علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دهم/ شماره اول/ ۱۴۰۲ (۶۶ - ۵۳)

مقاله پژوهشی

DOI: 10.22124/jms.2023.6887
DOR: 20.1001.1.24763780.1402.10.1.5.8

بررسی اثر تنش خشکی و اندازه بذر بر سیستم آنتی‌اکسیدانت و صفات گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های عدس توده ورزقان

محمد علی اعظمی*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۴

چکیده

خشکی رایج در مناطق دیم کشور یکی از عوامل محدودکننده رشد و عملکرد عدس می‌باشد. یکی از مشکلات مناطق نیمه‌خشک در دنیا و ایران استقرار ضعیف گیاهچه به‌دلیل فقدان آب کافی می‌باشد. به‌همین منظور جهت بررسی تاثیر اندازه بذر عدس توده محلی ورزقان بر جوانه‌زنی و خصوصیات رشد گیاهچه و واکنش‌های بیوشیمیایی آن تحت تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار تحت شرایط درون‌شیشه‌ای انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سطوح خشکی در چهار سطح (۰، ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال) و اندازه بذر در سه سطح (ریز، متوسط و درشت) بودند. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که اثرات متقابل دو عامل مورد مطالعه بر کلیه صفات مورد اندازه‌گیری به‌جز طول ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، به‌طوری‌که بذور ریز دارای درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه بیش‌تری نسبت به بذور متوسط و درشت بودند. با افزایش تنش خشکی تا ۰/۸- مگاپاسکال میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل، محتوای پروتئین محلول کل، محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز افزایش یافت، اما بیش‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در تیمار خشکی ۱/۲- مگاپاسگال مشاهده شد. به نظر می‌رسد که بذور ریز تحمل بیش‌تری به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی نشان داده و استفاده از این بذور برای شرایط کم‌آبی مناسب‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، بذر، تنش خشکی، جوانه‌زنی

استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
*نویسنده مسئول: Aazami58@gmail.com

مقدمه

عدس (*Lens culinaris*) جزو گیاهان مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد و اغلب در زمین‌هایی با حاصلخیزی کم کشت می‌شود (Satvir *et al.,* 2003). در کشورهای در حال توسعه حدود یک چهارم نیاز پروتئین مردم وابسته به حبوبات می‌باشد و عدس با ۲۸ درصد پروتئین نقش مهمی را در تغذیه مردم ایفا می‌کند (Nadeem *et al.,* 2019). ایران با تولید نزدیک ۷۴ هزار تن عدس در سال در رتبه دوازدهم جهان قرار دارد و۱/۲ درصد کل عدس تولیدی دنیا را تامین می‌کند (FAO STAT, 2018).

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی بوده که رشد و نمو گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌دلیل نوسانات بارندگی کاهش پتانسیل آب خاک مشاهده می‌گردد و در مناطقی با بارندگی‌های مناسب قبل از کشت، به‌علت تبخیر و خشک‌شدن لایه سطحی خاک جوانه‌زنی بذور با مشکل مواجه می‌شود (Gupta *et al.,* 1993; Sehgal *et al.,* 2017).

بذوری که در شرایط تنش، جوانه‌زنی بهتری دارند در مراحل بعدی رشد، گیاهچه‌هایی با سیستم ریشه‌ای قوی‌تر تولید می‌کنند. جوانه‌زنی و استقرار مناسب گیاهچه به‌عنوان عاملی موثر در میزان عملکرد به‌حساب می‌آید (Ouji *et al.,* 2015; Foti *et al.,* 2018).

بررسی واکنش ارقام گیاهی در شرایط القای تنش در محیط دارای پلی‌اتیلن‌گلایکول و سایر تعدیل‌کننده‌های اسمزی می‌تواند در به‌گزینی تحمل به خشکی در مرحله جوانه‌زنی موثر باشد (Aazami and Mohammadi, 2008; Ahmadpour *et al.,* 2016; Abdullahil Baque *et al.,* 2018).

اندازه بذر یکی از عوامل مهم تاثیرگذار بر یکنواختی سبزشدن گیاهچه‌ها می‌باشد (Steiner *et al.,* 2019). اندازه بذر شاخص فیزیکی مهمی از نظر کیفیت بذر است که بر ظهور، رشد گیاه و عملکرد محصول درمزرعه تأثیر می‌گذارد (Moradi *et al.,* 2013; Adebisi *et al.,* 2013; Steiner *et al.,* 2019). هارلینگز و همکاران (Horlinges *et al.,* 1991) نشان دادند که ژنوتیپ‌هایی از سویا(*Glycine max*) با بذورکوچک‌تر نسبت به بذور بزرگ‌تر در مقابل تغییرات جوی تحمل بهتری داشتند. اثرات اندازه بذر بر صفات مختلف جوانه‌زنی و رشد دانهال در شرایط تنش آبی و شوری هنوز هم بحث برانگیز است. استفاده از بذور با اندازه بزرگ‌تر، سبب افزایش جوانه‌زنی و سرعت رشد نهال در جودوسر (Mut and Akay, 2010) و تریتیکاله (Kaydan and Yagmur, 2008) شد. برعکس، پریرا و همکاران (Pereira *et al.,* 2013) از بذر سویا کوچک تحت شرایط تنش خشکی،گیاهچه‌های قوی‌تری به‌دست آورند، درحالی‌که بذرهای بزرگ در شرایط رطوبت مناسب خاک، نهال‌هایی با سرعت رشد بالاتر از بذرهای کوچک تولید می‌کردند. از طرف دیگر گزارش شده است که اندازه بذر سویا بر جوانه‌زنی و رشد اولیه نهال در شرایط آبی و تنش شوری تأثیر نمی‌گذارد (Soares *et al.,* 2015). لیمده و همکاران (Limede *et al.,* 2018) تأیید کردند که اندازه بذر تاثیری در ظهور نهال سویا ندارد. تعدادی از محققین نیز گزارش کردند که (Ambik *et al.,* 2014) بذرهای بزرگ در محیط‌های بدون تنش در مزارع نسبت به بذرهای کوچک دارای میزان بقای گیاهچه، رشد و عملکرد بهتر می‌باشند.

به‌دلیل اهمیت تغذیه‌ای عدس و تاثیر تنش خشکی بر قدرت جوانه‌زنی این گیاه در مناطق دیم کشور، مطالعه حاضر با هدف بررسی سطوح مختلف تنش خشکی و اندازه بذر عدس ژنوتیپ توده ورزقان بر شاخص‌های جوانه‌زنی و سیستم آنتی‌اکسیدانت صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، استریل‌کردن بذور و رویش آن‌ها

آزمایش بر روی بذور عدس بومی ورزقان صورت گرفت. توده‌های بومی به‌ترتیب شامل ژنوتیپ‌های ورزقان، علویق ورزقان و شاوی ورزقان بود که بعد از جمع‌آوری از سه محل فوق مخلوط و به‌عنوان ژنوتیپ ورزقان مورد آزمایش قرار گرفت. بذور جمع‌آوری‌شده در سال ۱۳۹۹ به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه جهت انجام آزمایش انتقال یافت. عدس‌ها سپس با استفاده از الک‌های ۴ و ۵ میلی‌متر از هم جداشده و بر اساس وزن هزاردانه در سه گروه ۳۳-۳۹ گرم (ریز)، ۴۳-۴۹ گرم (متوسط) و ۵۳-۵۹ گرم (درشت) قرار گرفتند (Chadordooz-Jeddi *et al.,* 2015). بذور توده‌های عدس به‌مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شدند. بعد ۲۴ ساعت سطح بذور با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۲ دقیقه و سپس هیپوکلریت‌سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۱۵

دقیقه ضدعفونی گردید و برای رفع عوامل شیمیایی مواد ضدعفونی سه بار با آب مقطر استریل آبشویی شد. بذور ضدعفونی‌شده در محیط‌های کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) حاوی آگار و تیمارهای پلی‌اتیلن‌گلایکول در ظروف شیشه‌ای (شیشه‌های درپوش‌دار با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر) کشت گردیدند (در هر واحد آزمایشی ۲۵ عدد بذر قرار داده شد) و سپس به اتاقک کشت با شرایط دمای ۲۴ درجه سلسیوس و ۱۶ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی رطوبت ۷۰ درصد منتقل گردیدند. طرح آزمایشی بر اساس آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول: سطوح تنش خشکی و فاکتور دوم: اندازه بذر) بر پایه طرح کامل تصادفی انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (v 9.2) و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel (2016) انجام شد.

تیمارهای اعمال‌شده و اندازه‌گیری صفات گیاهچه‌ای

جهت القای تنش خشکی از پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ استفاده شد. بدین جهت محیط کشت MS شامل شاهد و پلی‌اتیلن‌گلایکول در سه سطح با پتانسیل اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال (Muscolo *et al.,* 2014) تیمار شد. پتانسیل اسمزی تیمارهای پلی‌اتیلن‌گلایکول از رابطه میشل و کافمن (Michel and Kaufmann, 1973) محاسبه گردید. بعد از تهیه محلول‌های پلی‌اتیلن‌گلایکول با استفاده از اتوکلاو در ۱۵ دقیقه استریل شدند و زیر هود در ظروف شیشه‌ای کشت، توزیع گردیدند. صفات رویشی از گیاهچه‌های حاصل از کشت بذور در شرایط درون‌شیشه‌ای (Ahmad *et al.,* 2020) بعد از ۱۶ روز، با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر گیاه و ریشه از ترازوی حساس (یک هزارم) استفاده شد. برای محاسبه وزن خشک، نمونه‌های تر در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس و به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند.

استخراج و سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

جهت اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول کل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول‌پراکسیداز، ۰/۵گرم از ساقه‌چه حاصل از گیاهچه‌های ۱۶ روزه جدا و در نیتروژن مایع هموژن گردید و سپس به آن ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH=7.5) محتوی EDTA ۰/۵ میلی‌مولار اضافه شد. نمونه‌های هموژن‌شده در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. روشناور به‌دست‌آمده جهت سنجش نمونه‌ها آماده گردید (Sairam *et al.,* 2002). به‌دلیل نیمه‌عمر پایین آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز و جهت افزایش پایداری آن به محلول استخراج آنزیم، پلی‌وینیل‌پیرولیدین (۵ درصد) و آسکوربات (۲ میلی‌مولار) اضافه شد. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد (Aebi, 1984). سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید (Yoshimura *et al.,* 2000). فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (GPX)، در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی بر پایه تتراگایاکول تشکیل‌شده محاسبه گردید (Yoshimura *et al.,* 2000).

اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول کل، آنتی‌اکسیدانت کل و محتوای پراکسید هیدروژن

سنجش محتوای پروتئین نمونه‌ها به روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد. حداکثر جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر یادداشت شد. از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی برای اندازه‌گیری پروتئین محلول کل نمونه‌ها استفاده گردید. ظرفیت آنتی‌اکسیدانت کل نمونه‌ها از طریق درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از روش چیو و همکاران (Chiou *et al.,* 2007) محاسبه شد. اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن در بافت تر گیاهی به‌روش ولیکوا و همکاران (Velikova *et al.,* 2000) انجام گرفت. میزان جذب نور نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتری در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌ها اثرات متقابل تنش خشکی و اندازه بذر بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، اما در صفت طول ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک کل اثرات متقابل غیرمعنی‌دار و اثرات ساده تنش خشکی در سطح

احتمال یک درصد و اندازه بذر در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شدند. اثرات متقابل دو عامل و اثر ساده اندازه بذر بر صفت وزن خشک گیاهچه غیرمعنی‌دار بوده اما اثر تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و اندازه بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی در عدس

Table 1. Analysis of variances of drought stress and seed size on germination indices of lentil

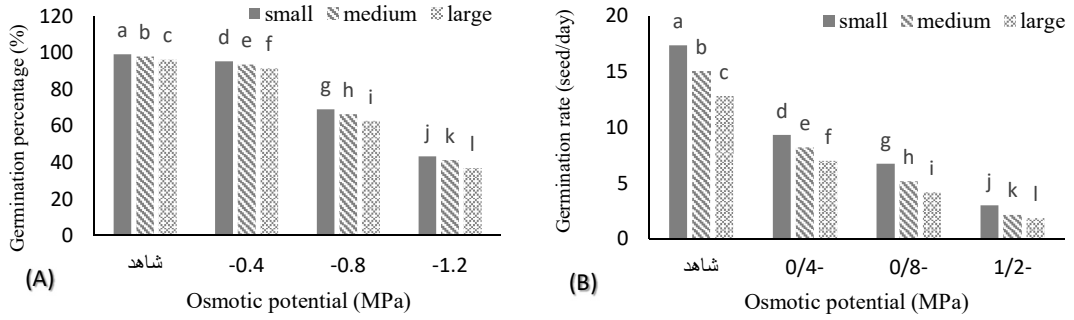
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ساقه‌چه Plumule length	طول ریشه‌چه Radicle length	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight
Drought stress (A) تنش خشکی	3	8509.65**	353.35**	1538.41**	13814.1**	125.68**	181.07**	545.97**
Seed size (B) اندازه بذر	2	94.81**	28.08	52.35**	84.32*	0.55*	0.51ns	1.79*
A× B	6	3.3**	2.11**	2.61**	35.27ns	0.13ns	0.11ns	0.16ns
Error خطا	36	0.08	0.03	0.13	18.54	0.136	0.33	0.41
CV% ضریب تغییرات		0.39	2.51	0.72	7.44	8.31	12.88	7.34

ns ,* و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, ** and * non-significant, means significant difference at p≤0.05 and p≤0.0, respectively

درصد و سرعت جوانه‌زنی

با افزایش میزان تنش خشکی درصد جوانه‌زنی بذور کاهش یافت. کم‌ترین درصد جوانه‌زنی ۳۶/۷ درصد مربوط به تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسگال و در بذور درشت مشاهده شد. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به بذور ریز در شرایط بدون تنش دیده شد. بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی با ۱۷/۶۶ بذر در روز در بذور ریز بدون تنش اسمزی و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی با ۱/۷۷ بذر در روز در تیمار تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسگال و بذور درشت مشاهده گردید. بذور ریز سرعت جوانه‌زنی بیش‌تری را نسبت به بذور متوسط و درشت در تمام تیمارهای تنش خشکی نشان دادند (شکل ۱).

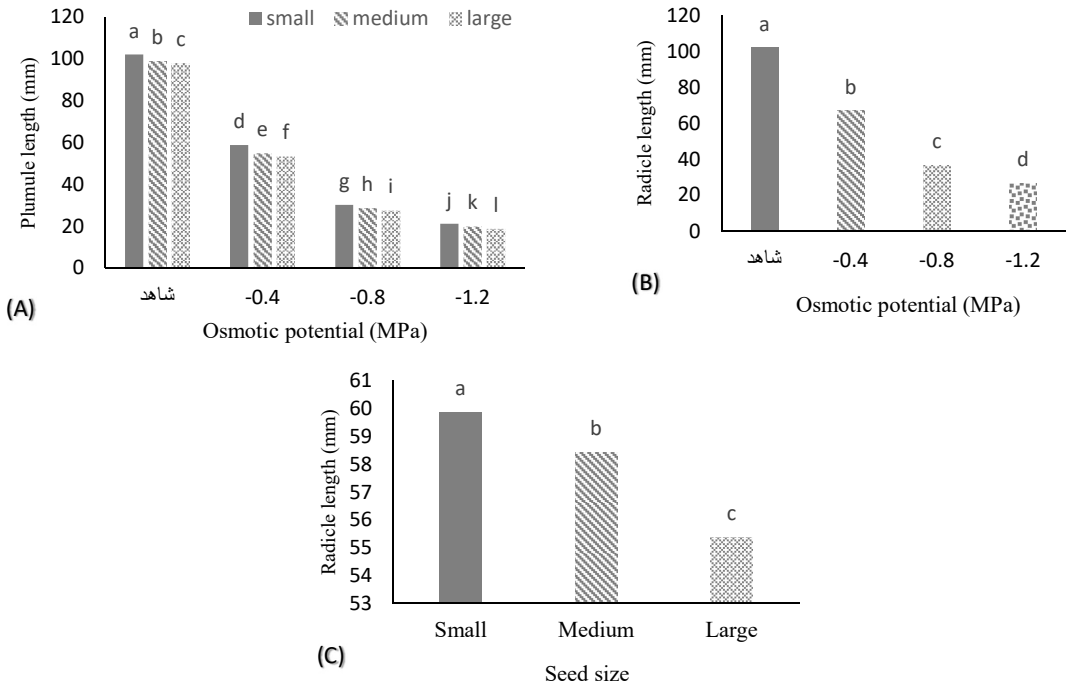


شکل ۱- اثرات متقابل تنش خشکی و اندازه بذر بر درصد جوانه‌زنی عدس (A). اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر سرعت جوانه‌زنی عدس (B)

Figure 1. Interactions of drought stress and seed size on lentil germination percentage (A). Interactions of drought stress in seed size on lentil germination rate (B)

طول ساقه‌چه و ریشه‌چه

با بررسی مقایسه میانگین داده‌ها بیش‌ترین طول ساقه‌چه با ۱۰۲/۱ میلی‌متر در شاهد با بذور ریز و کم‌ترین طول ساقه‌چه با ۱۸/۶ میلی‌متر در تیمار تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسکال و بذور درشت مشاهده گردید. بذور ریز دارای طول ساقه‌چه بیش‌تری نسبت به بذور متوسط و درشت در تمام تیمارهای تنش خشکی بودند. با افزایش تنش خشکی میزان طول ریشه‌چه از ۱۰۴/۶ میلی‌متر در شاهد به ۲۵/۲ میلی‌متر در تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسکال رسید. بیش‌ترین و کم‌ترین طول ریشه‌چه به‌ترتیب در بذور ریز و درشت مشاهد شد (شکل ۲).



شکل ۲- اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر طول ساقه‌چه عدس (A). اثرات ساده غلظت‌های مختلف تنش خشکی بر طول ریشه‌چه عدس (B). اثرات ساده اندازه بذر بر طول ریشه‌چه عدس (C)

Figure 2. Interactions of drought stress and seed size on lentil plumule length (A). The effect of drought stress on lentil radicle length (B). The effect of seed size on lentil radicle length (C)

وزن خشک گیاه‌چه، ساقه‌چه و ریشه‌چه

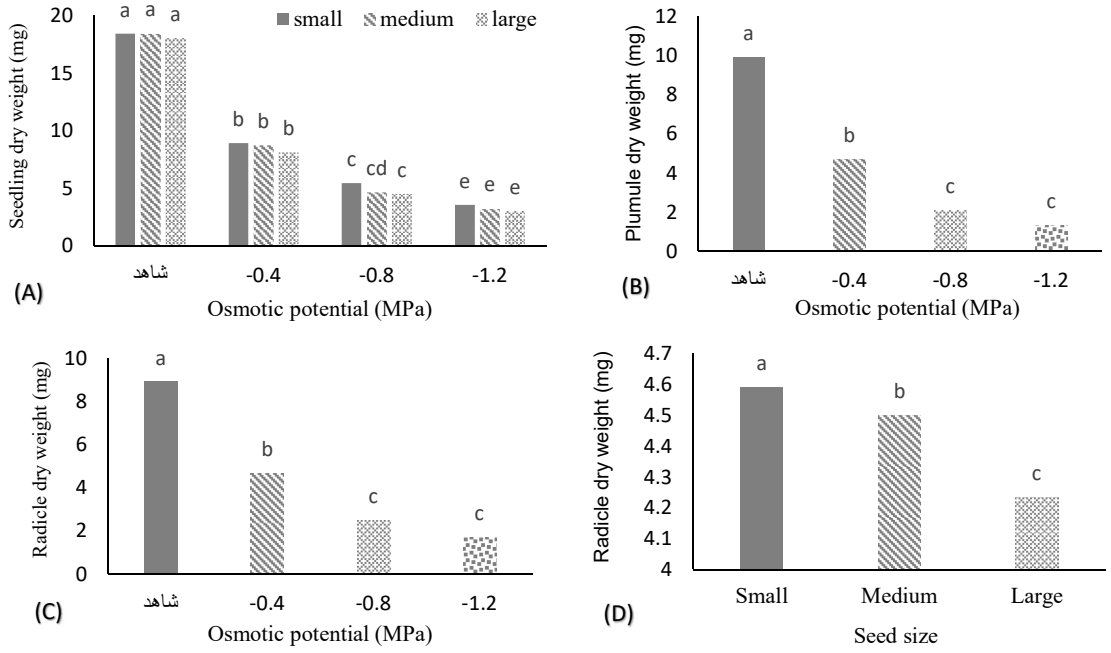
با افزایش تنش خشکی میزان وزن خشک گیاهچه کاهش یافت. بیش‌ترین و کم‌ترین وزن خشک گیاهچه به‌ترتیب در شاهد و فشار اسمزی ۱/۲- مگاپاسکال مشاهد شد. بین اندازه بذور در فشار اسمزی صفر، ۰/۴- و ۱/۲- مگاپاسکال در صفت وزن خشک گیاهچه اختلاف معنی‌داری دیده نشد. با افزایش تنش خشکی میزان وزن خشک ساقه‌چه کاهش یافت، ولی بین تیمار خشکی ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسکال اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. با افزایش تنش خشکی میزان وزن خشک ریشه‌چه از ۹/۰۱ میلی‌گرم در شاهد به ۱/۴۲ میلی‌گرم در تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسکال کاهش یافت. بذور ریز دارای وزن خشک ریشه‌چه بیش‌تری نسبت به بذور متوسط و بذور متوسط نسبت به بذور درشت نشان دادند (شکل ۳).

صفات بیوشیمیایی

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌ها اثرات متقابل تنش خشکی و اندازه بذر بر فعالیت آنتی-اکسیدان کل، محتوای پروتئین محلول کل، محتوای پراکسید هیدروژن، فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، اثرات متقابل و اثرات ساده غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲).

فعالیت آنتی‌اکسیدان کل

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدان کل با افزایش تنش خشکی (تا ۰/۸- مگاپاسکال) در بذور ریز نسبت به شاهد افزایش نشان داد و سپس با افزایش تنش خشکی تا ۱/۲- مگاپاسکال فعالیت آنتی‌اکسیدان کل کاهش یافت، ولی این کاهش نسبت به شاهد غیرمعنی‌دار بود. در بذور متوسط با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان کل کاهش یافت. در بذور متوسط با افزایش تنش خشکی تا ۰/۸- مگاپاسکال فعالیت آنتی‌اکسیدان کل نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری را نشان نداد ولی در ۱/۲- مگاپاسکال کاهش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۴).



شکل ۳- اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر وزن خشک گیاهچه عدس (A). اثرات ساده غلظت‌های مختلف تنش خشکی بر وزن خشک ساقه‌چه عدس (B). اثرات ساده غلظت‌های مختلف تنش خشکی بر وزن خشک ریشه‌چه عدس (C). اثرات ساده اندازه بذر بر وزن خشک ریشه‌چه عدس (D)

Figure 3. Interactions of drought stress and seed size on lentil seedling dry weight (A). The effect of drought stress on lentil plumule dry weight (B).The effect of drought stress on lentil radicle dry weight (C).The effect of seed size on lentil radicle dry weight (D)

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و اندازه بذر بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی در عدس

Table 2. Analysis of variances of drought stress and seed size on some biochemical traits of lentil

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	فعالیت آنتی اکسیدان‌کل Total antioxidant activity	محتوای پروتئین محلول کل Total soluble protein content	پراکسید هیدروژن H_2O_2	سوپراکسید دیسموتاز SOD	گایاکول پراکسیداز GPX	آسکوربات پراکسیداز APX
Drought stress (A) تنش خشکی	3	176.92**	0.009**	463.26**	2.38ns	0.024**	0.087**
Seed size (B) اندازه بذر	2	1083.79**	0.001**	263.73**	2.26ns	0.02**	0.036**
A × B	6	185.03**	0.005**	134.71**	1.44ns	0.027**	0.078**
Error خطا	36	13.08	0.001	4.83	1.32	0.001	0.006
CV% ضریب تغییرات		8.45	13.29	15.65	4.24	23.66	18.59

ns، * و **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, ** and * non-significant, means significant difference at p≤0.05 and p≤0.0, respectively

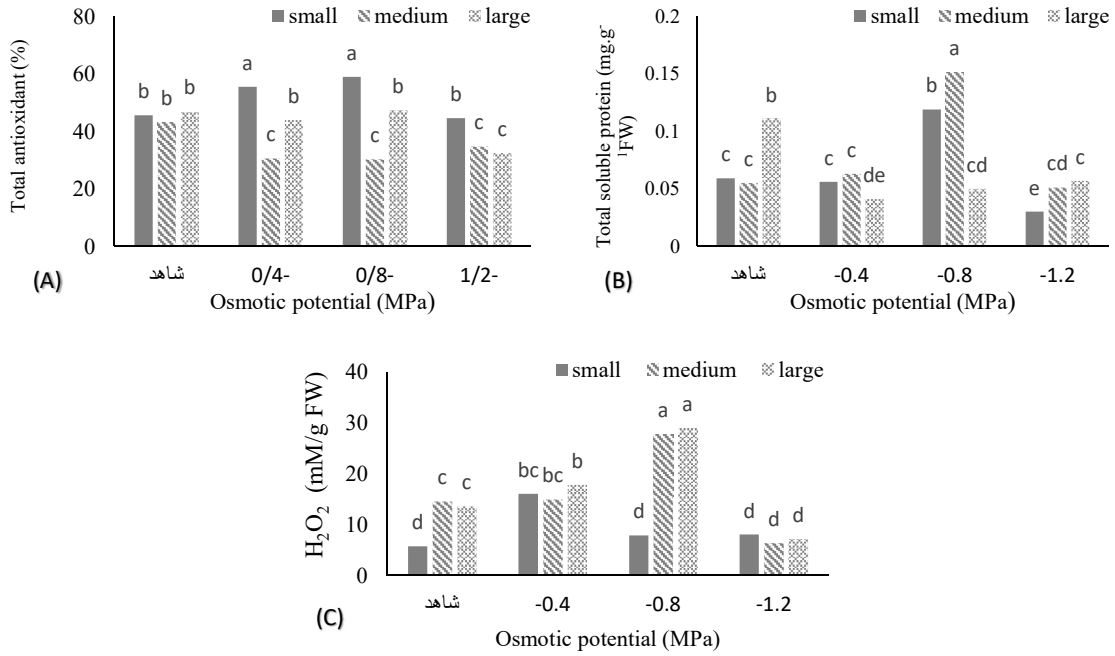
محتوای پروتئین محلول کل

بیش‌ترین محتوای پروتئین محلول کل مربوط به بذور متوسط در خشکی ۰/۸- مگاپاسکال بود و کم‌ترین محتوای پروتئین محلول کل مربوط به بذور ریز در تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسکال بود. با افزایش تنش تا ۰/۴- مگاپاسکال تفاوتی در محتوای پروتئین محلول کل مشاهده نگردید و با افزایش تنش خشکی تا ۰/۸- مگاپاسکال محتوای پروتئین محلول کل افزایش نشان داد و در ۱/۲- مگاپاسکال به کم‌ترین مقدار خود رسید (شکل ۴).

محتوای پراکسید هیدروژن

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر محتوای پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش-ترین مقدار پراکسید هیدروژن در تنش خشکی ۰/۸- مگاپاسکال و بذور درشت و متوسط مشاهده گردید و کم

ترین مقدار آن در تنش خشکی ۱/۲- مگاپاسکال در تمامی اندازه‌های بذور و بذور ریز در شرایط بدون تنش دیده شد (شکل ۴).

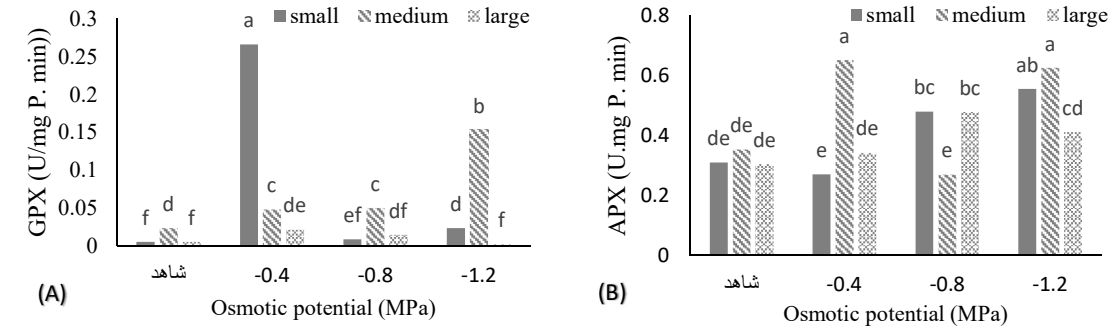


شکل ۴- اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانت کل در عدس (A). اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر محتوای پروتئین محلول کل در عدس (B). اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر محتوای H_2O_2 در عدس (C)

Figure 4. Interactions of drought stress and seed size on lentil total antioxidant (A). Interactions of drought stress in seed size on lentil total soluble protein (B).Interactions of drought stress in seed size on lentil H_2O_2 (C)

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

بیشترین مقدار گایاکول‌پراکسیداز مربوط به فشار اسمزی ۰/۴- مگاپاسکال در بذور ریز بود و کم‌ترین مقدار گایاکول‌پراکسیداز مربوط به تیمار ۱/۲- مگاپاسکال در بذور درشت بود. با افزایش تنش خشکی تا ۱/۲- مگاپاسکال در بذور متوسط میزان گایاکول‌پراکسیداز افزایش نسبی مناسبی را نشان داد.



شکل ۵- اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در عدس (A). اثرات متقابل تنش خشکی در اندازه بذر بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در عدس (B)

Figure 5. Interactions of drought stress in seed size on lentil GPX (A). Interactions of drought stress in seed size on lentil APX (B)

با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز افزایش یافت، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان فعالیت آن در ۰/۴- و ۱/۲- مگاپاسکال در بذور متوسط مشاهده گردید. در تیمار شاهد بین اندازه بذور از

بابت میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵). با توجه به این‌که جوانه‌زنی یکی از مراحل مهم چرخه حیات گیاه می‌باشد، پتانسیل جوانه‌زنی در تنش آبی به‌عنوان یک شاخص مهم در برآورد تحمل به خشکی می‌باشد (Singh *et al.,* 2017). کاهش درصد جوانه‌زنی در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط تنش خشکی نشانه حساسیت این گیاه می‌باشد. کاهش جذب آب توسط بذر در اثر تنش خشکی باعث کاهش فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌شود و فراوانی مواد در دسترس برای ادامه حیات گیاه را با مشکل مواجه می‌کند (Thabet *et al.,* 2018). در شرایط تنش خشکی بذور کوچک‌تر به‌دلیل کارآیی بهتر جذب آب درصد جوانه‌زنی بیش‌تری را نشان می‌دهند (Sadeghi *et al.,* 2011). در پژوهش حاضر نیز بذور ریز نسبت به بذور متوسط و درشت در تمامی سطوح تنش خشکی دارای درصد جوانه‌زنی بیش‌تری بودند. یکی از پارامترهای مهم در بررسی و ارزیابی تحمل به تنش‌های غیر زنده، سرعت جوانه‌زنی می‌باشد، در شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌هایی با سرعت جوانه‌زنی بالاتر ظهور گیاهچه‌ای سریع‌تری را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارند. اختلال در جذب آب توسط بذر باعث کاهش فعالیت‌های متابولیک جوانه‌زنی می‌شود و سرعت جوانه‌زنی را به‌واسطه افزایش زمان خروج ریشه‌چه کاهش می‌دهد (Foti *et al.,* 2018). در شرایط کمبود رطوبت، بذور کوچک‌تر با افزایش کارایی جذب آب جوانه‌زنی بهتری را نشان می‌دهند. شاخص سرعت جوانه‌زنی بذرهای گندم با اندازه بزرگ در تنش خشکی نسبت به بذرهای کوچک و متوسط پایین بود (Shahi *et al.,* 2015). سویا با بذور کوچک‌تر نسبت به بذور بزرگ‌تر در مقابل تغییرات آب و هوایی تحمل بیش‌تری داشتند. با کاهش جذب آب فعالیت‌های متابولیک بذر، آهسته‌تر شده و سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Adebisi *et al.,* 2013; Limede *et al.,* 2018). در این مطالعه نیز بذور ریز عدس نسبت به بذور متوسط و درشت در تمام سطوح تنش خشکی سرعت جوانه‌زنی بیش‌تری را نشان دادند. بذور ریز عدس نسبت به هر دو اندازه بذر (متوسط و درشت) در شرایط تنش خشکی دارای طول ساقه‌چه بیش‌تری بودند که با یافته‌های سایر محققین مطابقت داشت. طول ساقه‌چه با افزایش میزان تنش خشکی به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد. مقدار ماده خشک در بافت ساقه‌چه گیاهچه‌های متحمل در شرایط تنش افزایش می‌یابد. کاهش طول ساقه‌چه در شرایط تنش وابسته به نقل و انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین می‌باشد (Willenborg *et al.,* 2005). با افزایش شدت تنش خشکی، میزان رشد گیاهچه و طول ساقه‌چه تحت تاثیر قرار می‌گیرد. کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و باعث اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (Wang *et al.,* 2015). بین اندازه بذور در صفت طول ریشه‌چه اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید، به‌طوری‌که بذور ریز نسبت به بذور متوسط و درشت دارای بیش‌ترین طول ریشه‌چه بودند که با یافته‌های جیان و همکاران (Jian *et al.,* 2016) و سیلوا و همکاران (Silva *et al.,* 2007) مطابقت داشت. در پژوهش‌های زیادی به کاهش طول ریشه‌چه در شرایط تنش خشکی اشاره شده است (Gupta *et al.,* 1993). تنش خشکی طول ریشه، سطح ریشه، حجم ریشه را به‌میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. تنش خشکی باعث کاهش ریشه‌های مویی شده و باعث تغییر شکل آن‌ها می‌شود (Jian *et al.,* 2016). بذور ریز در شرایط تنش خشکی به‌علت اندازه ریزتر کارایی جذب آب بهتری داشته، زودتر جوانه زده و فرصت بیش‌تری برای افزایش طول ریشه‌چه دارند، بنابراین از ریشه‌چه‌های بزرگ‌تری نسبت به بذرهای درشت برخوردار می‌شوند. با افزایش طول ریشه‌چه، وزن آن نیز افزایش می‌یابد. ریشه‌چه‌هایی با ظهور سریع‌تر در مقایسه با مواردی‌که دیرتر جوانه می‌زنند، دارای رشد و نمو و طول ریشه‌چه بیش‌تر و در نهایت دارای ماده خشک بیش‌تری هستند (Silva *et al.,* 2007). خدارحم‌پور (Khodarahmpour, 2011) گزارش کرد که پتانسیل اسمزی ۱۲- مگاپاسکال باعث تاخیر فرآیند جوانه‌زنی بذر ذرت (*Zea mays* L.) و در نتیجه باعث ایجاد ریشه‌چه‌ها و گیاهچه‌های کوتاه‌تر و ماده خشک کم‌تر نسبت به شاهد گردید.

در مطالعه حاضر وزن خشک گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه در عدس با افزایش تنش خشکی کاهش یافت، که با یافته‌های خدارحم‌پور (Khodarahmpour, 2011) در گیاه ذرت و سیلوا و همکاران (Silva *et al.,* 2007) در گیاه نیشکر (*Saccharum officinarum*) مطابقت داشت. طبق گزارش آکوستا موتوس و همکاران (Acosta-Motos *et al.*, 2017)، یکی از اولین فرآیندهایی که

تحت تأثیر کاهش پتانسیل آب قرار می‌گیرد، انبساط سلولی می‌باشد. کاهش وزن ساقه‌چه در تنش خشکی، تحرک کم مواد غذایی باعث کاهش میزان ماده خشک و رشد ساقه‌چه گیاهان متحمل گردید. آدبیسی و همکاران (Adebisi *etal.,* 2013) خاطر نشان کردند که اندازه بذر از اهمیت بسیاری برخوردار است و از طریق بهبود شاخص‌های فیزیکی، کیفیت، نرخ رشد گیاهچه و عملکرد محصول در مزرعه موثر واقع می‌شود. در این تحقیق نیز بذور ریز عدس نسبت به بذور درشت دارای وزن خشک بالای گیاهچه در شرایط تنش خشکی بودند که می‌تواند باعث افزایش بیوماس گیاهی در شرایط کم آبی گردد. در مطالعه حاضر آنتی‌اکسیدان کل در بذور ریز عدس در تمام سطوح خشکی در بیش‌ترین مقدار خود بود که نشان از بالا بودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی و به تبع آن افزایش سنتز و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با یافته‌های کیستر و همکاران (Keyster *et al.,* 2013) در گیاه ذرت تحت تنش شوری، کای و همکاران (Cai *et al.,* 2015) در برنج تحت تنش خشکی و ویمر و همکاران (Wimmer *et al.,* 2003) در ذرت تحت تنش شوری مطابقت داشت. در طول تنش خشکی، تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی از طریق میزان بیان ژن‌های مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) انجام می‌گیرد. پاسخ به خشکی باعث فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بازسازی آنتی‌اکسیدان‌های غیرپروتئینی می‌شود (Laxa *et al.,* 2019). گیاهان متحمل با استفاده از آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی توانایی کاهش گونه‌های اکسیژن فعال را به‌دست می‌آورند (Keyster *et al.,* 2013). تنش‌های غیرزیستی از طریق تجزیه و باز تولیدگروهی از پروتئین‌ها، در میزان پروتئین‌های محلول کل سلول تغییراتی را ایجاد می‌کنند Wimmer *et al.,* (2003). تنش‌خشکی، با افزایش پروتئازها سبب تجزیه پروتئین‌ها می‌گردد. بعضی از پروتئین‌هایی که در تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌یابد شامل پروتئین شوک حرارتی، دهیدرین‌ها، پروتئین‌های وابسته به سیستم دفاعی و پروتئین‌هایی که در فرایندهای متابولیک گیاه نقش دارند، می‌باشند (Feller, 2004; Laxa *et al.,* 2019). در این بررسی محتوای پروتئین‌های محلول کل در بذور متوسط و ریز تا ۰/۸- مگاپاسگال افزایش و سپس در ۱/۲- مگاپاسگال کاهش یافت که می‌تواند به‌دلیل تجزیه پروتئین‌ها در سطوح بالای خشکی باشد که در نتیجه باعث کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز می‌گردد. یکی از انواع گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسید هیدروژن می‌باشد که در مقدار کم باعث تحریک سیستم دفاعی و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد، ولی افزایش آن در سلول‌ها باعث تنش اکسیداتیو و در نهایت مرگ سلول می‌شود (Hernandez *et al.,* 2010). در آزمایش حاضر افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در بذور درشت در شرایط تنش باعث ناکارآمدی سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش تحمل به تنش خشکی در این بذور گردید، که مشابه یافته‌های سایر محققین می‌باشد (Siringam *et al.,* 2011; Thirupathi *et al.,* 2011). تجمع ROSها و H_2O_2 در اثر تنش خشکی یک نمونه اولیه از پاسخ به تنش می‌باشد (Cai *et al.,* 2015). آنزیم سوپراکسیددیسموتاز اولین آنزیم پاکسازی‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال است. سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی باعث حفظ پایداری غشاء سلول‌های گیاهی در تنش‌های غیرزیستی می‌شود (Alscher *et al.,* 2002). بر خلاف یافته‌های سایر محققان در بررسی حاضر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در بذور عدس تحت تنش خشکی پایین بود که احتمالا به حساسیت این آنزیم به مقادیر بالای پراکسید هیدروژن مربوط می‌باشد، به‌نحوی‌که منجر به توقف و یا کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گردید. این می‌تواند میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب بیومولکول‌های دیگر را افزایش دهد (Anjum *et al.,* 2011). آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی در تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی از جمله خشکی، نقش مهمی را ایفا می‌کنند. آنزیم گایاکول‌پراکسیداز با اکسایش ترکیب‌های فنلی مانند گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن باعث تجزیه آن می‌شود (Hojati *et al.,* 2011). این حذف و غیرفعال‌شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند از تخریب بیومولکول‌ها جلوگیری کند (Mittler *et al.,* 2004). در پژوهش حاضر با افزایش تنش خشکی تا ۰/۴- مگاپاسگال افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم‌گایاکول‌پراکسیداز در بذور ریز مشاهده گردید، ولی با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت که احتمالا به‌دلیل افزایش ROSها در گیاه عدس می‌باشد که با یافته‌های مهمت و همکاران

(Mervat *et al.,* 2012) در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، سیلان و همکاران (Ceylan *et al.,* 2013) در نخود (*Cicer arietinum*) مطابقت داشت. همچنین در پژوهش حاضر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز تحت تنش خشکی، افزایش یافت. آسکوربات‌پراکسیداز دارای خاصیت احیاکنندگی قوی رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Kafi *et al.,* 2005). این آنزیم در شرایط تنش‌های غیرزیستی به‌خصوص تنش خشکی افزایش می‌یابد و باعث جاروب گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. افزایش این آنزیم در پژوهش حاضر به‌طور معنی‌داری در بذور ریز و متوسط، بیش‌تر از بذور درشت بود که می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در این بذور تحت تنش خشکی باشد و با نتایج گزارش‌شده توسط مروت و همکاران (Mervat *et al.,* 2012) در گیاه آفتابگردان، سیلان و همکاران (Ceylan *et al.,* 2013) در نخود مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر با افزایش میزان تنش خشکی القایی توسط پلی‌اتیلن‌گلایکول تا ۱/۲- مگاپاسگال شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش یافت. بذور ریز نسبت به بذور متوسط و درشت تحت شرایط تنش خشکی باعث بهبود در میزان درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه گردید. در بذور ریز کم‌ترین مقدار H_2O_2 مشاهده شد که نشان از مقدار کم ROSها تحت تنش خشکی می‌باشد. در بذور متوسط مقدار آنتی‌اکسیدان کل، GPX و APX در بیش‌ترین مقدار بود. نیاز حداقلی رطوبت برای جوانه‌زنی بذور ریز می‌تواند باعث انتخاب این بذور در شرایط تنش خشکی در مزرعه گردد. ژنوتیپ‌های مختلف عدس از جمله ژنوتیپ ورزقان می‌توانند نه تنها در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود تحمل به تنش خشکی با هدف افزایش احتمال موفقیت حبوبات در محیط‌های خشک و نیمه‌خشک استفاده شوند، بلکه در محیط‌های آبی نیزکشت شوند چون کمبود آبی یک محدودیت مکرر است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات مسئول آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع

Aazami, M.A. and Mohammadi, S. 2008. Determination of the Best Temperature and Dry Condition in Carrot Primed-Seeds. PakistanJournal of Biological Sciences, 11(11): 1502-1505.**(Journal)**

Abdullahil Baque, M., Faijunnahar, M., Ahsan Habib, M. and Motmainna, M. 2018. PEG Induced Germination, Seedling Growth and Water Relation Behavior of Wheat Genotypes under Salt Stress Condition. Universal Journal of Plant Science, 6(3): 21-31.**(Journal)**

Acosta-Motos, J.R., Ortuno, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Virancos, P., Sanchez-Blanco, M.J. and Hernandez, G.A.2017. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. Agronomy, 7(1): 1-18. **(Journal)**

Aebi, H.1984. Catalase in vitro. In Methods in enzymology, 105: 121-126. **(Journal)**

Adebisi, M.A., Kehinde, T.O., Salau, A.W., Okesola, L.A., Porbeni, J.B.O., Esuruoso, A.O. and Oyekale, K.O.2013. Influence of different seed size fractions on seed germination, seedling emergence and seed yield characters in tropical soybean (*Glycine max* L. Merrill). International Journal of Agricultural Research, 8(1): 26-33. **(Journal)**

Ahmad, M.A., Javed, R., Adeel, M., Rizwan, M. and Yang, Y. 2020. PEG 6000-stimulated drought stress improves the attributes of *In Vitro* growth, Steviol Glycosides production, and antioxidant activities in *Stevia rebaudiana* Bertoni.Plants, 9: 1552. **(Journal)**

Ahmadpour, R., Armand, N., Hoseinzadeh, S.R. and Chashiani, S. 2016. Selection drought tolerant cultivars of lentil (*Lens culinaris* Medik.) by measuring germination parameters. Iranian Journal of Seed Science and Research, 3(3): 65-77. (In Persian)**(Journal)**

Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany, 53(372): 1331-1341. **(Journal)**

Ambika, S., Manonmani, V. and Somasundaram, G. 2014. Review on effect of seed size on seedling vigour and seed yield. Research Journal of Seed Science, 7(2): 31-38. **(Journal)**

Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6(9): 2026-2032. **(Journal)**

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive methodfor the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254. **(Journal)**

Cai, W., Liu, W., Wang, W.S., Fu, Z.W., Han, T.T. and Lu, Y.T. 2015. Overexpression of rat neurons nitric oxide synthase in rice enhances drought and salt tolerance. PLoS ONE, 10: 131-139. **(Journal)**

Ceylan, H.A., Türkan, I. and Sekmen, A.H. 2013. Effect of coronatine on antioxidant enzyme response of chickpea roots to combination of PEG-induced osmotic stress and heat stress. Journal of Plant Growth Regulation, 32(1): 72-82. **(Journal)**

Chadordooz-Jeddi, A., Ghassemi-Golezani, K. and Zehtab-Salmasi, S. 2015. The Impact of Seed Size and Aging on Physiological Performance of Lentil under Water Stress. Journal of Plant Physiology and Breeding, 5(1): 13-21. **(Journal)**

Chiou, A., Karathanos, V.T., Fotini, A.M., Fani, N.S., Nikolaos, P. and Andrikopoulos, K. 2007. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. Food Chemistery, 102(2): 516-522.**(Journal)**

Food and Agriculture Organization. 2018. FAOSTAT agriculture. http://fao.org/crop/statistics

Feller, U. 2004. Proteolysis. In: Plant Cell Death Processes. Ed. Elsevier. **(Book)**

Foti, C., Khah, E.M. and Pavli, O.I. 2018. Germination profiling of lentil genotypes subjected to salinity stress. Plant Biology, 21(3): 480-486. **(Journal)**

Gupta, A.K., Singh, J., Kaur, N. and Singh, R. 1993. Effect of polyethylene glycol induced water stress on uptake introversion and transport of sugars in chickpea seedling. Plant Physiology and Biochemistry, 31: 743 – 747. **(Journal)**

Hernandez, M., Fernandez-Garcia, N., Diaz-Vivancos, P. and Olmos, E. 2010.A different role for hydrogen peroxide and the antioxidative system under short and long salt stress in *Brassica oleracea* roots. Journal of Experimental Botany, 61(2): 521–535. **(Journal)**

Hojati, M., Modarres-Sanavy, A.M.M., Karimi, M. andGhanati, F. 2011. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. Acta Physiologia Plantarum, 33: 105-112. **(Journal)**

Horlings, G.P., Gamble, E.E. and Shanmugasundaram, M. 1991. The influence of seed size, and seed coat characteristics on seed quality of soybean in the tropics. Seed Science andTechnology, 19: 665-683. **(Journal)**

Jian, W., Lv. M.T., Islam, F., Gill, R.A., Chong, Y. and Ali B. 2016. Salicylic acid mediates antioxidant defense system and ABA pathway related gene expression in *Oryza sativa* against quinclorac toxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety, 133: 146–156. **(Journal)**

Kafi, F.M., Nezami, A., Hosseini, H. and Masoumi, A. 2005. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes. Iranian Journal of Field Crops Research, 3: 69-80. (In Persian)**(Journal)**

Kaydan, D. and Yagmur, M. 2008. Germination, seedling growth and relative water content of shoot in different seed sizes of triticale under osmotic stress of water and NaCl. African Journal of Biotechnology, 7(16): 2862-2868. **(Journal)**

Keyster, M., Klein, A., Du Plessis, M., Jacobs A., Kappo A., Kocsy C., Galiba G. and Ludidi N. 2013. Capacity to control oxidative stress-induced caspase-like activity determines the level of tolerance to salt stress in two contrasting maize genotypes. Acta Physiologiae Plantarum, 35**:** 31–40. **(Journal)**

Khodarahmpour, Z. 2011. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. African Journal of Biotechnology, 10(79): 18222-18227. **(Journal)**

Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K. and Dietz, K.J. 2019. The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance.Antioxidants, 8: 1-32. **(Journal)**

Limede, A.C., Oliveira, C.E.S., Zoz, A. and Zuffo, A.M. 2018. Effects of seed size and sowing depth in the emergence and morphophysiological development of soybean cultivated in sandy texture soil. Australian Journal of Crop Science, 12(1): 93-98. **(Journal)**

Mervat, Sh.S., Abd El-Monem, A.A., El-Bassiouny, H.M.S. and Nadia, N.B. 2012. Physiological response of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to exogenous arginine and putrescine treatments under salinity Stress. Journal of Applied Sciences Research, 8(10): 4943-4957. **(Journal)**

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

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in plant science, 9(10): 490-498. **(Journal)**

Moradi, R., Nezami, A. and Eshgizadeh, H.R. 2013. Study of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Seed Size on Germination and Seedling Properties in Drought Stress Condition.Iranian Journal of Field Crops Research, 11(3): 377-389. (In Persian)**(Journal)**

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plantarum, 15: 473-497. **(Journal)**

Muscolo, A., Sidari, M., Anastasi, U., Santonoceto, C. and Maggio, A. 2014. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. Journal of Plant Interactions, 9(1): 354-363. **(Journal)**

Mut, Z. and Akay, H. 2010. Effect of seed size and drought stress on germination and seedling growth of naked oat (*Avena sativa* L.). Bulgarian Journal of Agricultural Science, 16(4): 459-467. **(Journal)**

Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X. and Qiu, L. 2019. Research Progress and Perspective on Drought Stress in Legumes: A Review. International Journal of Molecular Sciences, 20: 1-32. **(Journal)**

Ouji, A., El-Bok, S., Mouelhi, M., Younes, M.B. and Kharrat, M. 2015. Effect of salinity stress on germination of five Tunisian lentil (*Lens culinaris* L.) genotypes. European Scientific Journal, 11: 63– 75. **(Journal)**

Pereira, W.A., Pereira, S.M.A. and Santos, D.D.C.F. 2013. Influence of seed size and water restriction on germination of soybean seeds and on early development of seedlings. Journal of Seed Science, 35(3): 316-322. **(Journal)**

Sadeghi, H., Khazaei, F., Sheidaei, S. and Yari, L. 2011. Effect of seed size on seed germination behavior of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 6: 5-8. **(Journal)**

Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046. **(Journal)**

Satvir, K., Gupta, A.K. and Narinder, K. 2003. Priming of chickpea seeds with water and mannitol overcomes theeffect of salt stress on seedling growth. ICPM, 10: 18-20. **(Journal)**

Sehgal, A., Sita, K., Kumar, J., Kumar, S., Singh, S., Siddiqne, K.H.M. and Nayyer, H. 2017. Effects of Drought, Heat and Their Interaction on the Growth, Yield and Photosynthetic Function of Lentil (*Lens culinaris* Medikus) Genotypes Varying in Heat and Drought Sensitivity. Frontiers in Plant Science, 8: 1-22. **(Journal)**

Shahi, C.V., Vibhuti, H.V., Bargali, K. and Bargali, S.S. 2015. How seed size and water stress affect the seed germination and seedling growth in wheat varieties? Current Agriculture Research Journal, 3(1):60-68. **(Journal)**

Silva, M.A., Jifon, J.L., Silva, J.A.G. and Sharma, V. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology, 19(3): 193-201. **(Journal)**

Singh, B., Reddy, K.R., Redona, E.D. and Walker, T. 2017. Developing a screening tool for osmotic stress tolerance classification of rice cultivars based on in vitro seed germination. Crop Science, 57: 387-394. **(Journal)**

Siringam, K., Juntawong, N., Cha-um, S. and Kirdmanee, C. 2011. Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L. spp. indica) roots under isoosmotic conditions. African Journal of Biotechnology, 10(8): 1340-1346. **(Journal)**

Soares, M.M., Junior H.C.S., Simoes, M.G., Pazzin, D. and Silva, L.J. 2015. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. Pesquisa Agropecuária Tropical, 45(4): 370-378. **(Journal)**

Steiner, F., Zuffo, A.M., Busch, A., Sousa, T.O. and Zoz, T. 2019. Does seed size affect the germination rate and seedling growth of peanut under salinity and water stress? Pesquisa Agropecuária Tropical,49: 1-17. **(Journal)**

Thabet, S., Moursi, Y., Karam, M., Graner, A. and Alqudah, A. 2018. Genetic basis of drought tolerance during seed germination in barley. PLOSOne, 10: 85-92. **(Journal)**

Thirupathi, K., Moon, J.C., Kim, C., Manoharan, K. and Kim, W. 2011. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms.Australian Journal of Crop Science, 5(6): 709-725. **(Journal)**

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151: 59–66. **(Journal)**

Wang, L.F., Jin, S., Wu, L.M., Zhou, X.M., Liu, X.Y. and Bai, L.Y. 2015. Influence of environmental factors on seed germination and emergence of Asia Minor bluegrass (*Polypogon fugax*). Weed Technology, 30: 533–538. **(Journal)**

Willenborg, C.J., Wildeman, J.C., Miller, A.K., Rossnagel, B.G. andShirtliffe, S.G. 2005. Oat germinationcharacteristics differ among genotypes, seed sizes, and osmotic potentials. Crop Science, 45:2023–2029. **(Journal)**

Wimmer, M.A., Mühling, K.H., Läuchli, A., Brown, P.H. and Goldbach, H.E. 2003. The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. Plant, Cell and Environment, 26(8): 1267-1274. **(Journal)**

Yoshimura, K., Yabute,Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. Plant Physiology, 123: 223-233. **(Journal)**

Effect of drought stress and seed size on antioxidant system and seedling traits of lentil accessions from Varzeqan

Mohammad Ali Aazami*

Received: September 8, 2021 Accepted: December 15, 2021

Abstract

Drought stress is a major restrain in the growth and yield of lentil plants especially under rain feed areas. One of the problems of semi-arid regions in the world and Iran is poor seedling establishment due to lack of sufficient water. To study the effects of seed size of local genotypes (accessions) of lentil on the germination and seedlings growth characteristics and some related biochemical reactions under drought stress, a factorial based on completely randomized design experiment with 4 replications was conducted in vitro. The treatments were 4 drought (0, -0.4, -0.8, -1.2 MPa) levels and seed size (small- medium, and large).The results showed that the interactions of all measured traits except root length, root and shoot dry weight, seedling dry weight and superoxide dismutase activity were significant at the level of 1% probability. So that, the small seeds were superior in germination percentage, germination rate, and shoot length compared to the other seed sizes. With the drought intensity of -0.8MPa, the total antioxidant activity, total soluble protein, hydrogen peroxide content and guaiacol peroxide activity were increased. However, for ascorbate peroxide, the increasing pattern was up to -1.2 MPa. Seemingly, the small seeds are more tolerable to the drought stressful conditions the germination and the seeds would be more suitable to be employed under the water scarcity conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes; Drought stress; Germination; Seed

How to cite this article
Aazami, M.A. 2023. Effect of drought stress and seed size on antioxidant system and seedling traits of lentil accessions from Varzeqan. Iranian Journal of Seed Science and Research, 10(1): 53-66. (In Persian) **(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2023.6887

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. Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran.
*Corresponding author**:** Aazami58@gmail.com