شود (Afkari, 2017).

از خاک خارج شده و زودتر استقرار یافته‌اند (El Naim *et al.*, 2012). کیارستمی و همکاران (Kiarostemi *et al.*, 2014) گزارش نمودند که تیمار با اسید سالیسیلیک به-خصوص با غلظت ۰/۵ میکرومولار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در رقم حساس Y3000 گیاه کلزا افزایش داد. اسید سالیسیلیک با اثر روی متابولیت‌هایی مانند اسید آسکوربیک، گلوکاتینون و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز آثار سمی ناشی از تنش را کاهش می‌دهد (Maasoumi *et al.*, 2016). در تحقیقی دیگر در گیاه سیر (*Allium sativum* L.) مشخص شد که تحت تنش خشکی غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک سبب بهبود رشد و افزایش عملکرد سیر گردید (Bideshki and Pakmehr *et al.*, 2010). گزارش نمودند پرایمینگ با اسید سالیسیلیک، از طریق افزایش سرعت، یکنواختی سبز کردن، شاخص سبز و درصد سبز کردن موجب افزایش کارایی بذرهای تیمار شده گردید. گیاهان گندم تیمار شده با اسید سالیسیلیک محتوای رطوبتی، وزن خشک، فعالیت کربوکسیلازی رایبوسکویی، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کلروفیل کل بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده تحت شرایط کمبود آب نشان دادند (Singh and Usha, 2003).

بنابراین، این پژوهش با هدف مطالعه اثر اسید سالیسیلیک در افزایش تحمل گیاه، بر شاخص‌های بیوشیمیایی و جوانه‌زنی آفتابگردان از طریق تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی تحت شرایط تنش خشکی به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و جوانه‌زنی بذر گیاه آفتابگردان در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کلیر در سال زراعی ۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در چهار سطح (صفر، ۰/۵، ۱ و

سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتینون پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کلیدی در مبارزه علیه بنیان‌های آزاد اکسیژن به‌شمار می‌روند (Naderi Zarnaghi *et al.*, 2014). بایلی و همکاران (Bailly *et al.*, 1996) نیز دریافتند که کاهش قابلیت حیات در بذرهای آفتابگردان همراه با کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بوده و آن ناشی از این است که فرسوده شدن بذرها، باعث برانگیختن پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیدی از قبیل پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌گردد. در آزمایشی که بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محصول تخریبی مالون دی‌آلدهید روی سورگوم در شرایط تنش خشکی انجام گردید، سطوح آنزیم‌ها و مالون دی‌آلدهید در شرایط تنش نسبت به شرایط آبیاری نرمال افزایش نشان داد. یکی از راهکارهای عملی برای مقابله با اثرات تنش استفاده از برخی از ترکیبات از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد است. این ترکیبات با تعدیل اثرات تنش به بهبود رشد و تولید گیاهان زراعی کمک می‌کنند و این اثر را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش اکسیژن واکنشگر فعال اعمال می‌کنند (Kiarostemi *et al.*, 2014). اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی و شبه هورمونی است و نقش آن به‌عنوان یک مولکول علامتی، در پاسخ گیاهان به عوامل محیطی نشان داده شده است. این ترکیب باعث افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو و اثر بر تنفس و تمامیت غشاها می‌شود (Rajeshwari and Bhuvaneshwari, 2017). اسید سالیسیلیک می‌تواند به سرعت از نقطه اولیه استعمال به بافت‌های مختلف گیاه منتقل شود. علاوه بر آن اسید سالیسیلیک یک هورمون تنظیم‌کننده درونی است که نقش آن در سازوکارهای دفاعی بر علیه تنش‌های زیستی و غیر زیستی به‌خوبی شناخته شده است (Mahdavian, 2017). اسید سالیسیلیک در جوانه‌زنی، نفوذپذیری غشاء، تنفس میتوکندری، بسته شدن روزه‌ها، انتقال مواد، فتوسنتز، سرعت رشد و جذب یون‌ها تأثیرگذار است (Shinwari *et al.*, 2015). بذرهای پرایم‌شده سورگوم با اسید سالیسیلیک سرعت جوانه‌زنی بیش‌تری نسبت به شاهد داشتند و جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمار شده نسبت به بذرهای شاهد زودتر آغاز شده در نتیجه این بذرها سریع‌تر

در این رابطه GP درصد جوانه‌زنی و Ni تعداد بذور جوانه‌زده در روز نام و S تعداد کل بذور کشت‌شده می‌باشد.

$$GR = \Sigma Ni/Ti \quad (\text{رابطه ۲})$$

در این رابطه GR سرعت جوانه‌زنی (بر حسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز) و Ni تعداد بذور جوانه‌زده در روز نام و Ti تعداد روز تا شمارش نام می‌باشد.

شاخص طولی بنیه بذر (SV) نیز از حاصل ضرب مجموع طول ریشه‌چه (RL) و ساقه‌چه (PL) در درصد جوانه‌زنی (GP) به دست آمد:

$$SV = (PL + RL) \times GP \quad (\text{رابطه ۳})$$

جهت تعیین میزان سوپراکسید دیسموتاز، سه عدد برگ کاملاً جوان و سالم از پتری‌ها برداشت شد، برگ‌ها داخل نایلون اتیکت‌گذاری شده قرار گرفت و در یخ‌دانی که کف آن از یخ پوشیده بود قرار داده شد. سپس توسط روش (Holy, 1972) میزان تغییرات این آنزیم تعیین شد. ابتدا محلول بافر تریس (حاوی فسفات دی‌سدیک، ۷/۲ pH) به همراه ۱/۳ میلی‌مول EDTA و ۱ درصد میلی‌مول کربنات منوسدیک تهیه شد و سپس از اپی‌نفرین میلی‌مول به‌عنوان سوبسترا استفاده شد، تغییرات جذب نوری حاصله از اکسیداسیون اپی‌نفرین، به‌عنوان فعالیت آنزیمی ارزیابی گردید و از آنزیم استاندارد و خالص جهت استاندارد نمودن نتایج استفاده شد که واحد آن قادر به اکسیداسیون ۰/۵ میلی‌مول اپی‌نفرین در یک دقیقه باشد. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به روش اسپکتوفتومتری با روش (Aebi, 1984). اندازه‌گیری شدند. در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات اکسیدشده به ازای گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز برگ‌های منتقل‌شده به آزمایشگاه را با آب مقطر شستشو داده و بلافاصله در بافر تریس ۱/۶، مولار با pH= ۵/۷ وارد کرده و سپس خرد و یکنواخت شدند. آنگاه اجازه داده شد در حضور حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتونین (آنزیم هضم‌کننده دیواره) فرایند هضم غشاء و دیواره سلول انجام شود. در پایان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموزن برای سنجش پروتئین برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب

۱/۵ میلی‌مولار) و سطوح مختلف تنش خشکی در پنج سطح با پتانسیل‌های صفر (آب مقطر)، -۵، -۱۰، -۱۵ و -۲۰ (مگاپاسکال) بودند. برای ایجاد تنش خشکی از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده شد (Michel and Kaufman, 1973). غلظت پلی‌اتیلن گلیکول برای انجام

این آزمایش از رابطه زیر به دست آمد:

$$S = -(1/18 \times 10^{-2}) C - (1/18 \times 10^{-4}) C^2 + (2/67 \times 10^{-4}) CT + (8/39 \times 10^{-7}) C^2$$

در این معادله C، غلظت پلی‌اتیلن گلیکول (گرم بر لیتر)، T، درجه حرارت (سلسیوس) و S، پتانسیل آب (بار)

بذرهای به دست آمده از پیش تیمار اسید سالیسیلیک برای ارزیابی مؤلفه‌های جوانه‌زنی و تعیین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مورد بررسی قرار گرفت. بذر رقم آرماویرسکی از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی تهیه گردید. نا گفته نماند که بذرهای غیررسمی و توده‌های بذر تولیدشده در محل، توسط کشاورزان آن منطقه مصرف می‌گردد. به‌منظور ضدعفونی، ابتدا بذور به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم غوطه‌ور شدند و سپس چندین مرتبه با آب مقطر شسته شدند. آنگاه بذور به پتری‌های یک‌بار مصرف استریل‌شده‌ای که در کف آن‌ها کاغذ صافی واتمن قرار گرفته بود منتقل گردیدند. در پتری‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر ۷ میلی‌لیتر از محلول تهیه‌شده پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با پتانسیل مربوطه اضافه شد. تعداد ۲۵ عدد بذر ضدعفونی‌شده بر روی کاغذ صافی واتمن داخل پتری‌ها قرار داده شده و به ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و با دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند (Davazdah-Emami, 2002). تست جوانه‌زنی استاندارد با ۳ تکرار به مدت ۱۰ روز و به صورت بین کاغذی (دو لایه کاغذ در زیر و یک لایه کاغذ از نوع واتمن بر روی بذرها قرار گرفت) انجام شد (ISTA, 2003). تعداد بذور جوانه‌زده به‌طور روزانه شمارش و سپس در پایان صفات مربوط به جوانه‌زنی شامل: درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی بنیه بذر با استفاده از رابطه‌های (۱)، (۲) و (۳) محاسبه شدند (Ellis et al., 1987, Wakjira and Negash., 2013 و TeKrony and Egli, 1991):

$$GP = (Ni/S) \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون اسید سالیسیلیک بر روی شاخص‌های جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. برهمکنش تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر بنیه بذر، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار، اما روی درصد و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار نبود (جدول ۱).

مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اسید سالیسیلیک نشان داد که بیش‌ترین میزان شاخص بنیه بذر مربوط به تیمار بدون اعمال تنش و اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی‌مولار (۱۰/۲۱) و کم‌ترین میزان شاخص بنیه بذر مربوط به سطح تنش ۲۰- مگاپاسکال و اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار (۴/۰۸) بود. با افزایش تنش به ۲۰- مگاپاسکال، تنها غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک توانستند این شاخص را به- ترتیب حدود ۳۰/۴ درصد و ۵۱/۴۷ درصد نسبت به بذرهای بدون پیش‌تیمار افزایش دهند (جدول ۲). این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات (Mostafavi and Heydari, 2012) مطابقت دارد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در تیمارهای مختلف خشکی نشان داد که با افزایش تنش خشکی درصد و سرعت جوانه‌زنی کاهش یافته به طوری که سرعت جوانه‌زنی حساس‌تر از درصد جوانه‌زنی بود. با توجه به جدول ۳ مشاهده گردید که بیش‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب (۹۴/۸۲ درصد) و (۱۰/۵۹ درصد) مربوط به پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار و کم‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب (۸۱/۰۹ درصد) و (۷/۱۳ درصد) مربوط به پیش- تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بود (جدول ۳).

میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. سپس در باقی‌مانده محلول استخراجی مقدار آنزیم گلوکاتینون با روش (Holy, 1972) اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری فعالیت مالون دی‌آلدئید در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به- روش اسپکتوفتومتری با روش (Aebi, 1984) اندازه‌گیری شدند. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (Chandlee and Scandalios, 1984) انجام شد. نمونه برگ‌ها پس از شستشو با آب مقطر بلافاصله در محلول بافر فسفات- تریس ۱۶/۱ مولار با pH= ۵/۷ وارد و خرد و هموژن شدند. سپس حجم مشابه بافر حاوی دیجیتونین آنزیم هضم- کننده دیواره اضافه نموده تا فرآیند هضم غشاء و دیواره‌های سلولی صورت گیرد. در پایان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین برداشت شد و مقدار پروتئین آن برحسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. در باقی‌مانده محلول استخراجی فوق مقدار هر یک از آنزیم‌ها به روش خاصی تعیین گردید. در این روش شدت حذف آب اکسیژنه به عنوان سوبسترا ارزیابی شد. بافر زمینه برای انجام کار حاوی ۰/۱۷ میلی‌مول فسفات دی‌سدیک (pH= ۷/۲) به همراه ۰/۱۵ میلی‌مول EDTA و ۰/۱۱ میلی‌مول کلرید منیزیم در نظر گرفته شد. واحد فعالیت آنزیم کاتالاز معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت ۱ دقیقه به هنگام پیشرفت واکنش درجه اول در نظر گرفته شد. تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

الف. مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده

Table 1. Analysis of variance (Mean square) of measured traits

منابع تغییرات S. O. V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه‌چه Length of radicle	طول ساقه‌چه Length of plumule	بنیه بذر Seed vigor
اسید سالیسیلیک (A) Acid salicylic (A)	3	5092.46**	11352.28**	21.72**	17.94**	138.42**
تنش خشکی (D) Drought stress (D)	4	957.84**	623.17**	39.69**	16.43**	81.05**
A×D	12	79.41 ^{ns}	56.83 ^{ns}	13.54**	2.87**	11.04**
خطای آزمایش Error	60	69.73	44.68	2.72	1.03	2.41
ضریب تغییرات (%) CV	-	6.17	7.06	3.92	4.07	6.28

ns, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: not-significant and significant at 5 and 1 percent level of probability, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر صفات اندازه‌گیری شده در آفتابگردان

Table 2. Mean comparisons of interaction acid salicylic and drought stress on some measured traits in sunflower

تنش خشکی (مگا پاسکال) Drought stress (MP)	اسید سالیسیلیک (میلی مولار) Acid salicylic (mmol)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (u/mg.protein)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (u/mg.protein)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Length of radicle (cm)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Length of plumule (cm)	بنیه بذر Seed vigor
شاهد Control	شاهد Control	596.61h	3.68ei	6.92b	473b	7.75bc
	0.5	993.28e	7.29de	7.21b	5.34a	9.24ab
	1	1166.17de	9.33d	8.33a	5.78a	10.21a
	1.5	298.12i	1.79i	5.91c	4.01c	6.67d
-5	شاهد Control	498.51h	4.32e	6.48bc	4.51b	7.21c
	0.5	1349.48d	9.21d	6.76b	5.11ab	8.76b
	1	1457.62d	11.79c	7.82a	5.29a	9.72a
	1.5	492.37h	2.04i	5.42cd	3.82c	6.09cd
-10	شاهد Control	1208.09de	5.41e	5.89c	4.2b	6.63d
	0.5	1588.62c	11.67c	6.21bc	4.63b	8.19b
	1	1648.23c	15.21b	7.28ab	5.01ab	9.14ab
	1.5	924.52e	2.83i	4.91d	3.32d	5.71d
-15	شاهد Control	1371.43d	6.08e	5.19d	3.78c	5.92d
	0.5	1652.28c	13.92bc	5.72c	4.15bc	7.59bc
	1	1793.08b	18.42a	6.81b	4.38b	8.65b
	1.5	1182.92de	3.52b	4.47de	3.47cd	5.09de
-20	شاهد Control	1504.87cd	7.92de	4.52de	3.11d	5.21d
	0.5	1822.49ab	16.24ab	5.01d	3.59c	6.78c
	1	1938.52a	21.08a	6.11c	3.87c	7.83bc
	1.5	1340.35d	4.09e	3.72e	2.35e	4.08e

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد

The same letters in each column represents no significant difference in the level of 5%

اسید سالیسیلیک و کم‌ترین طول ریشه‌چه (۵/۹۱) سانتی‌متر) و طول ساقه‌چه (۴/۰۱ سانتی‌متر) و شاخص بنیه بذر (۶/۶۷) مربوط به سطح تنش ۲۰- مگا پاسکال و اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار (۱۰/۷۴) سانتی‌متر) بود (جدول ۲). نتایج حاصل از تیمار توأم اسید سالیسیلیک و تنش خشکی نشان می‌دهد که افزودن اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به گیاهان تحت تیمار تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در مقایسه با گیاه در شرایط تنش خشکی گردید. درحالی‌که اضافه کردن اسید سالیسیلیک به گیاهان تحت تیمار تنش با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری ایجاد نکرد. چجنوسکی و کام (Chojnowski and Come, 1997) گزارش کردند که پرایمینگ بذور آفتابگردان به مدت ۳ الی ۵ روز باعث بهبود رشد گیاهچه می‌شود. آن‌ها هم‌چنین علت این واکنش را افزایش در فعالیت‌های تنفسی، تولید ATP، تحریک فعالیت RNA و پروتئین‌سازی در بذور پرایم‌شده بیان نمودند.

بیش‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب (۹۸/۷۱) درصد) و (۱۱/۶۴ درصد) مربوط به تیمار بدون اعمال تنش (صفر مگا پاسکال) و کم‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب (۴۳/۷۸ درصد) و (۶/۳۹ درصد) مربوط به مربوط به سطح تنش ۲۰- مگا پاسکال بود (جدول ۴). نتایج حاکی از آن است که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث بهبود درصد جوانه‌زنی به‌ویژه کاربرد غلظت ۱ میلی‌مولار این محلول در شرایط تنش خشکی می‌گردد. حسینی و رضوانی مقدم (Hosseini and Rezvani, 2006) با مطالعه بر روی اسفرزه (*Plantago psyllium*) گزارش کردند که سرعت جوانه‌زنی با افزایش میزان خشکی کاهش یافت و در پتانسیل ۱۲- بار به صفر رسید. با افزایش تنش خشکی طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه کاهش یافت. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک نشان داد که بیش‌ترین طول ریشه‌چه (۸/۳۳ سانتی‌متر) و طول ساقه‌چه (۵/۸۷ سانتی‌متر) مربوط به تیمار بدون اعمال تنش و غلظت ۱ میلی‌مولار

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در آفتابگردان با اسید سالیسیلیک
Table 3. Mean comparisons of germination indices and activity of some antioxidant enzymes in sunflower by salicylic acid

اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار) Acid salicylic (mmol)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر در روز) Germination rate (No. seed/day)	کاتالاز Catalase (u/mg.protein)	گلوکوتایون پراکسیداز Glutathione peroxidase (u/mg.protein)	مالون دی‌آلدئید Malon dialdehyde (u/mg.protein)
0	88.23b	8.27b	106.47a	10.76c	25.37c
0.5	92.17ab	9.52ab	128.14b	19.52b	37.26b
1	94.82a	10.59a	149.73a	29.84a	45.41a
1.5	81.09c	7.13c	86.31d	5.67d	17.34d

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد

The same letters in each column represents no significant difference in the level of 5%

به‌طور کلی کاهش درصد جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های نخود را با افزایش پتانسیل منفی آب بیانگر حساسیت ارقام نخود به تنش خشکی گزارش کرده‌اند (Marchner, 1995). کایا و همکاران (Kaya et al., 2003) گزارش دادند که بهبود جوانه‌زنی در بذور نخود هیدروپرایم‌شده آفتابگردان تحت تنش خشکی نتیجه شد. محققان اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه می‌گردد (Mostafavi and Heydari, 2012).

بررسی‌های محمدی و همکاران (2011) (Mohammedi et al.,) در آفتابگردان نشان داد که درصد جوانه‌زنی با افزایش تنش شوری کاهش یافت. کاهش جوانه‌زنی در اثر تنش خشکی می‌تواند با کاهش جذب آب توسط بذرها مرتبط باشد. اگر جذب آب توسط بذر مختل شود یا جذب آب به‌کندی صورت گیرد فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی به آرامی صورت می‌گیرد، در نتیجه مدت زمانی که ریشه‌چه از بذر خارج می‌شود طولانی‌تر شده و از این رو سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد (Tabatabai, 2012). ارتباط بین جذب آب و درصد جوانه‌زنی را در نخود گزارش کرده‌اند، آن‌ها

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در آفتابگردان تحت تنش خشکی
Table 4. Mean comparisons of germination indices and activity of some antioxidant enzymes in sunflower under drought stress

تنش خشکی (مگاپاسکال) Drought stress (MP)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	(تعداد سرعت جوانه‌زنی بذر در روز) Germination rate (No. seed/day)	کاتالاز Catalase (u/mg.protein)	گلوکوتایون پراکسیداز Glutathione peroxidase (u/mg.protein)	مالون دی‌آلدئید Malon dialdehyde (u/mg.protein)
0	98.71a	11.64a	108.05e	11.33e	33.61e
-5	91.43b	10.41b	122.28d	19.95d	46.76d
-10	74.37c	9.21c	139.87c	23.74c	55.28c
-15	58.49d	8.14d	149.21b	30.66b	68.42b
-20	43.78e	6.39e	163.59a	34.92a	76.11a

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵ درصد

The same letters in each column represents no significant difference in the level of 5%

تشدید تنش خشکی و مصرف اسید سالیسیلیک مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت افزایش می‌یابد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک نشان داد که بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱۹۳۸/۵۲) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و آسکوربات پراکسیداز (۱۹۳۸/۵۲) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی‌مولار و سطح تنش (۲۰- مگاپاسکال) و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۲۹۸/۱۲) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و

ب. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، هم‌چنین برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. اما برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های گلوکوتایون پراکسیداز، مالون دی‌آلدئید و کاتالاز معنی‌دار نبود (جدول ۵). نشان‌دهنده این است که با افزایش

2002). در نتیجه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز پراکسید هیدروژن تولید می‌شود که باید خیلی سریع از محیط عمل خارج شود. تغییر در فعالیت آنزیم به سطح تنش اعمال شده، گونه گیاهی و نوع آنزیم بستگی دارد. به‌عنوان مثال بررسی تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در هشت رقم کلزا در پاسخ به تنش خشکی نشان داد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در پاسخ به تنش خشکی افزایش و فعالیت کاتالاز کاهش یافت (Abedi and Pakniat, 2010). در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرما فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش و فعالیت کاتالاز کاهش یافت و فعالیت پراکسیداز ابتدا افزایش و بعد کاهش یافت (Liu et al., 2009).

آسکوربات پراکسیداز (۱/۷۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار بدون اعمال تنش (شاهد) و پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بود (جدول ۲). این گونه به‌نظر می‌رسد که افزایش سطح فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تنش آب و تحت تأثیر اسید سالیسیلیک به‌دلیل نقش دفاعی و حفاظتی این آنزیم در برابر اکسیدانت‌های سلولی باشد. به‌علاوه این افزایش سطح فعالیت مانع از پراکسید شدن چربی‌های غشا سلولی تحت شرایط خشکی می‌گردد. القای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به گیاهان توانایی چیره‌شدن به تنش‌های اکسیداتیو را می‌دهد و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به‌طور ثانوی در فرودست این آنزیم فعال می‌شوند (Alscher et al., 2008).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش

Table 5. Analysis of variance (Mean square) of measured traits in experiment

منابع تغییرات S. O. V	درجه آزادی df	گلوتاتیون پراکسیداز Glutathione peroxidase	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbat peroxidase	مالون دی‌آلدئید Malon dialdehyde
اسید سالیسیلیک (A) Acid salicylic (A)	3	88.93**	61.53**	687.14**	298.72**	21.78**
تنش خشکی (D) Drought stress (D)	4	102.47**	318.83**	129.08**	596.28**	142.19**
A×D	12	68.29 ^{ns}	3.41 ^{ns}	83.17*	31.97*	3.92 ^{ns}
خطای آزمایش Error	60	9.28	7.12	11.03	9.37	6.21
ضریب تغییرات (%) CV (%)	-	6.17	5.09	5.46	8.21	9.39

ns, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: not-significant and significant at 5 and 1 percent level of probability, respectively

پروتئین)، مالون‌دی‌آلدئید (۷۶/۱۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کاتالاز (۱۶۳/۵۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) به مربوط به سطح تنش ۲۰- مگاپاسکال و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۱۱/۳۳) واحد بر میلی‌گرم پروتئین)، مالون‌دی‌آلدئید (۳۳/۶۱) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کاتالاز (۱۰۸/۰۵) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار بدون اعمال تنش (صفر مگاپاسکال) بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۲۹/۸۴) واحد بر میلی‌گرم پروتئین)، مالون-دی‌آلدئید (۴۵/۴۱) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کاتالاز (۱۴۹/۷۳) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۵/۶۷) واحد بر میلی‌گرم پروتئین)، مالون‌دی‌آلدئید (۱۷/۳۴) واحد بر

افزایش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در پاسخ به تنش خشکی در آفتابگردان (Gunes et al., 2008) نیز گزارش شده است. در شرایط تنش خشکی، گیاه برای کاهش اثرات تنش اکسیداتیو منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده است. این نشان می‌دهد که گیاه آفتابگردان احتمالاً توانسته است با فعالیت آنزیمی بالای خود کم‌ترین تخریب سلولی را در گیاه موجب شود. با وجود این‌که تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را کاهش داده است. اسید سالیسیلیک این روند را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش در گیاه شد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در تیمارهای مختلف خشکی نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید و کاتالاز افزایش یافته است. به‌طوری‌که بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۳۴/۹۲) واحد بر میلی‌گرم

حسن‌پور درویش (Hassanpour Darvishi, 2015) بر روی ماشک مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در آفتابگردان گردید. بیش‌ترین میزان کاهش در صفات مذکور، در سطح ۲۰- مگاپاسکال بود. در حالی که بر اساس نتایج ذکر شده در این تحقیق، در گیاهان پیش‌تیمار شده با اسید سالیسیلیک این کاهش تعدیل شده است. از طرف دیگر افزایش میزان فعالیت مالون‌دی‌آلدئید و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز نشان‌دهنده نقش اسید سالیسیلیک بر افزایش تحمل این گیاه در برابر تنش خشکی است. چنین به نظر می‌رسد پیش‌تیمار آفتابگردان با اسید سالیسیلیک می‌تواند اثرات سوء ناشی از این تنش را بکاهد. با توجه به نتایج این تحقیق بهترین محلول پرایمینگ برای افزایش تحمل به خشکی و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت آفتابگردان، پیش‌تیمار توسط اسید سالیسیلیک با غلظت یک میلی‌مولار پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد کلبهر تشکر و قدردانی می‌کنند.

میلی‌گرم پروتئین) و کاتالاز (۸۶/۳۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بود (جدول ۳). با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون پراکسیداز در گیاه آفتابگردان مشاهده شد. کیارستمی و همکاران (Kiarostemi *et al.*, 2014) افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را در کلزا گزارش کردند. در تحقیقی که گلشن و همکاران (Golshan *et al.*, 2011) انجام دادند، نتایج مشابهی را مشاهده کردند. با توجه به این‌که آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برای مقابله با اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدی در شرایط تنش در گیاهان تولید می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که گیاه آفتابگردان باعث حذف تعداد زیادی از اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدی شود. آنزیم آنتی‌اکسیدانت کاتالاز آنزیم مهمی است که در شرایط تنش اکسیداتیوی فعال می‌شود و قادر به هضم و حذف H_2O_2 می‌باشد. زیرا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانت‌ها در شرایط تنش موجب کاهش خسارت به گیاه می‌شود (Rahmani Iranshahi *et al.*, 2016). احمدپور و همکاران (Ahmadpour *et al.*, 2016) گزارش نمودند که در تمامی ارقام مورد بررسی عدس، تنش رطوبتی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شرایط بدون تنش شد. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش با نتایج تحقیقات اگاروال و همکاران (Agarwal *et al.*, 2005) بر روی گندم، چن و همکاران (Chen *et al.*, 2000) بر روی ذرت و

منابع

- Abedi, T. and Pakniat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oil seed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46(1): 27-34. (Journal)
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126. (Journal)
- Afkari, A. 2017. Effect of seed priming on germination characteristics and some antioxidant enzymes activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Developmental Biology, 9(3): 33-44. (In Persian)(Journal)
- Agrawal, S., Sairam, P.K., Srivasta, G.C. and Meena, R.C. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat. Biologia Plantarum, 49(4): 541-550. (Journal)
- Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S.R. and Chashiani, S. 2016. Study of root morpho-physiological and biochemical characteristics of lentil in response to moisture stress. Plant Ecophysiology, 11(43): 39-51. (In Persian)(Journal)

- Alscher, R.G., Erturk, N. and Lenwood, S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53(372): 1331-1341. **(Journal)**
- Atak, M., Kaya, M.D., Kaya, G., Cıkılı, Y. and Ciftçi, C.Y. 2006. Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30: 39-47. **(Journal)**
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. and Come, D. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathion reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97(1): 104-110. **(Journal)**
- Bideshki, A. and Arvin, M.J. 2010. Effect of salicylic acid and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. *Plant Ecophysiology*, 2: 73-79. (In Persian)**(Journal)**
- Chandlee, J.M. and Scandalios, J.G. 1984. Analysis of variants affecting the plants. *Plant Nutrition and Soil Science*, 168: 541-549. **(Journal)**
- Chen, W.P., Li, P.H. and Chen, T.H.H. 2000. Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. *Plant Cell Environment*, 23: 609-618. **(Journal)**
- Chojnowski, F.C. and Come, D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. *Seed Science Research*, 7: 323-331. **(Journal)**
- Davazdah-Emami, S. 2002. Effect of salinity and chilling on germination characteristics of medicinal chamomile. *Proceedings of the 7th Iranian Congress in Agronomy and Plant Breeding*, 571pp. (In Persian)**(Congress)**
- Ellis, R.H., Hong, T.D. and Roberts, E.H. 1987. The development of desiccation-tolerance and maximum seed quality during maturation in legumes. *Anatomy Botany*, 59: 23-29. **(Journal)**
- El Naim, A.M., Khawla, E.M., Ibrahim, E.A. and Suleiman, N.N. 2012. Impact of salinity on seed germination and early seedling growth of three sorghum (*Sorghum biolor* L.) cultivars. *Journal of Science and Technology*, 2: 16-20. **(Journal)**
- Gamze, O., Kaya, M.D. and Atak, M. 2005. Effect of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29: 237-242. **(Journal)**
- Golshan, M., Habibi, H., Beladi, S.M. and Maleki, M.J. 2011. Copper and Lead tolerance strategies in mustards egyptian clover (*Trifolium alexandrinum*) and hairy vetch (*Vicia villosa*): Role of some antioxidant enzymes. *American-Eurasian Journal Agricultural and Environment Science*, 11: 122-128. **(Journal)**
- Gunes, A., Pilbeam D., Inal, A. and Coban, S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39: 1885-1903. **(Journal)**
- Hassanpour Darvishi, H. 2015. Effect of lead and zinc and mycorrhiza fungi role on antioxidant enzymes activity and biomarkers of destruction in alfalf, green pea and vetch. *Crop Physiology*, 6(24): 73-88. (In Persian)**(Journal)**
- Heidari, H. 2013. Effect of irrigation with contaminated water by cloth detergent on seed germination traits and early growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Notulae Scientia Biologicae*, 5(1):86-89. **(Journal)**
- Holy, M.C. 1972. Indole acetic acid oxidase: a dual catalytic enzyme. *Plant Physiology*, 50: 15-18. **(Journal)**
- Hosseini, H. and Rezvani Moghaddam, P. 2006. Effect of water and salinity stress on germination of blond psyllium (*Plantago ovata*). *Iranian Journal of Field Crop Research*, 4:15-23. (In Persian)**(Journal)**
- ISTA, 2003. International seed testing association. *ISTA handbook on seedling evaluation*, 3rd edition. **(Handbook)**
- Kaya, M.D., Ipek, A. and Ozturk, A. 2003. Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27: 221-227. **(Journal)**
- Kaya, M.D., Okçu, G., Atak, M., Cıkılı, Y. and Kolsarıcı, O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Eur. J. Agron*, 24: 291-295. **(Journal)**

- Kiarostemi, Kh., Sadri, S.A., Abdolmaleki, N. and Saboura, O. 2014. Influence of of salicylic acid on antioxidant enzyme system in Brassica napus under salt strees. Journal of Applied Biology, 27(2): 85-106. (In Persian)(**Journal**)
- Liu, W., Liang, W.J., Wang, H.T., Liu, S.X. and Zheng, N. 2009. Effects of salicylic acid on the leaf photosynthesis and antioxidant enzyme activities of cucumber seedlings under low temperature and light intensity. The Journal of Aapplied Ecology, 20(2):441-445. (**Journal**)
- Maasoumi, G., Lahouti, M. and Mahmoodzadeh, H. 2016. Effect of combined application of salicylic acid and zinc on germination indices and vegetative growth of mung bean (*Vigna radiata* L.). Journal of Plant Physiology, 8(30): 121-133. (In Persian)(**Journal**)
- Mahdavian, K. 2017. The effect of different concentrations of salicylic acid on adjustment of the effects of sodium chloride stress on growth parameters and photosynthetic pigments in sunflower plant (*Helianthus annuus* L.). Journal of Plant Environmental Physiology, 12(47): 93-106. (In Persian)(**Journal**)
- Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants .Second reprint. Academic Press, 4: 6-73. (**Book**)
- Memarian, B., Khoshsookhan, M. and Jamalou, F. 2018. Naphtalene effect on germination and growth factors of seedlings in *Helianthus annus* L. Applied Biology, 8(30): 17-24. (In Persian)(**Journal**)
- Michel, B. and Kaufman, E. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol6000. Plant Physiology, 51: 914-916.(**Journal**)
- Mohammadi, L., Shekari, F., Saba, J., Zangani, E. 2011. Effects of seed priming with salicylic acid on vigor and morphological traits of safflower seedlings. Modern Science of Sustainable Agriculture, 7: 63-72. (In Persian)(**Journal**)
- Mostafavi, KH. and Heydarian, A.R. 2012. Effects of different salinity levels on germination indices in four sunflower varieties. Journal of Agriculture and Plant Breeding, 8(3): 123–131. (In Persian)(**Journal**)
- Naderi Zarnaghi, R., Valizadeh, M. and Fotovat, R. 2014. Electrophoretic analysis of antioxidant enzymes activity under drought stress in winter wheat genotypes at tillering stage. Cereal Research, 4(3): 185 -197. (In Persian)(**Journal**)
- Nematollahi, E., Jafari, A. and Bagheri, A. 2012. Effect of drought stress and salicylic acid on photosynthesis pigments and macronutrients absorption in two sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. Journal of Plant Ecophysiology, 5(12): 37–51. (In Persian)(**Journal**)
- Noreen, S. and Ashraf, M. 2008. Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus Annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. Pakistan Journal of Botany, 40(4): 1657-1663. (**Journal**)
- Pakmehr, A., Shekari, F. and Rastgoo, M. 2014. Effect of seed priming by salicylic acid on some photosynthetic traits of cowpea under water deficit in flowering stage. Iranian Journal of Pulses Research, 5(2): 19-30. (In Persian)(**Journal**)
- Rahmani Iranshahi, D., Sepehri, M., Khoshgoftarmanesh, A.H., Eshghizadeh, H.R. and Jahandideh Mahjen Abadi, V. 2016. Inoculation effects of endophytic fungus on antioxidant enzyme activity and wheat tolerance under phosphorus deficiency in hydroponic system. Journal of Science and Technology, 6(4): 75-86. (In Persian)(**Journal**)
- Rajeshwari, V. and Bhuvaneshwari, V. 2017. Salicylic acid induced salt stress tolerance in plants. International Journal of Plant Biology and Research, 5(3): 1067. (**Journal**)
- Seiadat, S.A., Moosavi, A. and Sharafizadeh, M. 2012. Effect of seed priming on antioxidant activity and germination characteristics of maize seeds under different aging treatments. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 5: 51-62. (In Persian)(**Journal**)
- Seyed Sharifi, R. and Khavazi, K. 2012. Effect of growth stimulating bacteria on germination components and seedling growth of maize. Journal of Agroecology, 3: 506-513. (In Persian)(**Journal**)
- Shinwari, K.I., Jan, M., Shan, G., Khattak, S.R., Urehman, S., Daud, M.K, Naeem, R.A. and Jami, M. 2015. Seed priming salicylic acid induces tolerance against chromium (VI) toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). Pakistan Journal of Botany, 47: 161-170. (**Journal**)
- Singh, B., and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulators, 39: 137-141. (**Journal**)

- Soltani, A., Gholipour, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. *Environment and Experimental Botany*, 55: 195–200. **(Journal)**
- Tabatabaei, S.A. 2012. Effect of different pretreatments on germination indices and antioxidant enzymes activity of corn seeds under drought stress. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 1: 72-79. (In Persian)**(Journal)**
- TeKrony, D.M. and Egli, D.B. 1991. Relation ship of seed vigor to crop yield. *Crop Science*, 31: 816-822. **(Journal)**
- Wakjira, K. and Negash, L. 2013. Germination responses of croton macrostachyus (*Euphorbiaceae*) to various physico-chemical pretreatment conditions. *South African Journal of Botany*, 87: 76-83. **(Journal)**
- Yari, L., Hashemi, S. and Hasani, F. 2014. Effects of different storage temperatures on sunflower seeds vigor. *Iranian Journal of Seed Research*, 1(1): 11–19. (In Persian)**(Journal)**
- Younesi, O. and Moradi, A. 2015. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizal fungi on seedling emergence, early establishment and growth of two ecotypes alfalfa (*Medicago sativa*) under salinity stress condition. *Journal of Plant Production Research*, 22: 105-126. (In Persian)**(Journal)**



Effect of acid salicylic on germination indices, kernel vigor and activity of some antioxidant enzymes of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivar Armavireski under drought stress

Ahmad Afkari*

Received: August 14, 2018

Accepted: November 20, 2018

Abstract

Since the production of oily plants can be affected by environmental factors such as water restriction, so treatment with acid salicylic as a growth regulator can increase drought tolerance in plants. In order to investigate the effect of acid salicylic on some biochemical and seed germination of sunflower seeds under drought stress conditions, an experiment was conducted as factorial in a completely randomized design with three replications in the physiology lab at the Islamic Azad University of Kaleiber Branch in 2017. The treatments consisted of different concentrations of acid salicylic in four levels (0, 0.5, 1 and 1.5 mM) and different levels of drought stress with polyethylene glycol 6000 at five levels with Zero potential of (distilled water), -5, -10, -15 and -20 megapascal). The results showed that the effect of drought stress and different concentrations of acid salicylic on germination and antioxidant enzymes was significant at 1% probability level. Interaction of stress and acid salicylic on the activity of superoxide dismutase enzymes, ascorbate peroxidase, seed vigor, root length and stem length were significant. In drought stress conditions, the plant has been shown to increase the activity of antioxidant enzymes to reduce the effects of oxidative stress. The results of the mean comparison of the data showed that with increasing drought stress, the percent and speed of germination decreased and the activity level of antioxidant enzymes increased. In the present study, acid salicylic pre-treatment with concentrations of 1 and 0.5 mM significantly increased the activity of malondialdehyde, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase enzymes and germination components in comparison with the control. The overall results of this experiment showed that acid salicylic spraying, especially at 1 mM concentration, reduced the oxidative stress caused by drought and improved the antioxidant enzymes activity in sunflower seeds.

Key words: Acid salicylic; Ascorbate peroxidase; Biomarker; Drought; Germination; Sunflower

How to cite this article

Afkari, A. 2020. Effect of acid salicylic on germination indices, kernel vigor and activity of some antioxidant enzymes of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivar Armavireski under drought stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(1): 79-91. (In Persian)(Journal)

DOI: [10.22124/jms.2020.4342](https://doi.org/10.22124/jms.2020.4342)

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/>

Assistant Professor of Plant Physiology, Kaleybar Branch, Islamic Azad University, Kaleybar, Iran

*Corresponding author: afkariahmad@yahoo.com