

بررسی تأثیر پرایمینگ با آب مقطر و اسید سالیسیلیک بر ظرفیت آنتی اکسیدانی آنزیمی و القای جوانه زنی شاهدانه (*Cannabis sativa L.*)

شیرین کربلای قلیزاده^۱، تورج میرمحمودی^۲ و نبی خلیلی اقدم^۳

چکیده

سالیسیلیک اسید نقش مهمی در مراحل مختلف رشد و نمو (فنولوژی)، گیاه دارد. همچنین این پیام رسان مولکولی، اثر فعالی نیز در پاسخ‌های دفاعی گیاه ایفا می‌کند. در همین راستا بررسی اثرات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، پرایمینگ سالیسیلیک اسید (SA) در ۶ سطح (۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰، ۱۵۰۰، ۱۷۵۰ میکرومولار درلیتر) به همراه هیدروپرایمینگ و شاهد بر روی بذور شاهدانه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در ۴ تکرار در شرایط آزمایشگاه و گلخانه طراحی و اجرا گردید. نتایج بیانگر تأثیر معنی‌دار پرایمینگ بذور شاهدانه، با SA و آب مقطر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (POD, CAT)، شاخص‌های مهم جوانه زنی ($P < 0.01$)، و عملکرد بیولوژیک ($P < 0.05$)، بود. به طوری که با افزایش سطوح SA، عملکرد بیولوژیک روند صعودی داشت، و در بالاترین سطح SA، افزایش ۴۳ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. بنابراین استفاده از SA خارجی موجب افزایش جوانه زنی، استقرار بهتر گیاهچه و بهبود شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی گیاه بخصوص در مراحل اولیه رشد بوده که در نهایت عملکرد بیولوژیک را تحت تأثیر قرار داد.

کلمات کلیدی: پرایمینگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، سالیسیلیک اسید، تنظیم کننده رشد، عملکرد

✓ تاریخ دریافت: ۹۳/۰۵/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۵

^۱ - دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت کشاورزی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد - ایران.

^۲ - گروه زراعت کشاورزی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد - ایران. (نویسنده مسئول) Toraj73@yahoo.com

^۳ - گروه زراعت کشاورزی، مرکز سقر؛ دانشگاه پیام نور، سقر - ایران.

مقدمه

شاهدانه (*Cannabis sativa L.*) گیاهی علفی یکساله متعلق به خانواده *Canabinaceae* است (Arno Hazekamp, 2009). شاهدانه از گیاهان زراعی قدیمی است که در صنایع روغن کشی و نساجی مورد استفاده قرار می‌گیرد (King, 2008). شاهدانه دارای خواص دارویی متعددی است (Arno Hazekamp, 2009). که از کاربردهای پزشکی شاهدانه می‌توان به ایدز (Lutge, 2013)، سرطان (Bowles, 2012)، بیماری‌های مزمن مثل دیابت (Fisher, 2010) و آلزایمر (Bilkei and Gorzo, 2012)، اشاره کرد. پرایمینگ بذر روشی بسیار ساده بوده و پیچیدگی فنی ویژه‌ای ندارد و در عین حال کارایی بسیاری بالا و قابل قبول آن بویژه در مناطقی با حاصلخیزی پایین و شرایط نامطلوب رشد و نمو، باعث شده است، که برخی از محققان کاربرد روش پیش تیمار بذر قبل از کاشت را به عنوان راهی برای بهبود محصول و عملکرد بالا پیشنهاد کنند (Demir and Oztokat, 2003). پرایمینگ باعث کوتاه کردن زمان کاشت تا سبز شدن و حفاظت بذرها از تنش‌های زنده و غیر زنده در مراحل بحرانی استقرار گیاهچه می‌شود همچنین این تکنیک منجر به یکنواختی سبز شدن، استقرار و بهبود عملکرد در گیاهان زراعی خواهد شد (Basra et al., 2004). در روش هیدروپرایمینگ بذور با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده شیمیایی تیمار می‌شوند، در این روش مقدار جذب آب توسط بذر از طریق مدت زمانی که بذور در تماس با آب خالص هستند کنترل می‌شود (Harris et al., 2001). علت

تسریع جوانه‌زنی در بذور پرایم شده می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده مثل آلفا-آمیلاز، افزایش سطح شارژ انرژی زیستی در قالب افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز RNA و DNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقاء عملکرد میتوکندری‌ها باشد (Afzal et al., 2002). سالیسیلیک اسید^۱ از ترکیبات فنلی در گیاهان است که به عنوان ماده شبه هورمونی که نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاه دارد (Kang and Wang, 2003). سالیسیلیک اسید نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل جوانه‌زنی بذر، بسته شدن روزنه، افزایش میزان فتوسنتز و محتوای کلروفیل و افزایش عملکرد ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005; Popova et al., 2003).

کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک باعث تحریک جوانه‌زنی بذر می‌شود (Rajasekaran, 2002). سالیسیلیک اسید باعث تحریک جوانه‌زنی گیاه جو شد (El-Tayeb, 2005). در گزارش دیگری از اثر سالیسیلیک اسید بر گیاه خردل نشان داده شده که، آنزیم کربونیک انهیدراز^۲ در برگهای این گیاه فعال شده است (Chakraborty and Tongden, 2005). همچنین در مطالعه بر روی گیاه جو ثابت شده با کاربرد سالیسیلیک اسید فعالیت ریبولوز ۱ و ۵ بی فسفات کربوکسیلاز اکسیژناز (روبیسکو)^۳ تا ۵۰٪ افزایش پیدا کرده است (Popova et al., 1997). در مجموع سالیسیلیک اسید نرخ فتوسنتز

^۱. Ortho Hydroxy benzoic acid

^۲. Carbinic Anhydrase

^۳. Rubisco

۱۸ ساعت، و پرایم بذور در ۶ غلظت (۱۷۵۰، ۱۵۰۰، ۱۲۵۰، ۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰) میکرومولار در لیتر با سالیسیلیک اسید به مدت ۱۸ ساعت، در مقایسه با هیدروپرایمینگ و شاهد (بذور پرایم نشده)، انجام گرفت، بذور پرایم شده به همراه شاهد در گلدان‌های پلاستیکی (حجمی ۳ لیتری)، حاوی خاک لومی رسی (جدول ۱)، در عمق ۱ سانتی‌متر کشت گردید. در انتهای آزمایش وزن تر بوته‌ها اندازه‌گیری و پس از آن، با خشک کردن بوته‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آن، وزن خشک بوته، با دقت ۰/۰۰۱) بر حسب گرم در گلدان اندازه‌گیری و محاسبه گردید.

تست آزمایشگاهی

برای بررسی تست آزمایشگاهی، ابتدا بذرها استاندارد و استریل (۳۰ ثانیه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد) با آب مقطر شسته شده و بر اساس پرایمینگ غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و هیدروپرایمینگ و بدون پرایم، آماده کشت گردید. و در ادامه از هر واحد آزمایشی، ۱۵ بذر بر روی کاغذ صافی واتمن که توسط ۷ میلی لیتر آب مقطر مرطوب شده بود، به درون پتری دیش‌های استریل، در اتاق کشت (ژرمیناتور)، با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ درصد، تنظیم و کشت گردید و صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و سرعت جوانه زنی (دو پیک زمانی ۱۲ ساعته)، اندازه‌گیری و مورد سنجش قرار گرفت (ایستا، ۲۰۰۳). محاسبه سرعت جوانه زنی بر طبق معادله ایستا (۲۰۰۳)، از رابطه (۱) بدست آمد.

را در سویا، جو و ذرت افزایش داده است که می‌تواند بر اثر افزایش فعالیت روبیسکو PEP_{case} باشد (Khan et al., 2003; Hayat and Ahmad, 2007). و در مقایسه‌ای که بر روی تیپ وحشی و جهش یافته آرابیدوپسیس انجام گرفت، سالیسیلیک اسید را به عنوان بر طرف کننده آسیب‌های اکسیداتیو در طی جوانه‌زنی بذر معرفی کردند (Metwally, 2003). بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی استفاده از سالیسیلیک اسید، بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شاهدانه تحت پرایمینگ و هیدروپرایمینگ در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات اسید سالیسیلیک بر صفات آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار در سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه و گلخانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد اجرا گردید. محل انجام آزمایش از نظر موقعیت جغرافیایی بین ۳۵ درجه و ۵۸ دقیقه تا ۳۹ درجه و ۴۷ دقیقه عرض شمالی (از خط استوا) و ۴۴ درجه و ۳ دقیقه تا ۴۷ درجه و ۲۳ دقیقه طول از نصف النهار گرینویچ و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۵۸ متر می باشد دمای روزانه گلخانه 33 ± 3 ، دمای شب 14 ± 3 درجه و رطوبت آن ۲۵-۸۰ درصد، $EC=0.73$ و خلل و فرج ۳۷ درصد با پوشش پلی اتیلن تنظیم گردید. تیمارهای مورد آزمایش شامل هیدروپرایمینگ با آب مقطر طی

$$GR = n / \sum Dn \quad (۱) \text{ رابطه}$$

GR: سرعت جوانه زنی، n: تعداد روزهای جوانه

زنی، Dn: تعداد بذره‌های جوانه زده در تعداد n ام

روزهای جوانه زنی

جدول ۱- نتایج آنالیز خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. The results of the soil analysis used in the test

| pH | P(ppm) | K(ppm) | Soil texture (%) | Saturation percent (%) | Clay (%) | Sand (%) | Silt (%) | Organic carbon (%) |
|------|--------|--------|------------------|------------------------|----------|----------|----------|--------------------|
| 7.94 | 13.42 | 6.7 | Loam | 37 | 22 | 38 | 40 | 1.53 |

سنجش آنزیم پراکسیداز (POD)

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷ متر در مدت ۶۰ ثانیه استفاده گردید. در آن از بافر فسفات سدیم ۲۰ میلی مولار با PH معادل با ۶ و گایاکول ۲۰۰ میلی مولار به عنوان الکترون دهنده و ۱۰ میکرولیتر هیدروژن پراکساید (H₂O₂) ۳۰ درصد (W/V) به عنوان پذیرنده الکترون مورد استفاده قرار گرفت و بر حسب واحد در میلی گرم پروتئین بیان شد (Mac-Adam, 1992).

سنجش آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش فعالیت آنزیم CAT با استفاده از مخلوط واکنشی شامل ۲/۵ml بافر فسفات (۵۰ میلی مول، pH=۷) ۰/۲ میلی لیتر H₂O₂ ۱درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی بود انجام شد. فعالیت آنزیم CAT به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/VIS) (PerkinElmer, Lambda25) و با استفاده از

محتوایی نسبی آب (RWC^۱)

برای اندازه گیری RWC قطعاتی از برگهای کاملا توسعه یافته جوان با ابعاد ۱cm² برش و توزین شدند (FW)؛ سپس نمونه ها به پتری دیش حاوی آب مقطر منتقل و پس از ۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۴ درجه سانتی گراد توزین (تورژسانس) گردیدند (TW). در پایان نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد قرار داده و مجدداً توزین گردیده (DW) و با استفاده از فرمول ذیل محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید (Ritchie et al., 1990).

$$LRWC = \frac{(FW - DW)}{(SW - DW)} \times 100$$

شاخص کلروفیل

در هر گلدان ۳ الی ۴ نمونه از قسمت میانی برگ‌های بالغ بطور تصادفی توسط دستگاه کلروفیل متر (مدل: CCM200) مورد سنجش قرار گرفت و میانگین برای بوته در گلدان محاسبه شد.

¹. Relative water content

معنی داری تحت تأثیر سالیسیلیک اسید (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پرایمینگ با سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف روند افزایشی بر میزان سرعت جوانه‌زنی بذور شاهدانه داشت بطوریکه تا سطح ۱۵۰۰ میکرومول بیشترین سرعت جوانه‌زنی در ۱۲ ساعت دوم مشاهده گردید که نسبت به شاهد با افزایش ۶۲ درصدی همراه بود (شکل ۱). بنابراین می‌توان گفت که بذور شاهدانه نسبت به افزایش میزان پرایمینگ سالیسیلیک اسید واکنش مثبتی در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور داشت و این روند را می‌توان در شاخص‌های دیگر همچون طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نیز مشاهده نمود.

سالیسیلیک اسید موجب افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه شد بر همین اساس بیشترین طول ریشه‌چه مربوط به سطوح ۱۵۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید و همچنین بیشترین طول ساقه‌چه هم مربوط به تیمار ۱۲۵۰ میکرومول سالیسیلیک اسید بود (شکل ۲).

ضریب خاموشی ($0.0436 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) و فرمول زیر محاسبه گردید (Aebi, 1984).

$$\text{Units (Mm/min)} = \frac{\frac{dOD}{\text{Min(slop)}} \times \text{Vol. of assay (0.0003)}}{\text{Extinction coefficient (0.0436)}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌های کمی توسط آزمون تجزیه واریانس در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ صورت گرفت.

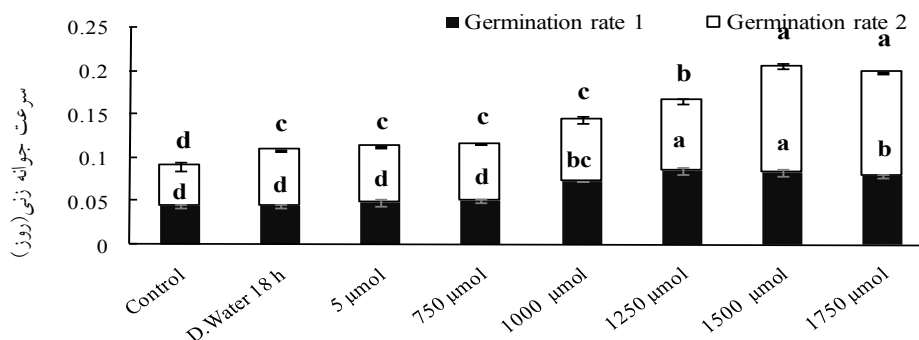
نتایج و بحث

سرعت جوانه‌زنی

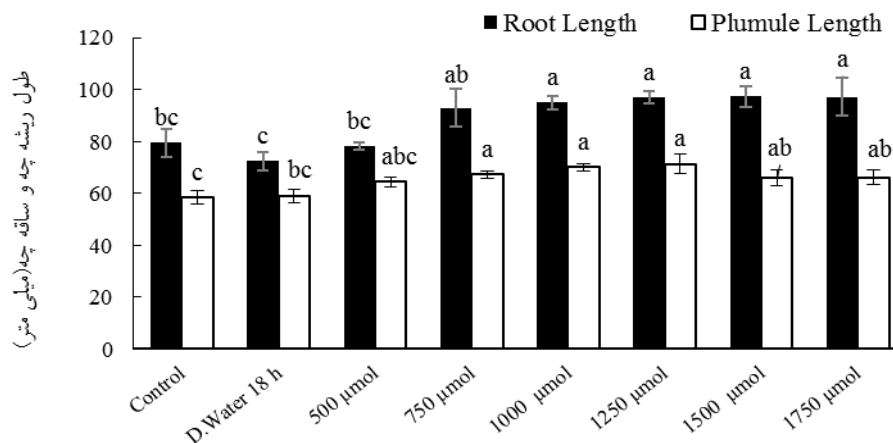
جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد سرعت جوانه‌زنی بذور شاهدانه به طور

طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، بیانگر تأثیر معنی‌دار پرایمینگ سالیسیلیک اسید ($P < 0.01$) بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بود (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح پرایمینگ بذور شاهدانه با



شکل ۱- اثر پرایمینگ سالیسیلیک اسید و آب مقطر بر روی سرعت جوانه‌زنی بذور شاهدانه ... Fig1. Effect of salicylic acid and distilled water on germination rate



شکل ۲- اثر پرایمینگ سالیسیلیک اسید و آب مقطر بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

Fig2. Effect priming of salicylic acid and distilled water on plumule length and root length on cannabis

افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز RNA و DNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقاء عملکرد میتوکندری‌ها باشد (Afzal et al., 2002). و افزایش طول ریشه‌چه برنج در شرایط پیش تیمار با سالیسیلیک اسید گزارش شده است (Frooq et al., 2006). همچنین گزارش شده که پیش تیمار بذر گندم و جو با سالیسیلیک اسید به دلیل بهبود خصوصیات جوانه‌زنی منجر به افزایش طول ریشه‌چه گردد (Hanan, 2007).

گزارشات بسیار زیادی حاکی از بهبود رفتار جوانه‌زنی و شاخص‌های مربوط به آن اعم از متوسط زمان جوانه‌زنی، بینه‌بذر، طول ریشه، طول ساقچه، نرخ جوانه‌زنی و استقرار اولیه در بذور پرایم شده می‌باشد (Murugu et al., 2004). علت تسریع جوانه‌زنی در بذور پرایم شده با اسید سالیسیلیک می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده مثل آلفا-آمیلاز، افزایش سطح شارژ انرژی زیستی در قالب

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف پرایمینگ با اسید سالیسیلیک بر صفات آزمایشگاهی

Table 2. Analysis of variance effects of priming with salicylic acid in laboratory traits

| | DF | Mean Square | | | |
|----------------|----|------------------------|------------------------|---------------------|--------------------|
| | | Germination rate 1 | Germination rate 2 | Plumule length | Root length |
| repetition | 3 | 0.000053 ^{ns} | 0.000021 ^{ns} | 22.85 ^{ns} | 14.6 ^{ns} |
| Salicylic acid | 7 | **0.0013 | **0.00302 | *85.5 | **419.3 |
| Error | 21 | 0.00003 | 0.00003 | 26.4 | 99.6 |
| CV | - | 8.7 | 7.1 | 7.8 | 11.2 |

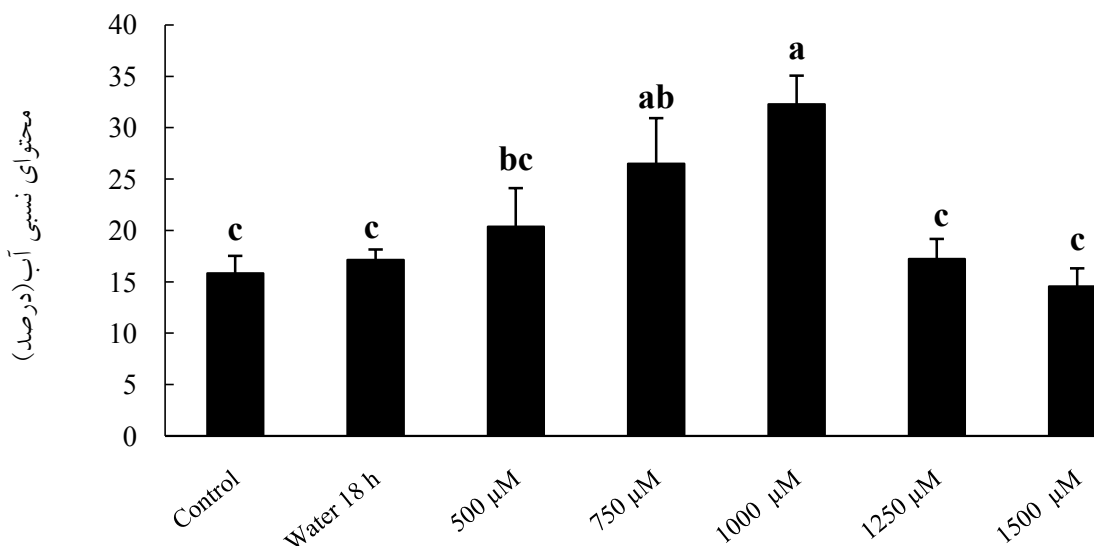
ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد ns

ns, *, ** respectively significant, significant at 5% and 1

محتوای نسبی آب

محتوای نسبی آب به عنوان شاخصی از وضعیت آبی گیاه، بطور معنی داری تحت تأثیر پرایمینگ اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۳). بر اساس یافته‌های آزمایش سالیسیلیک اسید با تأثیر بر میزان شاخص کلروفیل، وزن تر بوته، وزن خشک بوته و در نهایت بهبود وضعیت آبی گیاه، باعث افزایش بیشترین محتوای نسبی در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید گردید که نسبت به شاهد حدود ۵۱ درصد افزایش نشان داد. این در

حالی است که با سطوح بالاتر سالیسیلیک اسید یعنی ۱۲۵۰، ۱۵۰۰ و ۱۷۵۰ میکرومولار محتوای نسبی کاهش یافت (شکل ۳). محتوای نسبی آب یکی از پارامترهای فیزیولوژیکی مهم است (Colom, 2003). گزارش شده است پرایمینگ با سالیسیلیک اسید موجب افزایش محتوای نسبی برنج می‌شود (Frooq et al., 2006). همچنین تیمار کردن گندم با سالیسیلیک اسید محتوای نسبی آب را در گیاهان تیمار شده افزایش داد (Agarwal, 2005).



جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف پرایمینگ با سالیسیلیک اسید بر صفات مورفوفیزیولوژیک گلخانه

Table 3. Analysis of variance different of levels priming with salicylic acid on morpho-physiological in greenhouse traits

| | DF | Mean Square | | | | | |
|----------------|----|-----------------------|-------|---------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | | RWC | Plant | frash weight | Plant dry weight | Plant Height | Root Height |
| repetition | 3 | 31.33 ^{ns} | | 34.4 ^{ns} | 8.29 ^{ns} | 169.15 ^{**} | 46.53 [*] |
| Salicylic acid | 7 | 156.019 ^{**} | | 98.68 ^{**} | 29.5 ^{**} | 67.62 ^{**} | 46.69 [*] |
| Error | 21 | 3.58 | | 16.18 | 5.16 | 14.94 | 13.35 |
| CV | | 27.7 | | 12.6 | 12.8 | 6.6 | 10 |

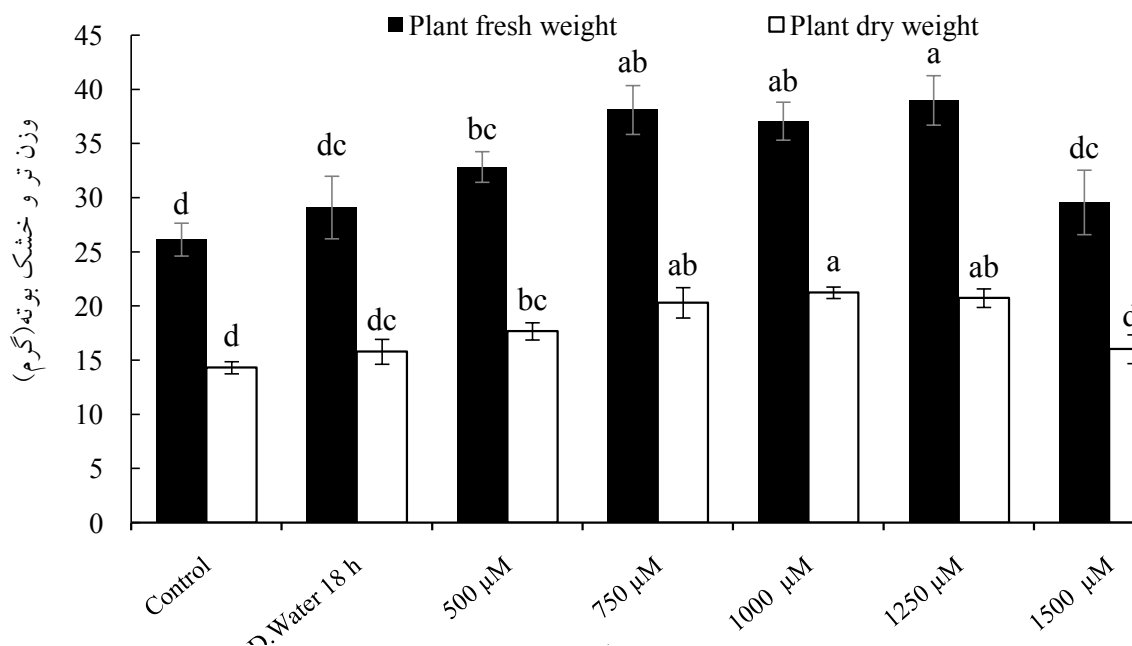
ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

Ns,*,** respectively significant, significant at 5% and 1

وزن تر و خشک بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر تأثیر معنی‌دار اثر سطوح مختلف پرایم بذور با سالیسیلیک اسید بر وزن تر و خشک بوته در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۳). بطوریکه

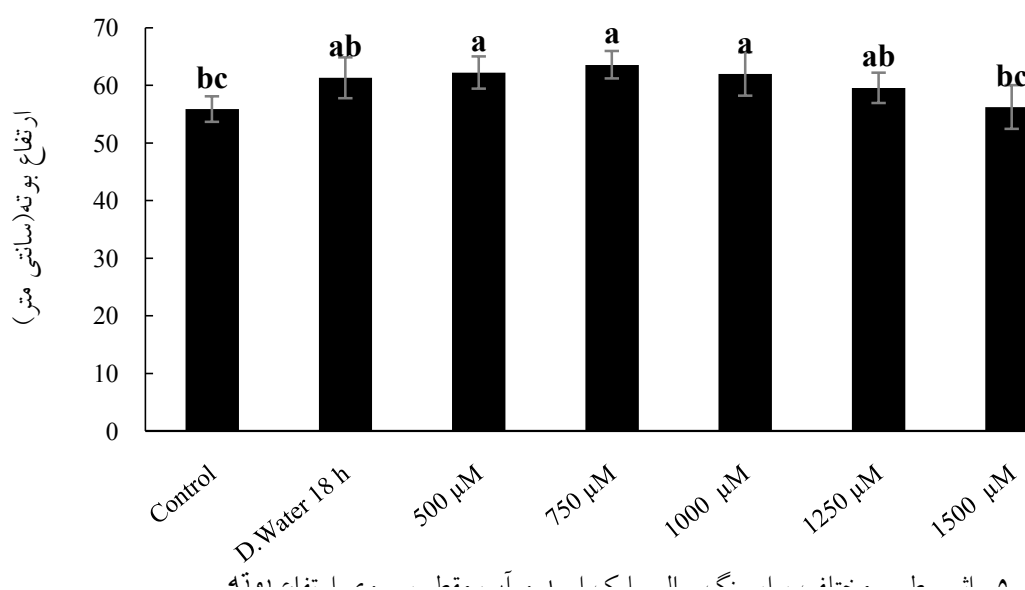
بیشترین میزان وزن خشک گیاه مربوط به تیمار ۱۲۵۰ میکرو مولار سالیسیلیک اسید بوده که نسبت به شاهد و پرایم با آب مقطر به مدت ۱۸ ساعت به ترتیب حدود ۳۲ و ۲۵ درصد با افزایش وزن تر همراه بود (شکل ۴).



ارتفاع بوته و ریشه

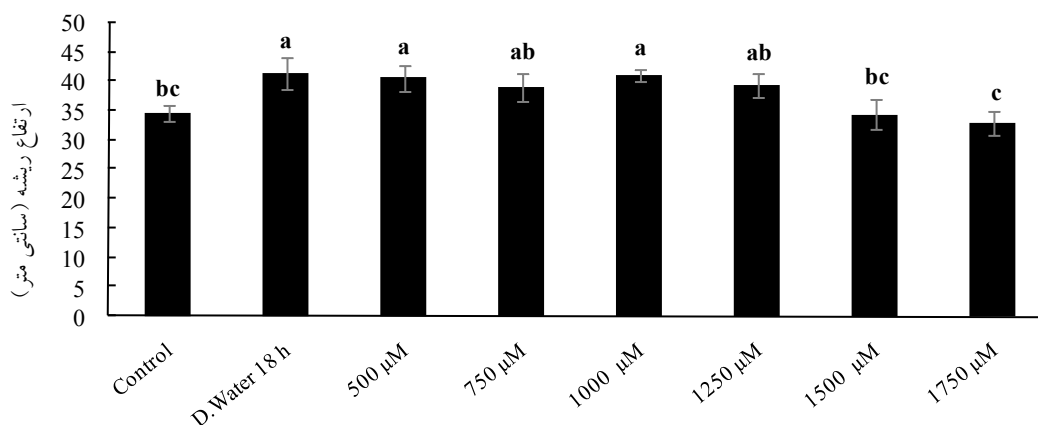
جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳)، نشان داد که ارتفاع بوته شاهدانه به طور معنی‌داری تحت تأثیر پرایمینگ با سالیسیلیک اسید ($P < 0.01$) قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که سالیسیلیک اسید در افزایش ارتفاع بوته شاهدانه مؤثر واقع گردید، بطوریکه بیشترین

میانگین ارتفاع بوته شاهدانه تحت تیمار سالیسیلیک اسید، حدود ۶۳/۶ سانتی‌متر، مربوط به غلظت ۷۵۰ میکرومول سالیسیلیک اسید بود. این روند افزایش ارتفاع نسبت به شاهد تا سطوح بالاتر ۱۵۰۰ میکرومول مثبت بوده اما در سطوح بالاتر پرایمینگ سالیسیلیک اسید (۱۷۵۰ میکرومول) با کاهش ارتفاع بوته همراه بود (شکل ۵).



بیشترین طول ریشه مربوط به سطوح ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید و همچنین پرایم بذور با آب مقطر طی ۱۸ ساعت بود، همانطور که مشاهده می‌شود پرایم بذور در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار دارای بیشترین ارتفاع با میانگین ۴۱/۲۵ سانتی متر بوده که نسبت به شاهد حدود ۱۶ درصد افزایش نشان داد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، بیانگر تأثیر معنی‌دار پرایمینگ سالیسیلیک اسید بر ارتفاع ریشه بود ($P < 0.05$) (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح پرایمینگ بذور شاهدانه با سالیسیلیک اسید موجب افزایش ارتفاع ریشه شد بر همین اساس

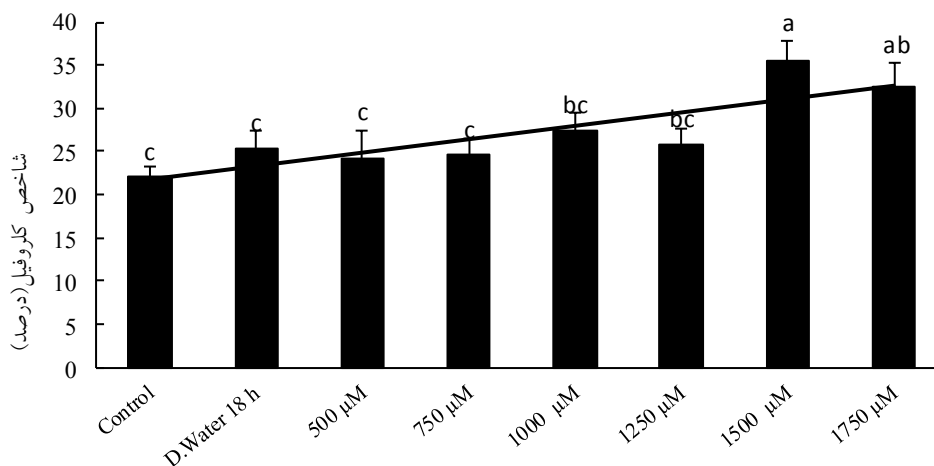


شکل ۶- اثر سطوح مختلف پرایمینگ سالیسیلیک اسید و آب مقطر بر روی طول ریشه
Fig6. Effect different level of priming with salicylic acid and distilled water on root length

شاخص کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که شاخص کلروفیل بطور معنی داری تحت تأثیر پرایمینگ بذور با سالیسیلیک اسید در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت (جدول ۴).

مقایسه میانگین تغییرات شاخص کلروفیل که برگرفته از میانگین پنج دوره در طول آزمایش بوده نشان از یک الگوی افزایشی در مورد تیماردهی با سالیسیلیک اسید تا سقف ۱۵۰۰ میکرومولار داشته است (شکل ۷).



شکل ۷- اثر سطوح مختلف پرایمینگ سالیسیلیک اسید و آب مقطر بر روی شاخص کلروفیل

Fig7. Effect different level of priming with salicylic acid and distilled water on chlorophyll index

کردن بذرها با محلول ۱۰۲ مولار سالیسیلیک اسید محتوای کلروفیل را افزایش می دهد (El-Tayeb, 2005).

به اعتقاد (Lee et al., 1997)، سالیسیلیک اسید مانع فعالیت آنزیم ACC سنتتاز شده و از تشکیل اتیلن و به دنبال آن از کاهش کلروفیل جلوگیری می کند. نیز نشان داده شده که پرایم

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف پرایمینگ با سالیسیلیک اسید بر صفات فیزیولوژیک گلخانه

Table4. Analysis of variance effects of priming with salicylic acid on physiological traits greenhouse

| | DF | Mean Square | | |
|----------------|----|---------------------|----------------------|---------------------|
| | | Chlorophyll index | CAT | POD |
| repetition | 3 | 9.013 ^{ns} | 0.0211 ^{ns} | 0.205 ^{ns} |
| Salicylic acid | 7 | *82.91 | **0.8122 | **1.586 |
| Error | 21 | 22.85 | 0.0879 | 0.204 |
| CV | - | 15.6 | 16.94 | 9.21 |

ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns, *, ** respectively significant, significant at 5% and 1

آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بطور معنی‌داری تحت تأثیر پرایمینگ بذور با سالیسیلیک اسید در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد پرایمینگ بذور شاهدانه با سالیسیلیک اسید موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود بطوریکه بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز به ترتیب ۲/۵۱ و ۴/۲

میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر مربوط به تیمار سطوح ۱۰۰۰ میکرو مولار سالیسیلیک اسید بود که افزایش محسوسی نسبت به شاهد و پرایم با آب مقطر طی ۱۸ ساعت داشت (شکل ۹). بنابراین می‌توان گفت پرایم بذور شاهدانه با سالیسیلیک اسید نقش بهتری در افزایش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی (فنل کل) که دارای همبستگی مثبتی هستند (جدول ۴) را داشته است.

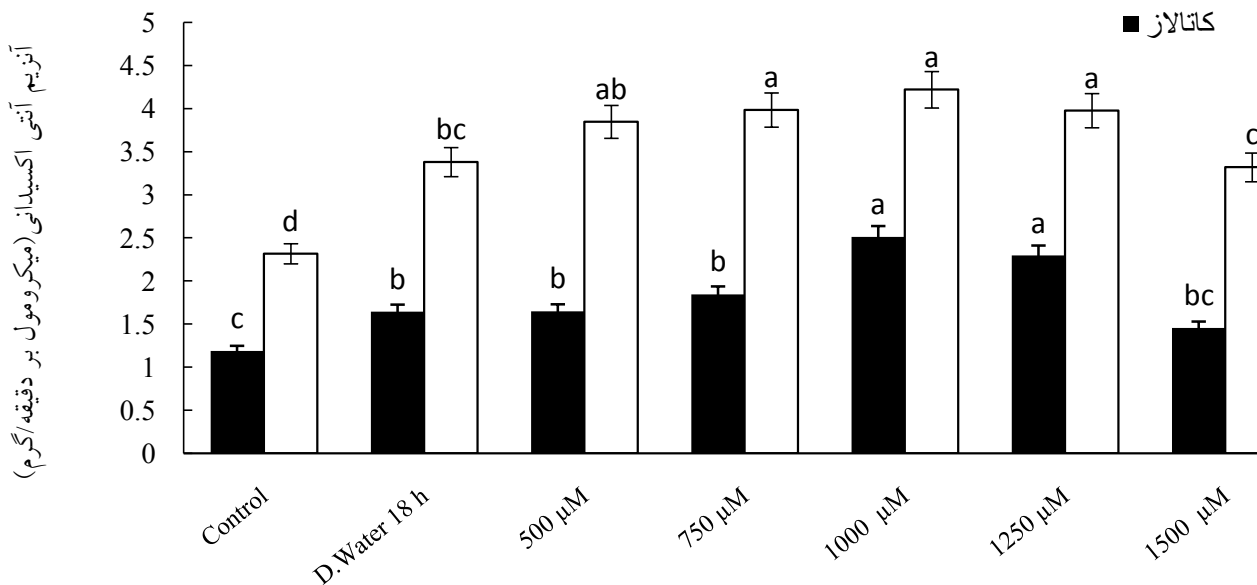


Fig9. طوح مختلف پرایمینگ سالیسیلیک اسید و آب مقطر بر روی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز.

های کاتالاز و پراکسیداز شده که این افزایش در ریشه مشهودتر از برگ بود (Kang, 2003; Zawoznik et al., 2007).

آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانت می‌باشد که با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان این آنزیم‌ها را در گیاهان بیشتر افزایش داد (Moosavi et al., 2009). کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم

نتیجه گیری

کارایی پرایم بذور و مهم بودن منابع مختلف پرایم و سطوح پرایمینگ در بهره‌وری از این تکنیک نقش مهمی دارد. در نتیجه با توجه به افزایش هر یک از صفات سرعت جوانه زنی، محتوای نسبی آب، شاخص کلروفیل، وزن تر و خشک بوته و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز خصوصیات رشد و نموی شاهدانه را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش

وزن بوته شد. بر همین اساس با توجه به حساس بودن گیاه داوری شاهدانه، در محیط‌های پر تنش و زمین‌های زراعی نیمه خشک اغلب عملکرد زراعی کاهش پیدا می‌کند. بنابراین هیدروپرایمینگ و پرایمینگ اسید سالیسیلیک به عنوان راهکاری علمی و کاربردی پیشنهاد می‌گردد.

References

منابع مورد استفاده

- ✓ Arno Hazekamp, 2008-2009. Cannabis Review. Department of Plant Metabolomics Leiden, the Netherlands.
- ✓ Afzal, A.S., M.A. Basra., Ahmad N. And E. A. Warraich. 2002. Effect of priming and grow regulator treatment on emergence and seedling growth of hybrid Mayze (*Zea mays* L.). International Journal of Agriculture Biology, 4:303-306.
- ✓ Agarwal, S. Sairam, R.K., Srivastava., G.C. and Meena, R.C. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biologia Plant. 49:541-550.
- ✓ Aebi, H. 1984. Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*. 105: 121–126.
- ✓ Basra, S.A. M., Ashraf, M. Iqbal, N. Khaliq, A. and Ahmad, R. 2004. Physiological and biochemical aspects of pre-sowing heat stress on cotton seed. Seed Sci and Technol. 32:765- 774.
- ✓ Bilkei-Gorzo, A. Erk, S., Schürmann, B. Mauer, D. Michel, K. Boecker, H. Scheef, L. Walter, H. and Zimmer A. 2012. Dynorphins regulate fear memory: from mice to men. J. Neurosci. 32: 9335–9343.
- ✓ Bowles, D.W. O., Bryant, C.L., Camidge, D.R., Jimeno, A. 2012. The intersection between cannabis and cancer in the United States. Crit. Rev. Oncol. Hematol. Review. 83- 1: 1–10.
- ✓ Chakraborty and U.C, Tongden. 2005. Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatments as potent inducers of thermotolerance in (*Cicer arietinum* L.) Curr Sci. 89: 384-389.
- ✓ Colom, M.R. and C. Vazzana, 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought resistant and drought sensitive weeping lovegrass plants. Environmental and Experimental Botany, 49:135-144.

- ✓ Demir, I. and C. Oztokat. 2003. Effect of salt priming on germination and seedling grow at low temperatures in watermelon seeds during development. *Seed Science and technology*. 31:765-770.
- ✓ Dong, J. Wan, and G. Liang, Z. 2010. Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzyme in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. *J. Biotechnol.* 148(2-3): 99-104.
- ✓ El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*. 45:215-225.
- ✓ Fisher, M. White and S. Varbiro, G. 2010. The role of cannabis and cannabinoids in diabetes. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*. 10 -6: 267.
- ✓ Frooq, M.S. M., A. Basra and U. R., Hafeez. 2006. Seed priming enhances emergence, yield and quality of direct-seeded rice. *Crop Management of Physiology*, 3: 42-44.
- ✓ Hayat, S. and Ahmad, A. 2007. Salicylic acid a plant hormone. *Springer XV*. P.401.
- ✓ Hanan, E.D. 2007. Influence of salicylic acid on stress tolerance during seed germination of *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. *Biological Research*. 1:40-48.
- ✓ Harris, D. B.S., Raghuwanshi, J. S., Gangwar, S.C., Singh, K. D., Joshi, A. Rashid, P. A. Hollington, 2001. Participatory evaluation by farmers of 'on-farm' seed priming in wheat in India, Nepal and Pakistan. *Exp. Agric.* 37: 403-415.
- ✓ ISTA. 2003. Handbook on seedling evaluation 3 redder. International seed Testing Association.
- ✓ Kang, C. Wang, Ch. 2003. Salicylic acid changes activities of H₂O₂ metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environment and Experimental Botany*. 9-15.
- ✓ Khan, W. Prithviraj, B. Smith, D. L., 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *J Plant physiol.* 160:485-492.
- ✓ Lee, S. S., and J. H., Kim. 1997. Morphological change, sugar content, α -amylase activity of rice seed various priming conditions. *Korean J. OF Crops Sci.* 44:138-142.
- ✓ Lutge, E. E., Gray, A. Siegfried, N. 2013. The medical use of cannabis for reducing morbidity and mortality in patients with HIV/AIDS. *Cochrane Database Syst Rev*, Review. 4: CD005175.
- ✓ Mac-Adam, J.W. Nelson, C.J. and Sharp, R. E. 1992. Peroxidase activity in the Leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiol.* 99: 872-878.
- ✓ Metwally, A. Finkemeier, I. Georgi, M. and Dietz, K. J. 2003. Salicylic acid alleviates the Cadmium Toxicity in (In Persian with English Summary). [Nida: Marijuana, An update from the National Institute on Drug Abuse](#)". Nida.nih.gov. February 2011. Retrieved 2011-08-23 Barley seedlings. *Physiology and biochemistry of plant*. 132: 272-281.
- ✓ Murugu, F. S. C., Chiduza, P. Nyamugafata, L. J., Clark, W. R., Whalley and W. Finch-Savage. 2004. Effects of on-farm seed priming on consecutive daily sowing occasions on the emergence and growth of maize in semi-arid Zembabwe. *Field Crops Research*, Available online, 7 April 2004.
- ✓ Moosavi, A. Tavakkol-Afshari, R. Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. *J. Food Agr. Environ.* 7: 353-358.
- ✓ Soland, S. F., Laima S. K., 1999. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1: 1-5.

-
- ✓ Popova, L. Ananieva, V. Hristova, V. Christov, K. Georgieva, K. Alexieva, V. and stoinova, Z. h. 2003. Salicylic acid- and Methyl jasmonate- induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress Bulg. J. plant physiol special issue. 133-152.
 - ✓ Popova, L. Pancheva, T, Uzunova, A. 1997. Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. Rev. Plant Physiol. 85-93.
 - ✓ Rajasekaran, L. R., Stiles, A. Surette, M. A., Sturz, A. V., Blake, T. J., Caldwell, C. and J. Nowak. 2002. Stand Establishment Technologies for Processing Carrots. Effects of various temperature regimes on germination and the role of salicylates in promoting germination at low temperatures. Canadian Journal of Plant science 82: 443-450.
 - ✓ Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., and Holaday, A. S. 1990. Leaf water content and gas exchanges parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Sci. 30: 105-111.
 - ✓ Upadhyaya, A. D., Sankhla, T. D., Davis, N. Sankhla, and B. N., Smith. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. J. Plant Physiol. 121:453-461.
 - ✓ 33. Zawoznik, M. S., Gropp, M. D., Tomaro, M. L., and Benavides, M. P. 2007. Endogenous salicylic acid potentiates cadmium- induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. Plant Science, 173: 190-19