اثر پیش تیمار بذر با آب و اشعه فرابنفش بر برخی از خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.)

بهنوش رسایی[۱]، سعید جلالی هنرمند[۲]، علی رسایی[۳]، مجید عبدلی*[۴]

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

[۲] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

[۳] دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

[۴] دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۱

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار بذر به‌صورت هیدروپرایمینگ و اشعه فرابنفش (UV) بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نخود فرنگی رقم دورین (*cv.* Dorian)، آزمایشی طی سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه هیدروپونیک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای اعمال شده بر روی بذر شامل: (۱) بذر خشک (شاهد)، (۲) هیدروپرایمینگ به‌مدت ۱۴ ساعت، (۳) هیدروپرایمینگ + UV-A، (۴) هیدروپرایمینگ + UV-AB و (۵) هیدروپرایمینگ + UV-C بودند. نحوه اجرای تیمارهای ۳، ۴ و ۵ بدین صورت بود که بذرها پس از قرارگیری در آب به‌مدت ۱۲ ساعت (هیدروپرایم)، به‌ترتیب تحت تابش پرتوهای فرابنفش UV-A، UV-AB و UV-C به‌مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای پرایمینگ بر وزن تر، طول گیاه و میزان پراکسید هیدروژن در سطح یک درصد و بر شاخص سبزینگی و محتوای آب نسبی برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار و بر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II غیرمعنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشانگر این مطلب بود که تیمارهای هیدروپرایمینگ و هیدروپرایمینگ + UV-A سبب بیشترین افزایش وزن تر، طول گیاه و شاخص سبزینگی برگ نخود فرنگی نسبت به شاهد (عدم پرایمینگ) شد. تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB سبب کاهش صفات فوق شد. به طور کلی می‌توان بیان کرد که پیش تیمار بذور با آب (هیدروپرایم) و هیدروپرایمینگ + اشعه UV-A تأثیر مثبتی بر خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی نخود فرنگی داشت ولی کاربرد توأم آن‌ها به‌خصوص اشعه UV-AB کارایی چندانی ندارد و برای این گیاه مفید نبود.

واژه‌های کلیدی: اشعه ماورای بنفش، پرایمینگ بذر، شاخص سبزینگی، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، نخود فرنگی.

*نویسنده مسئول: majid.abdoli64@yahoo.com

مقدمه

حبوبات به‌دلیل میزان پروتئین بالا و توانایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن در کشاورزی و تغذیه جامعه بشری از اهمیت قابل توجهی برخوردار هستند. در بین حبوبات، نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) از جایگاه خاصی برخوردار می‌باشد که از نظر میزان تولید دانه پس از لوبیا در جایگاه دوم قرار گرفته است (Millan et al., 2006). با این حال، در کشور ما میزان سطح زیر کشت و تولید آن بسیار پایین است که می‌تواند به خاطر به کارگیری نامناسب از نهاده‌های کشاورزی، عدم اتخاذ روش‌های مناسب تولید و عدم استفاده از روش‌های نوین تولید دانست (Khodabakhsh et al., 2010).

برای بهبود عملکرد و همچنین تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی در مراحل مختلف رشد باید از روش‌هایی استفاده کرد که ضمن راحتی و سادگی، سازگار با محیط زیست باشند. یکی از روش‌های نوین، استفاده از تکنیک پرایمینگ بذر است (Kaur et al., 2006; Yousefi and Fallah, 2014; Dadrasi and Aboutalebian, 2015). در حقیقت، پرایمینگ بذر یک پیش تیمار بذر قبل از کاشت است که اجازه می‌دهد بذر مقداری آب جذب کند و فرآیندهای متابولیکی پیش از جوانه‌زنی اتفاق بیفتد اما آب جذب شده برای خروج ریشه‌چه از پوسته بذر به اندازه کافی نمی‌باشد (Bradford, 1986). پیش تیمار بذر در بین برخی از کشاورزان رایج شده که می‌تواند سرعت، درصد و یکنواختی جوانه‌زنی بذر یا ظهور گیاهچه را به‌خصوص تحت شرایط نامطلوب محیطی افزایش دهد (Rozbeh, 2014). این عمل از نظر اقتصادی برای بهبود رشد بسیاری از محصولات زراعی به کار می‌رود. در آزمایشات انجام شده بر روی بذرهای مختلف حبوبات منجمله بذرهای نخود فرنگی، لوبیا چشم بلبلی (*Vigna radiate* L.)، نخود (*Cicer arietinum*) و عدس (*Lens culinaris*) افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی و بهبود فرآیندهای مرتبط با مقاومت به تنش‌های محیطی در بذرهای پرایم شده گزارش شده است (Sivritepe and Dourado, 1995; Kaur et al., 2006; Posmyk and Janas, 2007; Ghassemi-Golezani et al., 2008).

به‌طور کلی اثرات ناشی از مواجه با پرتوهای فرابنفش[1] (UV)، بیشتر در میان دو لپه‌ای‌ها مثل حبوبات در مقایسه با گونه‌های تک لپه‌ای وجود دارد. واکنش‌های متفاوت بین این دو گروه می‌تواند به‌دلیل تغییرات فیزیولوژیکی و یا خصوصیات مورفولوژیکی مثل جهت‌گیری برگ‌ها باشد. به طوری که در گیاهان تک لپه، برگ‌های باریک با جهت‌گیری عمودی سبب کاهش UV-B رسیده به سطح برگ می‌شوند (Kakani et al., 2003). اگرچه UV بخش کمی از طیف نور خورشید که به زمین می‌رسد را شامل می‌شود (تقریبا ۹–۸ درصد) و به سه باند UV-A (۴۰۰–۳۲۰ نانومتر)، UV-B (۳۲۰–۲۸۰ نانومتر) و UV-C (۲۸۰–۲۰۰ نانومتر) تقسیم می‌شود اما به‌دلیل اینکه انرژی زیادی نسبت به نور مرئی دارند و توسط مولکول‌های بیولوژیکی مهمی مثل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک جذب می‌شوند، اثر تخریبی آن‌ها بر موجودات زنده به‌خصوص گیاهان زیاد است (Kakani et al., 2003). به طوری که Hajihosseinlo et al. (2016) در بررسی دو رقم کدو تحت اشعه فرابنفش عنوان کردند که طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، سطح برگ، تعداد برگ، محتوای آب نسبی برگ، محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید تحت تأثیر اشعه UV-B در مقایسه با شاهد کاهش یافت. با توجه به اینکه اشعه UV به‌عنوان یک عامل مخرب شناخته شده است اما برخی از مطالعات نشان داده که دزهای پایین (معادل ۹–۰/۵ کیلوژول بر مترمربع) اشعه UV مفید بوده و حساسیت گیاه را به تنش‌های محیطی کاهش می‌دهد (Katerova and Prinsen, 2008). در واقع دزهای مفید اشعه

1 -Ultraviolet rays (UV)

UV تغییراتی را در متابولیت‌های ثانویه مثل ترکیبات فنولیک[1] و فلاونوئیدها[2] ایجاد می‌کند (Bravo et al., 2012). این ترکیبات از طریق مسیر فنیل پروپانوئید[3] و از طریق تحریک آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز[4] تشکیل می‌شوند. نقش این ترکیبات، حفاظت از گیاه در مقابل مقدار زیاد UV به‌خصوص در بافت اپیدرمی برگ‌های بالایی گیاه می‌باشد (Katerova and Prinsen, 2008). گزارش شده که بیان ژن‌های بیوسنتز آنتوسیانین توسط پرتوهای UV تنظیم می‌شود و اثرات اشعه UV به‌عنوان یک محرک محیطی بر محتوای آنتوسیانین در گیاهان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Wang et al., 2009; Guo and Wang, 2010; Li et al., 2014). نتایج تحقیقات نشان داده است که تجمع سیستم‌های آنتی اکسیدانی (مثل آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و آلکالوئیدها) و فعالیت آنزیم‌های دفاعی (مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و غیره) باعث تحمل بیشتر بذرهای تیمار شده با اشعه UV به شرایط سخت محیطی در گیاه کاهو می‌شود (Ouhibi et al., 2014). در این بین Bravo et al. (2012) گزارش کردند که تیمار با UV-C به طور معنی‌داری محتوی آنتی اکسیدان گوجه فرنگی تیمار شده را در مقایسه با شاهد افزایش داد که این افزایش در نتیجه‌ی فعالیت مسیرهای بیوسنتز فنولیک بود. در تحقیق دیگری بیان شده که وقتی بذرهای لوبیا قرمز در معرض UV در محدوده ۲۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر قرار گرفتند، وزن تر و وزن خشک گیاهچه‌های آن افزایش یافت (Peykarestan and Seify, 2012)، که این افزایش ماده خشک تولیدی به‌خاطر کارایی بهتر سیستم دفاعی و فرآیندهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مرتبط با رشد گیاه است.

با توجه به موارد بیان شده اطلاعات کمی در مورد تأثیرات مثبت یا منفی اشعه فرابنفش اعمال شده بر روی بذور نخود فرنگی وجود دارد. بنابراین، هدف از این تحقیق بررسی اثر پیش تیمار بذر با آب و اشعه UV بر روی خصوصیات رشدی و برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه‌های نخود فرنگی حاصل از این بذور بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی بذور تحت پیش تیمارهای هیدروپرایمینگ و اشعه فرابنفش (UV)، آزمایشی در آزمایشگاه هیدروپونیک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۳ بر روی نخود فرنگی رقم دورین (*cv.* Dorian) انجام شد. بذرهای این رقم از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شد.

تیمارهای اعمال شده بر روی بذر شامل: (۱) بذر خشک (شاهد)، (۲) هیدروپرایمینگ به‌مدت ۱۴ ساعت، (۳) هیدروپرایمینگ به‌مدت ۱۲ ساعت + UV-A به‌مدت ۲ ساعت، (۴) هیدروپرایمینگ به‌مدت ۱۲ ساعت + UV-AB به‌مدت ۲ ساعت و (۵) هیدروپرایمینگ به‌مدت ۱۲ ساعت + UV-C به‌مدت ۲ ساعت بودند. نحوه اجرای تیمارهای ۳، ۴ و ۵ بدین صورت بود که بذرها پس از قرارگیری در آب به‌مدت ۱۲ ساعت (هیدروپرایم)، به‌ترتیب تحت تابش پرتوهای فرابنفش UV-A، UV-AB و UV-C به‌مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. اعمال اشعه UV با استفاده از لامپ NARVA مدل LT 18W/009 UV ساخت آلمان صورت گرفت.

1- Phenolic compounds
2- Flavonoids
3- Phenylpropanoid pathway
4- Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) enzyme

پس از خشک شدن کامل بذور در دمای آزمایشگاه (در مدت ۴۸ ساعت)، این بذور به همراه بذرهای هیدروپرایم شده (پرایم شده با آب به‌مدت ۱۴ ساعت) و بذر خشک در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند به‌طوری که در هر گلدان ۳ عدد بذر با فاصله‌های مساوی از هم قرار گرفت. گلدان‌های مورد استفاده دارای ۲۰ سانتی‌متر قطر و ۳۰ سانتی‌متر ارتفاع بودند که با مخلوطی از پرلایت و کوکوپیت با نسبت ۲:۱ به میزان ۱/۵ کیلوگرم پر شده بودند. شرایط آزمایشگاه هیدروپونیک طوری تنظیم شد که ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی، دمای محیط ۲۲/۲۵ سانتی‌گراد (روز/شب)، میزان رطوبت نسبی بین ۵۵–۶۵ درصد و شدت روشنایی ۱۸۰ میکرومول بر مترمربع ثانیه جهت رشد مناسب گیاهچه‌های نخود فرنگی باشد (Hosseini Sarghein et al., 2011; Kargar Khorrami et al., 2013). تغذیه گلدان‌ها به‌وسیله کود رشد مایع (فوسامکو: حاوی تمام عناصر ماکرو و میکرو جهت رشد) و در هر هفته ۲ بار تأمین شد به طوری که ۲ سی‌سی از کود فوق را با یک لیتر آب حل نموده و مصرف می‌گردید. شمایی از نحوه اجرای آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.

شکل ۱: شمایی از مراحل اجرای آزمایش و بررسی تأثیر تیمارهای پرایمینگ بر روی گیاه نخود فرنگی. (بالا چپ): اندازه‌گیری شاخص سبزینگی با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی مدل SPAD-502، (بالا راست): اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه قابل حمل فلورومتر مدل OS-30 و (پایین چپ): اندازه‌گیری طول گیاه نخود فرنگی.

پس از سپری شدن ۲۱ روز از زمان کشت بذور در گلدان‌ها، اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی منجمله شاخص سبزینگی (با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی مدل SPAD-502 مطابق روش Baker and Rosengvist, 2004) و میزان فلورسانس کلروفیل یا عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (با استفاده از دستگاه قابل حمل فلورومتر مدل PEA[1];

1- Plant efficiency analyzer (PEA)

OS-30 مطابق روش Van Heerden et al., 2007) از برگ‌های وسطی و به‌صورت تصادفی از ۳ بوته صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ و میزان پراکسید هیدروژن از برگ‌های وسطی بوته‌ها تعدادی (۶-۹ برگ) برداشت شدند. محتوای آب نسبی برگ به روش Ritchie et al. (1990) اندازه‌گیری و توسط رابطه (۱) محاسبه گردید.

رابطه (۱):

۱۰۰ × (وزن خشک – وزن اشباع شده) / (وزن خشک – وزن تر) = محتوای آب نسبی برگ (درصد)

در نهایت برای اندازه‌گیری وزن تر بوته و طول گیاه نخود فرنگی هر ۳ بوته کشت شده از سطح خاک کف‌بر شدند. برای محاسبات و تجزیه آماری داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار SAS نسخه ۸ استفاده شد و مقایسات میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت. برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel نسخه ۱۰ بهره گرفته شد.

نتایج و بحث

وزن تر گیاه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای پرایمینگ بر روی وزن تر گیاه نخود فرنگی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). به طوری که نتایج مقایسه میانگین نشانگر این مطلب بود که هیدروپرایمینگ و هیدروپرایمینگ + UV-A سبب بیشترین افزایش وزن تر گیاه نخود فرنگی نسبت به شاهد (عدم پرایمینگ) شدند و پس از آن‌ها تیمار هیدروپرایمینگ + UV-C سبب افزایش وزن تر گیاه شد ولی تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB اثر منفی داشت و کاهش وزن تر گیاه را در پی داشت (شکل ۲ الف). در این مورد Mahdavian et al. (2006) در بررسی فلفل و Pourakbar and Abedzadeh (2014) در بررسی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گزارش کردند که اشعه‌های UV-B و UV-C سبب کاهش وزن ریشه و اندام‌هوایی شد. همچنین Frohnmeyer and Staiger (2003) و Yadegari (2017) بیان کردند که پرتوی UV سبب تغییرات مورفولوژیکی در گیاهان می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به کاهش وزن، کاهش بیوماس، کاهش سطح برگ، ممانعت از رشد و طویل شدن هیپوکوتیل اشاره کرد. از طرفی بیان شده که پرایمینگ بذر با افزایش غلظت هورمون‌های محرک رشد (Chojnowski and Come, 1997) و فعالیت آنزیم‌ها (Braccini et al., 2000) همراه است که پیامد آن انتقال بهتر مواد فتوسنتزی، رشد بهتر گیاه و افزایش بیوماس تولیدی است. به طوری که بررسی تأثیر پرایمینگ روی گیاهان نشان داد که پرایمینگ سبب افزایش وزن تولیدی ریشه و ساقه در گوجه فرنگی (Arin and Kiyak, 2003)، لوبیا چشم بلبلی (Posmyk and Janas, 2007) و نخود فرنگی (Yousefi and Fallah, 2014) شد. علارغم اثرات منفی UV به‌خصوص UV-C و UV-AB نسبت به هیدروپرایم در این تحقیق اما نتایج بررسی بر روی لوبیا قرمز نشان می‌دهد که وقتی بذرها در معرض UV با محدوده ۲۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر قرار گرفتند، وزن تر و وزن خشک گیاهچه‌های حاصل افزایش یافت (Peykarestan and Seify, 2012). احتمالاً در این تحقیق اعمال اشعه‌های UV-C و UV-AB تأثیر منفی بر روی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مثل جیبرلین و برخی از آنزیم‌های تجزیه کننده نشاسته و پروتئین ذخیره شده در آندوسپرم دانه به واحدهای سازنده آن مثل آمیلاز و پروتئاز گذاشته است که پیامد آن تولید گیاهچه‌های ضعیف و در نهایت افت وزن تولیدی در گیاه نخود فرنگی است.

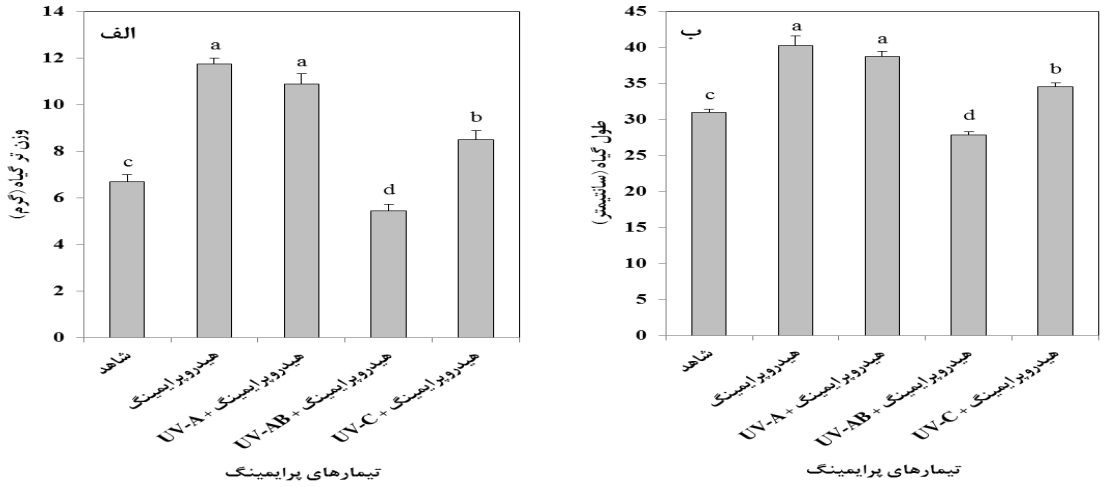
طول گیاه: نتایج نشان داد که اثر تیمارهای پرایمینگ بر روی طول گیاه نخود فرنگی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که به مانند وزن تر گیاه، روند مشابهی از نظر طول گیاه در اثر تیمارهای پرایمینگ وجود دارد به گونه‌ای که بیشترین طول گیاه نخود فرنگی در تیمارهای هیدروپرایمینگ و هیدروپرایمینگ + UV-A به میزان ۴۰/۳ و ۳۸/۸ سانتی‌متر است و پس از آن‌ها تیمار هیدروپرایمینگ + UV-C با ۳۴/۶ سانتی‌متر جای گرفته است (شکل ۲ ب). اما در این بین تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB علاوه بر اینکه سبب افزایش طول گیاه نسبت به تیمار شاهد نشده است بلکه اثر منفی بر روی صفت فوق داشته و آن را به میزان ۱۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داده است (شکل ۲ ب). احتمالاً این تیمار (هیدروپرایمینگ + UV-AB) سبب آسیب‌هایی در بذر شده است که پیامد آن افت طول و وزن گیاه تولیدی است. ممکن است اثر تخریبی آن بر مولکول‌های بیولوژیکی مهمی مثل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در بذر باشد (Kakani et al., 2003) و یا به‌واسطه تخریب تنظیم کننده‌های رشد منجمله ایندول استیک اسید[1] و تشکیل ترکیبات منع کننده رشد باشد (Ros, 1990; Hajihosseinlo et al., 2016). در مقابل Bolink et al. (2001) گزارش کردند که در نخود و لوبیا تحت تیمار UV میزان ضخامت برگ و همچنین میزان ظرفیت آنتی اکسیدان‌ها افزایش یافت که این امر سبب افزایش مقاومت این گیاهان به شدت نور زیاد شد. مطابق با نتایج این تحقیق، بررسی‌های Yousefi and Fallah (2014) بر روی تأثیر انواع پرایمینگ بذر نخود فرنگی نشان داد که بیشترین میزان طول ساقه‌چه در تیمار آب مقطر (هیدروپرایم) بدست آمد. از طرفی مغایر با نتایج این تحقیق Khakpur et al. (2011) در بررسی انواع اشعه UV بر روی پارامترهای جوانه‌زنی دو واریته کتان گزارش کردند که اشعه فرابنفش به‌خصوص UV-B باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و افزایش رشد ریشه‌چه و گیاهچه شد.

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی تحت تیمارهای پرایمینگ در گیاه نخود فرنگی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن تر گیاه	طول گیاه	شاخص سبزینگی	محتوای آب نسبی	عملکرد کوانتومی فتوسیستم II	میزان پراکسید هیدروژن
تیمارهای پرایمینگ	۴	۲۸/۷**	۱۰۸/۰**	۶/۸۲*	۰/۳۱*	۰/۰۰۰۳^{ns}	۲۲/۹**
خطا	۱۵	۰/۴۷	۲/۵۸	۲/۴۹	۰/۰۸	۰/۰۰۰۷	۰/۰۷
ضریب تغییرات (درصد)	–	۷/۹۸	۴/۶۶	۴/۵۳	۰/۳۰	۳/۵۰	۱/۳۷

ns غیر معنی‌دار، * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج درصد و یک درصد.

1- Indole-3-acetic acid (IAA)



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر تیمارهای پرایمینگ بر وزن تر (الف) و طول (ب) گیاه نخود فرنگی. میله بارها بیانگر میزان اشتباه معیار (SE) است. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

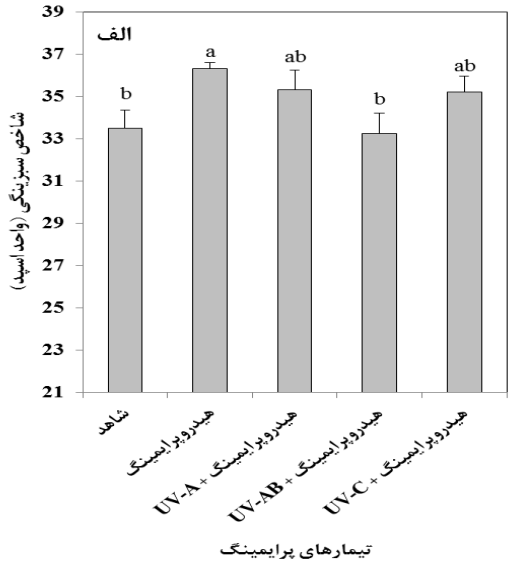
شاخص سبزینگی برگ: بر اساس نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص شد که اثر تیمارهای پرایمینگ بر شاخص سبزینگی برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تیمار هیدروپرایمینگ بیشترین شاخص سبزینگی را داشت و پس از آن تیمارهای هیدروپرایمینگ + UV-A و هیدروپرایمینگ + UV-C در جایگاه‌های بعدی جای گرفتند. در این بین تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB تأثیری بر شاخص سبزینگی برگ نداشت و بین این تیمار با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳ الف). در این مورد گزارش شده است که هیدروپرایمینگ بذرها سبب افزایش محتوای کلروفیل در برگ‌ها شده است (Roy and Srivastava, 2000) و از این طریق افزایش فتوسنتز و انتقال بهتر مواد فتوسنتزی را در پی داشته (Ashraf and Foolad, 2005) که پیامد آن بهبود بیوماس و محصول تولیدی است. از علل کاهش میزان کلروفیل در برابر اشعه UV بیان شده که اشعه فرابنفش باعث تخریب پیش‌سازهای رنگیزه‌ها و ممانعت از سنتز کلروفیل می‌شود (Agrawal, 1992). به طوری که Noori et al. (2012) در بررسی تأثیر پرتوی UV-C بر کلروفیل و فلاونوئیدهای یونجه تاجی اعلام کردند که کاهش کلروفیل در گیاهان تحت تیمار UV-C در مقایسه با شاهد مشاهده شد. از علت‌های دیگر کاهش کلروفیل تحت اشعه UV می‌توان به افزایش میزان اتیلن اشاره کرد که این تنظیم کننده رشد گیاهی سبب راه‌اندازی مکانیسم تخریب کلروفیل می‌گردد (Zhang and Kirkham, 1996). به طور کلی میزان کلروفیل در برگ گیاهان زنده به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی شناخته می‌شود (Jiang and Huang, 2001)، به طوری که ارتباط تنگاتنگی بین شاخص سبزینگی و میزان فتوسنتز و در نهایت تولید فتوآسیمیلات‌ها وجود دارد. پس هر عاملی که سبب کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در اندام‌های گیاه مخصوصاً برگ‌ها گردد در نهایت موجب کاهش تولید مواد فتوسنتزی و افت بیوماس تولیدی در گیاه خواهد شد. بنابراین می‌توان بیان کرد که یکی از عوامل افت طول و وزن گیاه در تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB همین مورد کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی است.

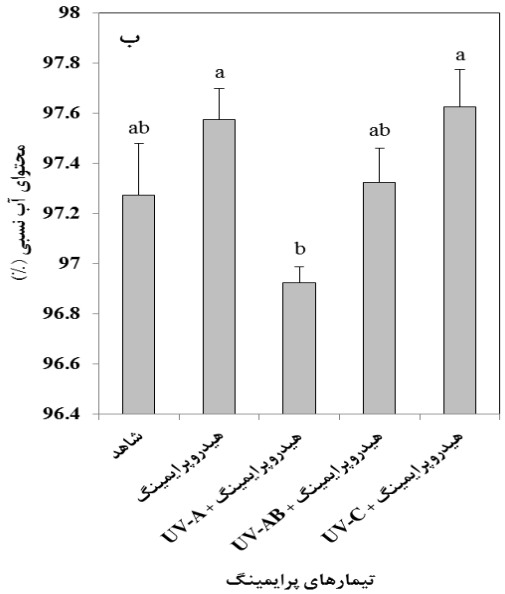
محتوای آب نسبی برگ و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای پرایمینگ بر روی محتوای آب نسبی برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود ولی بر روی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II

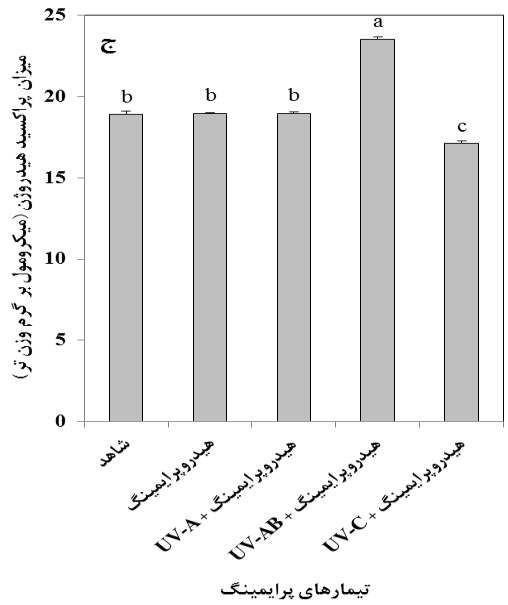
غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). بر همین اساس، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که از نظر محتوای آب نسبی برگ تیمارهای هیدروپرایمینگ و هیدروپرایمینگ + UV-C بیشترین میزان را با ۹۷/۶ درصد (هر دو) داشتند و تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB با شاهد اختلافی نداشت ولی تیمار هیدروپرایمینگ + UV-A سبب کاهش محتوای آب نسبی برگ نسبت به شاهد شد (شکل ۳ ب). تیمار هیدروپرایمینگ که سبب رشد مناسب‌تر گیاه شده است و گیاه با وزن و طول بیشتری نسبت به بقیه تیمارها دارد (شکل ۲) احتمالاً در این پیش تیمار، مکانیسم‌های مرتبط با جذب و انتقال آب به‌خوبی صورت گرفته که این امر به نوبه خود افزایش محتوای آب نسبی برگ را در پی دارد ولی در بقیه تیمارها با اعمال UV به‌خاطر صدمه وارده به گیاه میزان این پارامتر تنزل یافته است. مطابق با نتایج این تحقیق کاهش محتوای آب نسبی برگ تحت تأثیر اشعه‌ی UV در گیاهچه‌های گندم (Liheng et al., 2011) و جو (Bandurska et al., 2012) گزارش شده است.

میزان پراکسید هیدروژن: با توجه به نتایج تجزیه واریانس بین تیمارهای پرایمینگ از نظر میزان پراکسید هیدروژن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول ۱). به طوری که تیمار هیدروپرایمینگ + UV-AB بیشترین و تیمار هیدروپرایمینگ + UV-C کمترین میزان پراکسید هیدروژن را داشتند و بین بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (شکل ۳ ج). در تیمار هیدروپرایمینگ + UV-C احتمالاً فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی منجمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز بهبود یافته است که با افزایش فعالیت آن‌ها پراکسید هیدروژن به آب و مولکول اکسیژن شکسته می‌شوند، که این امر سبب کاهش میزان پراکسید هیدروژن شده است. در این ارتباط بیان شده که طی پرایمینگ، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد که پیامد آن از بین رفتن گونه‌های فعال اکسیژن[1] (از جمله رادیکال‌های آزاد اکسیژن) تولید شده در اثر پراکسیداسیون لیپید است (Bailly et al., 2000). احتمالاً در تیمار هیدورپرایمینگ + UV-AB به‌علت تأثیر منفی UV بر آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی اکسیدانی، موجب شده که سیستم دفاعی کارایی مناسبی را نداشته باشد که در پی آن میزان انواع رادیکال‌های آزاد مخصوصاً پراکسید هیدروژن افزایش یابد که این رادیکال‌ها موجبات تخریب غشاءهای سلولی، پروتئین‌ها و رنگدانه‌های فتوسنتزی را در پی داشته‌اند. در این ارتباط بیان شده است که پرتوی UV سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید[2]، پراکسید هیدروژن[3] و رادیکال‌های هیدروکسیل[4] می‌گردد (Rao et al., 1996)، که بسیار فعال هستند و با لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می‌دهند و اعمال طبیعی سلول را مختل و در نهایت گیاه را نابود می‌کنند (Costa et al., 2002). مطابق با نتایج این تحقیق Pourakbar and Abedzadeh (2014) افزایش میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید[5] را تحت تأثیر پرتوهای UV مخصوصاً UV-B و UV-C گزارش کردند و بیان نمودند که این امر به‌خاطر کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر پرتوهای فوق است.

1- Reactive oxygen species (ROS)
2- Superoxide anion ($O2^-$)
3- Hydrogen peroxide (H2O2)
4- Hydroxyl radical (•OH)
5- Malondialdehyde (MDA)







شکل ٤: مقایسه میانگین اثر تیمارهای پرایمینگ بر شاخص سبزینگی (الف)، محتوای آب نسبی برگ (ب) و میزان پراکسید هیدروژن (ج) گیاه نخود فرنگی. میله بارها بیانگر میزان اشتباه معیار (SE) است. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پرایمینگ با آب و توأم هیدروپرایمینگ + UV-A و UV-C از طریق کاهش میزان پراکسید هیدروژن و افزایش شاخص سبزینگی شرایط مناسبی را برای تولید فتوآسیمیلات‌ها در پی داشته که سبب تولید گیاهانی با طول و وزن تر بیشتر شده است. این امر می‌تواند افزایش بیوماس و بازده تولید نخود فرنگی را در پی داشته باشد. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که از طریق پیش تیمار بذر با آب و توأم با اشعه فرابنفش UV-A و UV-C می‌توان صفات فیزیولوژیکی را در گیاهان حاصل بهبود بخشید که پیامد آن افزایش صفات مورفولوژیکی است. با این حال اعمال فقط هیدروپرایمینگ بذر به‌خاطر ارزان بودن و سهولت اجرای آن جهت افزایش محصول نخود فرنگی توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه رازی به‌خاطر فراهم آوردن امکانات قدردانی می‌کنند.

References

Agrawal, S.B. 1992. Effects of supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and glutathione content in green algae. Environmental and Experimental Botany. 32: 137-143.

Arin, L.E. and Kiyak, D.Y. 2003. The effect of pre-sowing treatments on emergence and seedling growth of tomato seed (*Liycopersicon esculentum* Mill.) under several stress conditions. Pakistan Journal of Biological Sciences. 6(11): 990-994.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. Advance Agronomy. 88: 223-271.

Bailly, C., Benamar, A., Corbinean, F. and Come, D. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. Seed Science Research. 10: 35-42.

Baker, N.R. and Rosengvist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany. 55: 1607-1621.

Bandurska, H., Piperowska-Borek, M. and Cieslak, M. 2012. Response of barley seedlings to water combination. Acta Physiologiae Plantarum. 34: 161-171.

Bolink, E.M., Schalk Wijk, I.V., Posthumus, F. and Van Hasselt, P.R. 2001. Growth under UV-B radiation increases tolerance to high-light stress in pea and bean plant. Plant Ecology. 154: 149-156.

Braccini, A.L.E., Reis, M.S., Moreira, M.A., Sediyama, C.S. and Scapim, C.A. 2000. Biochemical changes associated to soybean seeds osmoconditioning during storage. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 35: 433-447.

Bradford, K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. Horticultural Science. 21: 1105-1112.

Bravo, S., Garcia-Alonso, J., Martin-Pozuelo, G., Gomez, V., Santaella, M., Navarro- Gonzalez, I. and Periago, J.M. 2012. The influence of post-harvest UV-C hormesis on lycopen, ß-carotene and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes. Food Research International. 49: 296-302.

Chojnowski, F.C. and Come, D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsent drying, storage and aging. Seed Science Research. 7: 323-331.

Costa, H., Gallego, S.M. and Tomaro, M.L. 2002. Effects of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. Plant Science. 162(6): 939-945.

Dadrasi, V.A. and Aboutalebian, M.A. 2015. Effect of seed priming on morphological traits, seed protein and water use efficiency of two mid maturing maize hybrids in farm conditions. Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi). 107: 82-90. (In Persian).

Frohnmeyer, H. and Staiger, D. 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. Plant Physiology. 133(4): 1420-1428.

Ghassemi-Golezani, K., Aliloo, A.A., Valizadeh, M. and Moghaddam, M. 2008. Effects of hydro and osmo-priming on seed germination and field emergence of lentil (*Lens culinaris* Medik.). Journal of Agronomy and Plant Breeding. 36: 29-33.

Guo, J. and Wang, M.H. 2010. Ultraviolet A-specific induction of anthocyanin biosynthesis and PAL expression in tomato. Journal of Plant Growth Regulation. 62: 1-8.

Hajihosseinlo, N., Hosseini, S. and Jamei, R. 2016. The study of interactive effects of UV-B radiation and drought stress on some physiological traits of two cultivar of gourd (*Cucurbita pepo* L.). Iranian Journal of Plant Physiology and Biochemistry. 1(2): 16-26. (In Persian).

Hosseini Sarghein, S., Carapetian, J. and Khara, J. 2011. The effects of UV radiation on some structural and ultrastructural parameters in pepper (*Capsicum longum* A.DC). Turkish Journal of Biology. 35: 69-77.

Jiang, Y. and Huang, N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science. 41: 436-442.

Kakani, V.G., Reddy K.R., Zhao, D. and Sailaja, K. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: A review. Agricultural and Forest Meteorology. 120: 191-218.

Kargar Khorrami, S., Jamei, R. and Hosseini Sarghein, S. 2013. Changes in physiological anatomical and parameters of okra (*Hibiscus esculentus* L.) under different ultraviolet radiation. Journal of Plant Biology. 16: 14-26. (In Persian).

Katerova, Z. and Prinsen, E. 2008. Alterations in indole acetic acid, abscisic acid and aminocyclopropane carboxylic acid in pea plants after prolonged influence of low levels ultraviolet-B and ultraviolet-C radiation. Plant Physiology. 34(3-4): 377-388.

Kaur, S., Gupta, A.K. and Kaur, N. 2006. Effect of hydro- and osmopriming of chickpea (*Cicer orietinum* L.) seeds on enzymes of sucrose and nitrogen metabolism in nodules. Plant Growth Regulation. 49: 177-182.

Khakpur, O., Khara, J., Kargar Khorrami, S. and Hosseini, S. 2011. The effect of UV radiation on germination of two flax varieties (*Linum usitatissimum*). National Conference on Climate Change and its Impact on Agriculture and the Environment. 24 July, Urmia, Iran. (In Persian).

Khodabakhsh, F., Amooaghaie, R., Mostajeran, A. and Emtiazi, G. 2010. Effect of hydro and osmopriming in two commercial chickpea cultivars on germination, growth parameters and nodules number in salt stress condition. Journal of Plant Biology. 6: 71-86. (In Persian).

Li, D., Luo, Z., Mou, W., Wang, Y., Ying, T. and Mao, L. 2014. ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin content of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). Postharvest Biology and Technology. (90): 56-62.

Liheng, H., Xiayun, J., Zhiqiang, G. and Runzhi, L. 2011. Seedling to drought, UV-B radiation and their combined stress. African Journal of Biotechnology. 10(20): 4046-4056.

Mahdavian, K., Ghorbanli, M., Kalantari, Kh.M. and Mohamadi, Gh. 2006. The effect of different bands of ultraviolet radiation on morphological and physiological parameters in pepper (*Capsicum annuum* L.). Iranian Journal of Biology. 19(1): 43-53. (In Persian).

Millan, T., Clarke, H.J., Siiddique, K.H.M., Buhariwalla, H.K., Gaur, P.M., Kumar, J., Gil, J., Kahl, G. and Winter, P. 2006. Chickpea Molecular Breeding: New tools and Concepts. Euphytica. 147(1): 81-103.

Noori, M., Poorimani, R. and Khodaee, M. 2012. Studies of UV-C effects on *Coronilla varia* L. chlorophyll and flavonoids. Journal of Cell & Tissue. 3(1): 43-53. (In Persian).

Ouhibi, Ch., Attia, H., Rebah, F., Msilini, N., Chebbi, M., Aarrouf, J., Urban, L. and Lachaal, M. 2014. Salt stress mitigation by seed priming with UV-C in lettuce plants: growth, antioxidant activity and phenolic compounds. Plant Physiology and Biochemistry. 83: 126-33.

Peykarestan, B. and Seify, M. 2012. UV irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity in red bean. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. 3(1): 92-102.

Posmyk, M.M. and Janas, K.M. 2007. Effects of seed hydropriming in presence of exogenous proline on chilling injury limitation in *Vigna radiata* L. seedlings. Acta Physiologiae Plantarum. 25: 326-328.

Pourakbar, L. and Abedzadeh, M. 2014. Effects of UV-B and UV-C radiation on antioxidative enzymes activity of *Melissa officinalis* and influences of salicylic acid in UV-stress ameliorations. Iranian Journal of Plant Biology. 21: 23-34. (In Persian).

Rao, M.V., Paliyath, G. and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of Arabidopsis thaliana. Plant Physiology. 110: 125-136.

Ritchie, S. W., Nguyen, H.T. and Haloday, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science. 30: 105-111.

Ros, J. 1990. On the effect of UV-radiation on elongation growth of sunflower seedlings (*Helianthus annuus* L.) (Thesis), pp. 1-157 in Karlsr. Beitr. Entw. Okophysiol. 8, Tevini, M. (ed.), Bot. Inst. II, Karlsruhe.

Roy, N. K. and Srivastava, A. K. 2000. Adverse effect of salt stress conditions on chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves and its amelioration through pre-soaking treatments. Indian Journal of Agricultural Science. 70: 777-778.

Rozbeh, F. 2014. Evalution effect of KNO_3 seed priming on seedling growth and cell membrane damage of sunflower (*Heliantus annus*) under salt stress. Report and Opinion. 6(8): 6-11.

Sivritepe, H.O. and Dourado, A.M. 1995. The effect of priming treatments on the viability and accumulation of chromosomal damage in aged pea seeds. Annals of Botany. 75(2): 165-171.

Van Heerden, P. D. R., Swanepoel, J. W. and Kruger, G. H. J. 2007. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C_3-mode CO_2 assimilation. Environmental and Experimental Botany. 61: 124-136.

Wang, C. Y., Chen, C.T. and Wang, S.Y. 2009. Change of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. Food Chemistry. 117: 426-431.

Yadegari, M. 2017. Study of phytohormones effects on UV-B stress seeds of thyme species. Journal of Herbal Drugs. 8(2): 109-115.

Yousefi, E. and Fallah, S.A. 2014. Influence of seed priming treatments on germination parameters improvement of pea (*Pisum sativum* L.). Iranian Journal of Seed Science and Technology. 3(1): 109-121. (In Persian).

Zhang, J. and Kirkham, M.B. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. Journal of New Phytology. 132: 361-371.