اثر اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات بیوشیمیایی بذر ریحان (*Ocimum basilicu*) تحت شرایط تنش شوری

مریم نوری*[1]، شهناز فتحی[1]

[1]دانشجوی دکتری علوم باغبانی، گرایش سبزی‌کاری، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۰۳

چکیده

تکنیک پیش تیمار بذر به‌عنوان عامل بهبود دهنده جوانه‌زنی و استقرار تحت تنش‌های محیطی معرفی شده است. یکی از تأثیرات شوری در خاک، کاهش در رشد و نمو گیاهچه‌های سبز شده و تغییر در مراحل نموی گیاه در مزرعه می‌باشد. به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار بذر با اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز و تغییرات میزان پروتئین بذر ریحان سبز تحت شرایط تنش شوری این آزمایش انجام شد. تیمارها شامل پنج سطح تنش شوری (۰، ۰/۲-، ۰/٤-، ۰/٦-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال) و چهار سطح پرایم (غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید سالیسیلیک) با سه تکرار بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی و تیمارهای پرایمینگ سبب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی شدند. تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز شده و میزان پروتئین را کاهش داد. استفاده از تیمار پرایمینگ سبب افزایش در پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز شد. بهترین تیمار بذر، اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بود. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که پیش‌تیمار بذرهای ریحان با اسید سالیسیلیک باعث بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی ریحان سبز در شرایط تنش شوری شد و تحمل گیاه ریحان سبز را در مقابل تنش شوری با افزایش در پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز در مرحله جوانه‌زنی افزایش داد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، پروتئین، پیش‌تیمار بذر، تنش شوری، ریحان سبز.

مقدمه

تنش به‌عنوان تغییر و دور شدن از شرایط مطلوب حیات در نظر گرفته می‌شود و شامل تغییر و تأثیر تمام اعمال حیاتی در سطوح مختلف موجودات است که این اثر در ابتدا می‌تواند برگشت‌پذیر بوده و سپس ممکن است دائمی گردد. با تداوم تنش، اثرآن بر گیاه بیشتر شده و گیاه ضعیف‌تر می‌شود. تنش شوری یکی از مهمترین و رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را با محدودیت روبرو ساخته است (Bohnert et al., 1997). جوانه‌زنی اولین مرحله نموی و یکی از مراحل مهم و حساس در چرخه زندگی گیاهان و یک فرآیند کلیدی در سبز شدن

*نویسنده مسئول: maryamnoori200@gmail.com

گیاهچه می‌باشد (Khan and Gulzar, 2003; Ansari et al., 2012). به‌طورکلی اولین اثر شوری بر رشد گیاهان عدم یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن بذر است (Grieve et al., 1992; Ansari et al., 2013).

پیش‌تیمار بذر یک استراتژی متداول برای افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر تحت شرایط نامساعد محیطی می‌باشد، تحت شرایط نامساعد استفاده از پیش‌تیمار بذرها با استفاده از محلول‌های نمکی، پتانسیل‌های متفاوت اسمزی، استفاده از هورمون‌ها و هیدرو پرایمینگ می‌تواند مقاومت در برابر تنش شوری، در گیاهان را افزایش دهد (Patade et al., 2011; Iqbal and Ashraf, 2007; Guzman and Olave, 2004). پیش‌تیمار بذر با آب و محلول‌های نمکی در گیاهان مختلف سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی در شرایط تنش می‌شود (Ashraf & Rauf, 2001; Ansari et al., 2012; Farooq et al., 2008; Korkmaz and Korkmaz, 2009; Zhuo et al., 2009). میزان تجمع انواع فعال اکسیژن در زمان جوانه‌زنی به‌وسیله میزان تولید و آزاد شدن انواع اکسیژن فعال همچنین فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانتی تعیین می‌شود که تعادل بین انواع فعال اکسیژن و فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی تعیین کننده میزان خسارت وارده است. سیستم آنتی‌اکسیدانتی شامل آنزیم‌ها و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانت باعث حذف انواع فعال اکسیژن می‌شوند. متابولیت‌های آنتی‌اکسدانت مانند اسید آسکوربیک، گلوتاتیون، ویتامین E و دیگر ترکیبات است که به‌ویژه در بذرهای خشک نقش بیشتری دارند (Bailly, 2004). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ریداکتاز و سایر آنزیم‌ها باعث حذف و غیر فعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شوند (Bailly, 2004; McDonald, 1999). پرایمینگ باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل گلوتاتیون و آسکوربات در بذر می‌گردد که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون‌لیپید را در طی جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند (Hus and Sung, 1997; Mittler et al., 2004; Mohanty, 2003).

گیاه ریحان یکی از سبزیجات معطر پر مصرف بوده و مصرف دارویی نیز دارد. گیاه ریحان دارای تنوع ارقام برای مقاومت به شرایط نامساعد محیطی نیست و استفاده از پیش تیمارهای مختلف بذری سبب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود، بنابراین هدف این تحقیق بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات جوانه‌زنی و تغییرات بیوشیمیایی بذر ریحان در شرایط تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر تنش شوری و پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز و میزان پروتئین بذر ریحان، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی و با ۳ تکرار در سال ۹۳-۱۳۹۲ در دانشگاه تبریز به اجرا درآمد. تیمارهای مورد بررسی شامل ٤ غلظت مختلف اسید سالیسیلیک (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام) و بذر بدون تیمار به عنوان شاهد و ۵ سطح شوری ۰، ۰/۲-، ۰/٤-، ۰/٦-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال بودند.

جهت اعمال تیمارهای پرایمینگ، بذرها به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در غلظت‌های تعیین شده قرار گرفتند. بعد از اعمال پیش‌تیمار، بذرها با آب مقطر شستشوی سطحی شدند. بذرهای تیمار شده در دمای اتاق قرار گرفتند تا رطوبت‌شان به رطوبت اولیه (۱۰ درصد) برسند. بعد از خشک شدن، بذرهای تیمار شده و شاهد (بدون پیش‌تیمار) در ابتدا با محلول هیپوکلریدسدیم به‌مدت ۲ دقیقه ضد عفونی سطحی شده و سپس با آب مقطر شستشو شدند و تعداد ۵۰ بذر به پتری‌دیش‌های شیشه‌ای با قطر ۱۰ سانتی‌متر و حاوی محلول‌های نمکی منتقل شدند.

تست جوانه‌زنی استاندارد در ۳ تکرار در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ روز انجام شد. بذرها به‌صورت روزانه شمارش و تعداد بذرهای جوانه زده ثبت و در پایان روز آخر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز)، متوسط مدت زمان جوانه‌زنی (روز)، درصد گیاهچه نرمال، وزن خشک گیاهچه (گرم)، نیه طولی بذر (درصد گیاهچه طبیعی× طول گیاهچه تقسیم بر ۱۰۰) محاسبه شدند.

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ابتدا بهترین تیمار پرایمینگ با توجه به نتایج شاخص‌های جوانه‌زنی انتخاب و به مدت ۲٤ ساعت در حالت آبنوشی (شرایط بدون تنش و تنش ۰/٤- و ۰/۸- مگاپاسکال) قرار گرفتند سپس کلیه نمونه‌های بذری (بدون پرایم و پرایم) در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به روش اسپکتوفتومتری و به‌ترتیب با روش‌های جاندا و جانسون اندازه‌گیری شدند (Jahnson, 1999; Janda et al., 1999). مقدار پروتئین بر طبق روش ارائه شده به‌وسیله بردفورد، تعیین شد (Bradford, 1976). به این منظور ۱ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به‌همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه طیف‌سنج قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

تجزیه‌های آماری با نرم‌افزار SAS انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD با یکدیگر مقایسه شدند. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر عامل اصلی پرایم و تنش شوری بر کلیه شاخص‌های جوانه‌زنی از قبیل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط مدت زمان جوانه‌زنی، درصد گیاهچه طبیعی، طول گیاهچه، بنیه بذر و وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اثر متقابل پرایم و شوری بر کلیه شاخص‌ها به جز طول گیاهچه در سطح احتمال یک درصد و بر طول گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). به‌دلیل معنی‌دار شدن اثرات متقابل پرایم و شوری برش‌دهی اثرات متقابل در هر سطح پرایمینگ انجام و نتایج تجزیه واریانس آن در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱- میانگین مربعات اثر پرایمینگ و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر ریحان.

منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	متوسط مدت زمان جوانه‌زنی	درصد گیاهچه طبیعی	طول گیاهچه	بنیه بذر	وزن خشک گیاهچه
(A) پرایم	۴	۷۰۵**	۲۸/۲**	۱/۱۶**	۸۰۸/۵۱**	۹/۷۸**	۱۰/۱۷**	۰/۰۰۴**
(B) شوری	۵	۸۱۴۵/۱۷**	۳۲۵/۸۱**	۳۲/۶۱**	۱۴۴۳۷/۷۶**	۳۶۲/۲۹**	۳۴۹/۲۹**	۰/۰۱۸**
A × B	۲۰	۲۱/۹۱**	۰/۸۸**	۰/۲۱**	۲۹/۸۷**	۰/۴۲*	۰/۶۲**	۰/۰۰۰۰۷**
آزمایشی خطای	۶۰	۴/۲۷	۰/۱۷	۰/۰۳	۳/۱۶	۰/۲۱	۰/۰۹	۰/۰۰۰۰۳
تغییرات ضریب	-	۱۳/۱۹	۱۳/۱	۳/۹۹	۷/۴۷	۶/۱۷	۵/۹۵	۱۲/۷

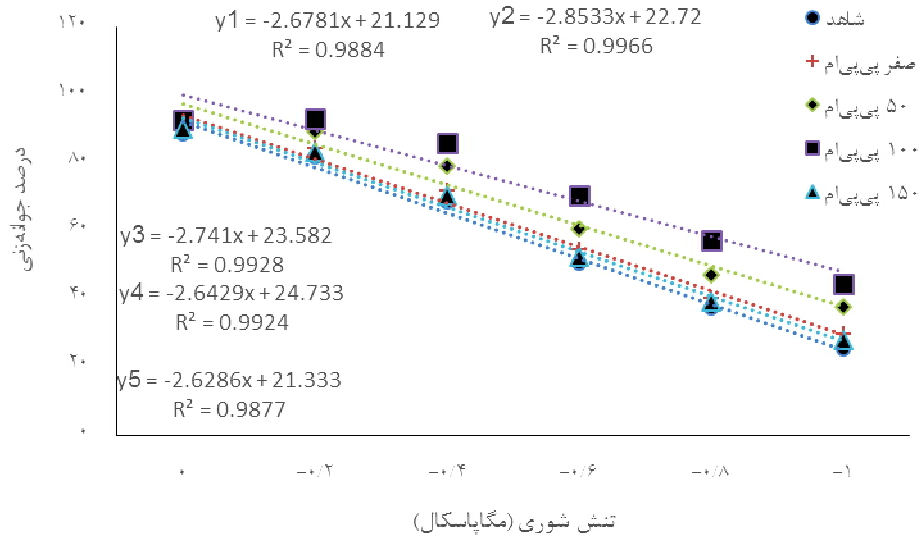
*و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲- میانگین مربعات برش‌دهی اثر پرایمینگ (غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک) بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر ریحان.

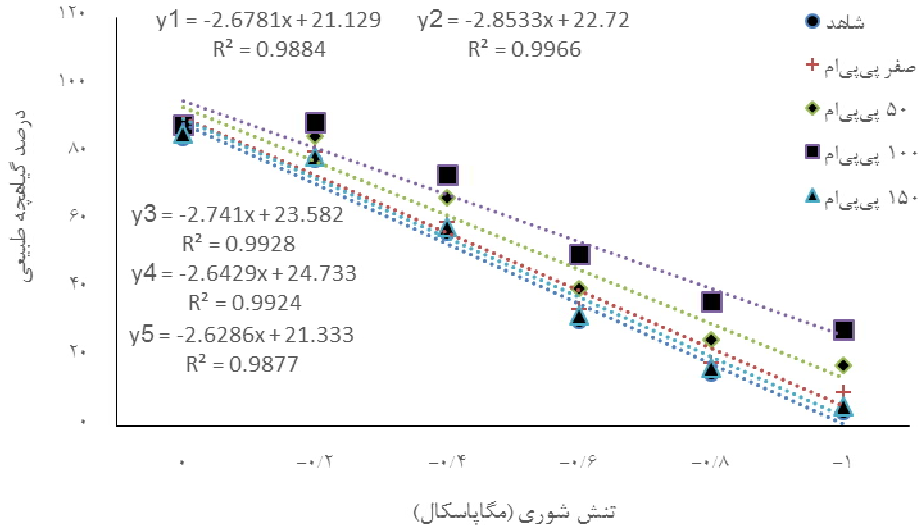
غلظت سالیسیلک اسید (پی‌پی‌ام)	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	متوسط مدت زمان جوانه‌زنی	درصد گیاهچه طبیعی	طول گیاهچه	بنیه بذر	وزن خشک گیاهچه
۰	۵	۱۹۰۴/۷۵**	۷۶/۱۹**	۹/۱۲**	۳۳۳۹/۰۲**	۷۵/۸۲**	۶۴/۴۵**	۰/۰۰۴**
۵۰	۵	۱۷۵۸/۴**	۷۰/۳۴**	۷/۱۶**	۳۰۸۲**	۷۲/۹۴**	۷۰**	۰/۰۰۳۷**
۱۰۰	۵	۱۵۲۴/۰۹**	۶۰/۹۶**	۵/۲۲**	۲۷۶۶/۶۲**	۷۶/۰۷**	۷۸/۰۷**	۰/۰۰۴**
۱۵۰	۵	۱۲۰۹/۲۹**	۴۸/۳۷**	۴/۱۱**	۲۰۸۸/۵۳**	۶۳/۳۲**	۷۳/۱۲**	۰/۰۰۲۷**

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد.

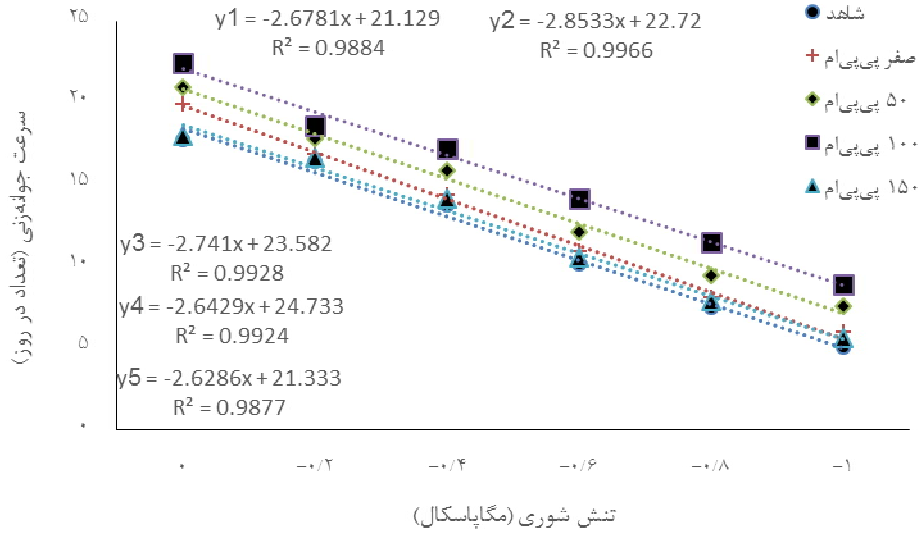
نتایج مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر ریحان تحت شرایط تنش شوری نشان داد که با افزایش سطوح مختلف شوری شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش یافته و استفاده از اسید سالیسیلیک به‌عنوان تیمار پرایمینگ سبب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی شد (شکل‌های ۱ تا ۷). بالاترین شاخص‌های جوانه‌زنی مربوط به شرایط بدون تنش و استفاده از اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بود و استفاده از غلظت‌های بالاتر و پائین‌تر اسید سالیسیلیک اثرات کمتری بر روی شاخص‌های جوانه‌زنی داشتند. اثر سالیسیلیک اسید تحت شرایط بدون تنش در کلیه صفات به جز سرعت جوانه‌زنی و متوسط مدت زمان جوانه‌زنی زیاد نبود و در سطوح تنش خصوصا سطوح بالاتر تنش اثرات استفاده از پرایمینگ با اسید سلیسیلیک به خوبی مشاهده شد (شکل‌های ۱ تا ۷). به‌عنوان مثال در تیمار شاهد (بدون پرایم) درصد جوانه‌زنی در سطح بدون تنش ۸۸/۶۷ درصد به ۲۵/۳۳ درصد رسید که حدود ۷۱ درصد کاهش را نشان داد ولی در شرایط استفاده از اسید سالیسیلیک ۱۰۰ پی‌پی‌ام ۵۱ درصد کاهش مشاهده شد که نشان دهنده اثر مثبت استفاده از اسید سالیسیلیک در شرایط تنش بود (شکل ۱). نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داده است که تنش سبب کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی خواهد شد و استفاده از تیمار پرایمینگ سبب افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد (Ansari et al., 2012; Ansari et al., 2013; Patade et al., 2011; Iqbal and Ashraf, 2007; Guzman and Olave, 2004). علت برتری بذرهای پرایم شده نسبت به پرایم نشده در گونه‌های مختلف گیاهی را می‌توان چنین استنباط نمود که اولاً پیش‌تیمار بذر با توسعه مرحله دو از سه مرحله جوانه‌زنی یعنی از طریق کوتاه کردن مدت زمان سوخت و ساز، باعث تسریع جوانه زنی می‌شود (Nelson, 2000) و ثانیا در طی پرایمینگ بذر، سنتز پروتئین و DNA افزایش یافته و همچنین بر فسفولیپیدهای سلول غشایی در جنین تاثیر گذار می‌باشد (Bradford, 1995). در این پژوهش غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک نتایج متفاوتی را به همراه داشت و غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اثر مثبت بیشتری نسبت به غلظت‌های بالاتر و پائین‌تر بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشت. گزارش شده است که با افزایش غلظت هورمون‌های گیاهی به بالاتر از حد آستانه به‌دلیل ایجاد حالت سمیت برای بذر اثر تیمارهای پرایمینگ منفی شده و اثرات مثبت کمتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی خواهد داشت (Ansari and Sharif-Zadeh, 2012). از آن‌جایی که بنیه بذر از حاصلضرب درصد جوانه‌زنی طبیعی و طول گیاهچه به‌دست می‌آید دلیل افزایش بنیه بذر با استفاده از تیمارهای پرایمینگ می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی و در نتیجه افزایش مصرف مواد ذخیره‌ای بذر و طویل شدن گیاهچه در اثر افزایش انرژی در بذرهای پرایم شده در ارتباط باشد (Ansari et al., 2013). کاهش در وزن خشک گیاهچه در اثر تنش مربوط به کاهش در رشد و کاهش در تقسیم سلولی می‌باشد. ولی با استفاده از تیمارهای پرایمینگ رشد گیاهچه بیشتر شده و تقسیم سلولی به دلیل افزایش انرژی بیشتر شده در نتیجه وزن خشک گیاهچه هم افزایش می‌یابد.



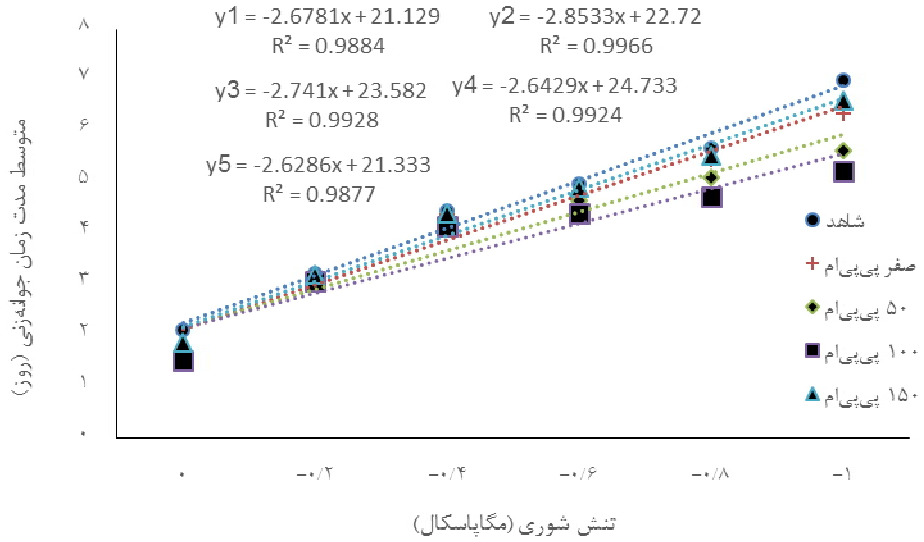
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر درصد جوانه‌زنی بذر ریحان تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به‌ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ٤/٩٦، ٣/٥٦، ٢/٢٢، ٣/٤٦ و ٣/٦٦ می‌باشد.



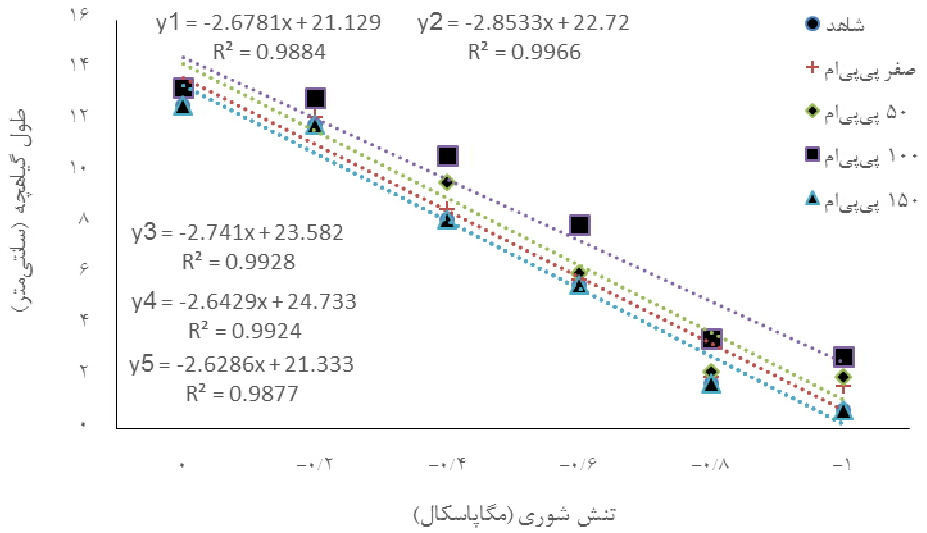
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر درصد گیاهچه طبیعی بذر ریحان تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ٤/١٩، ٣/٥٦، ٢/٢٢، ٢/٧٨ و ٢/٦٥ می‌باشد.



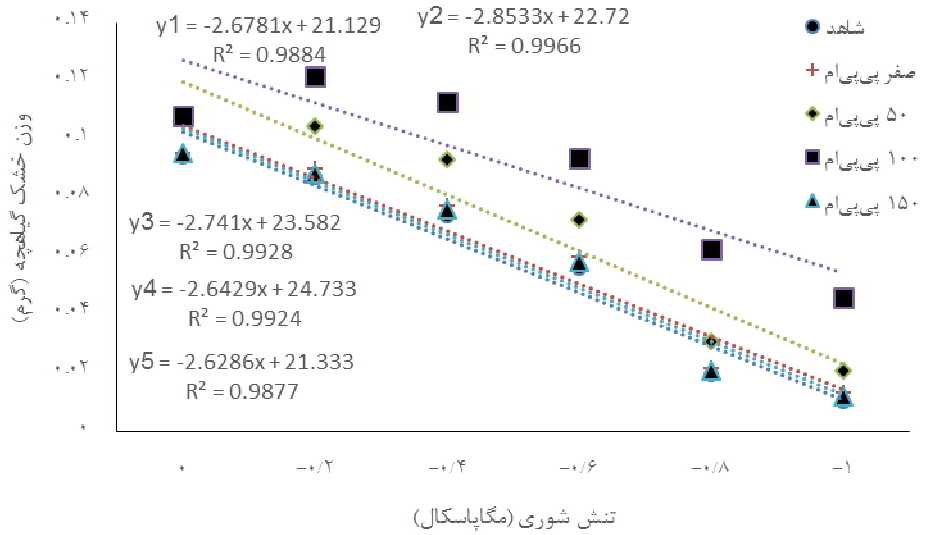
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر سرعت جوانه‌زنی بذر ریحانن تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به‌ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ۰/۹۹، ۰/۷۱، ۰/٤٤، ۰/٦۹ و ۰/۷۳ می‌باشد.



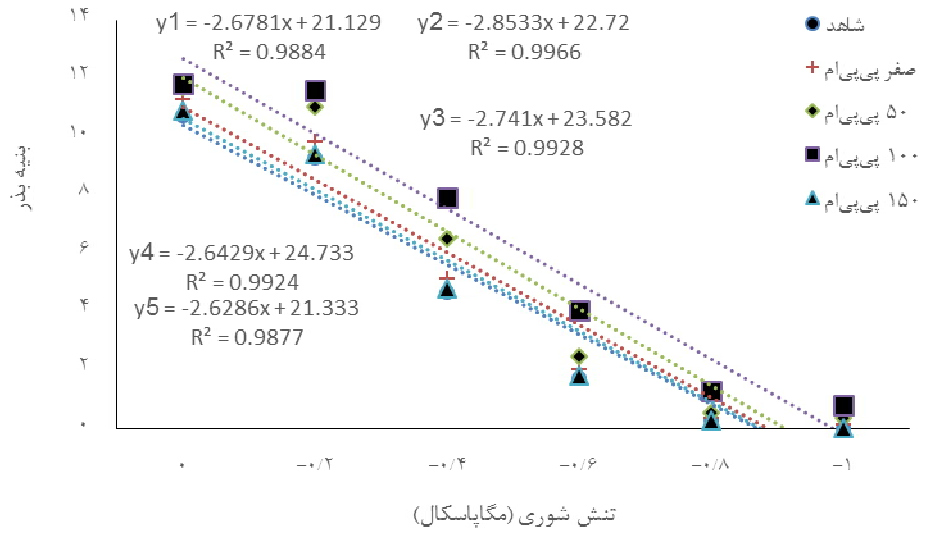
شکل ٤- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر متوسط مدت زمان جوانه‌زنی بذر ریحانن تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به‌ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ۰/٤۹، ۰/۳٤، ۰/۰۵، ۰/۱۲ و ۰/۳۲ می‌باشد.



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر طول گیاهچه بذر ریحانن تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ۱/۰۷، ۰/۷۱، ۰/۳۱، ۰/٦٦ و ۱/۰۷ می‌باشد.



شکل ٦- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر وزن خشک گیاهچه بذر ریحانن تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به‌ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ۰/۰۰٤، ۰/۰۰۳، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰٤ و ۰/۰۰۳ می‌باشد.



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر بنیه بذر ریحانن تحت شرایط تنش شوری. y1 تا y5 به‌ترتیب نشان‌دهنده معادلات رگرسیون خطی برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. میزان LSD برای تیمارهای شاهد، صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام بر اساس برش‌دهی به‌ترتیب ۰/۷، ۰/٤۱، ۰/۲٤، ۰/۵۱ و ۰/۷ می‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین اثر پرایمینگ و تنش شوری بر میزان پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز نشان داد که اثر اصلی پرایم و تنش شوری بر این شاخص‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر متقابلشان بر این شاخص‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۲).

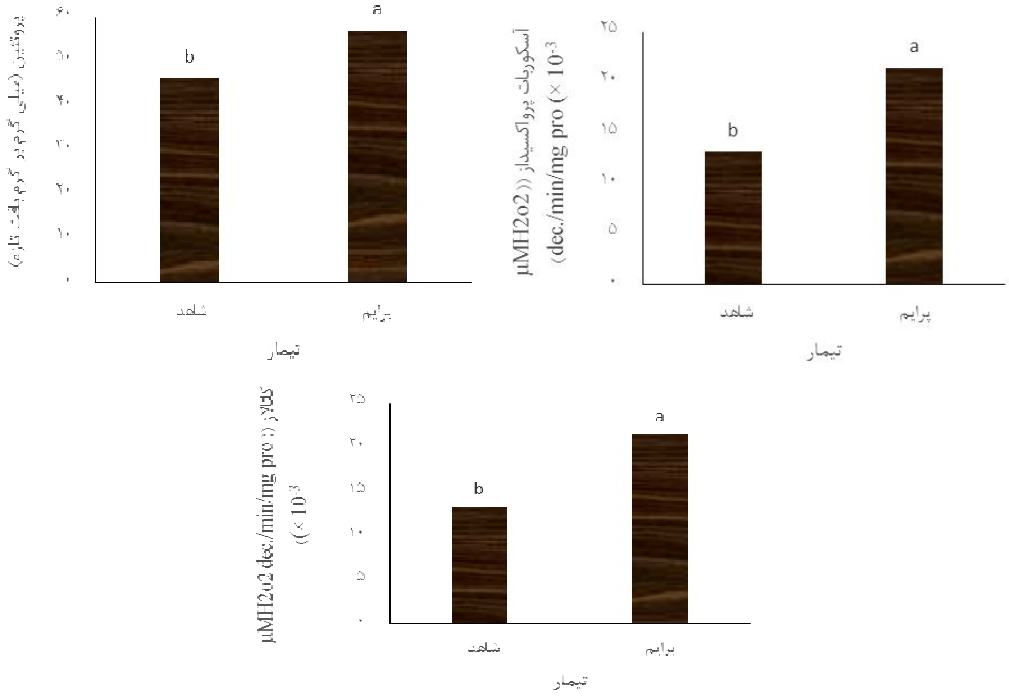
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و شوری بر تغییرات پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز ریحان.

منبع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین	کاتالاز	آسکوربات پرواکسیداز
پرایم (A)	۱	۵۲۰/۱۹**	۳۰۹/۳۹**	۳۲۹/۳۹**
شوری (B)	۲	۲۹٦۰/۸۹**	۳۸۵/۳۵**	۳۱۰/۹٤**
A × B	۲	۵/۳^{ns}	۱/۵۱^{ns}	۰/۲۲^{ns}
خطای آزمایشی	۱۲	۹/۰۹	۱/٦	۰/۵۸
ضریب تغییرات	-	۵/۸٤	۷/۲۹	۵/۰٦

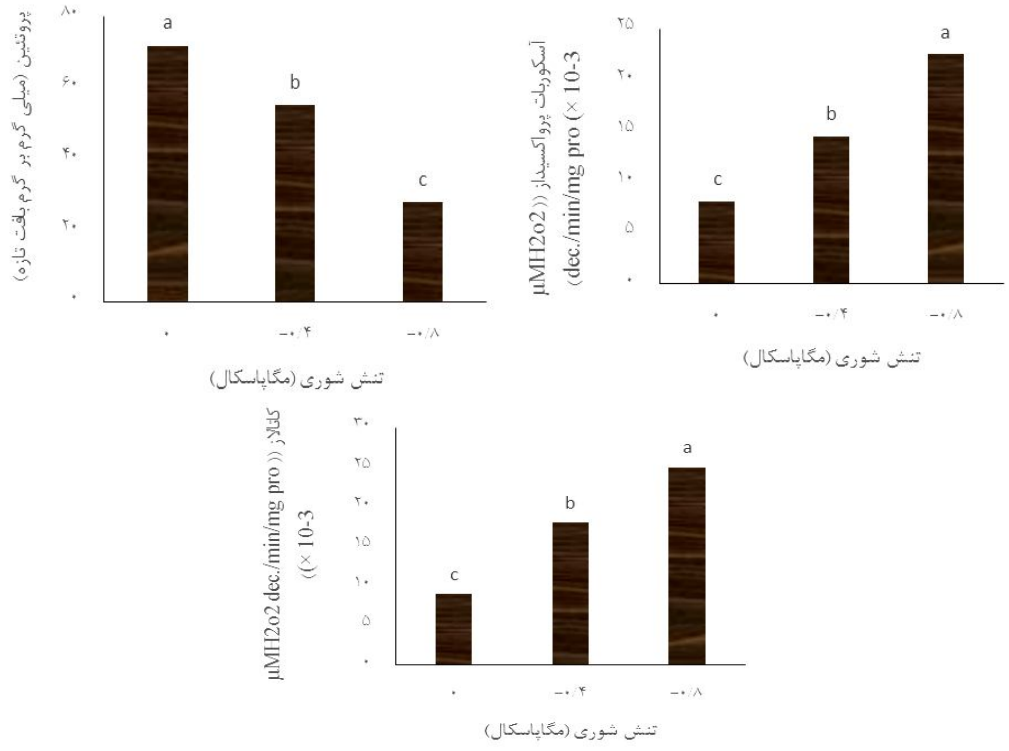
ns و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین اثر پرایمینگ و تنش شوری بر میزان پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز نشان داد که تیمار پرایمینگ سبب افزایش در میزان پروتئین خواهد شد و همچنین فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز را افزایش خواهد داد (شکل ۸). نتایج نشان داد افزایش در سطوح تنش شوری میزان پروتئین کاهش یافته ولی فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز افزایش می‌یابد به‌طوری که کمترین میزان پروتئین و بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز مربوط به شرایط تنش ۰/۸- مگاپاسکال بود (شکل ۹). نتایج نشان داد که استفاده از تیمار پرایمینگ میزان پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز را نسبت به شاهد به‌ترتیب

۱۸/۸۷ درصد، ۳۸/٦ درصد و ٤٤/۲۸ درصد افزایش داد (شکل ۸). سطوح بالای تنش شوری میزان پروتئین را ٦۱/۲۵ درصد نسبت به شرایط بدون تنش کاهش داد و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز را نسبت به شرایط بدون تنش به‌ترتیب ٦۳/۹۵ درصد و ٦۳/۸۵ درصد افزایش داد (شکل ۹).



شکل ۸- اثر تیمار پرایمینگ بر تغییرات بیوشیمیایی بذر ریحان.



شکل ۹- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر تغییرات بیوشیمیایی بذر ریحان.

بیان شده است که غلظت پروتئین‌های محلول در سطوح مختلف تنش خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل یونجه، تقریبا ثابت بوده که به نظر می‌رسد در حفظ ساختار گیاه و انجام فعالیت‌های گیاهی مطلوب بوده است، در حالی که در ژنوتیپ‌های حساس با افزایش شدت تنش، غلظت پروتئین‌های محلول به شدت کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کاهش فراوانی پیش ماده‌های تولید کننده پروتئین‌ها و کاهش تظاهر ژن‌ها یا مبدا تظاهر آن‌ها باشد (Ghorbani Javid et al., 2007).

در طی پرایمینگ چون بذر فازهای اول و دوم جوانه‌زنی بذر را طی می‌کند از این طریق آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی فعال شده و مواد ذخیره‌ای بذرها تجزیه شده و به حالت محلول در می‌آیند که این موضوع ممکن است دلیل افزایش پروتئین محلول در بذرهای پرایم شده باشد.

آنزیم کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی است که با افزایش تنش خشکی افزایش می‌یابد، ولی با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان این آنزیم را در گیاهان بیشتر افزایش دهند (Moosavi et al., 2009). در ادامه Ansari et al. (2013) گزارش کردند که پرایمینگ سبب افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی شده و از این طریق سبب افزایش و بهبود در شاخص های جوانه‌زنی می‌شود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و تیمارهای پرایمینگ سبب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی شد. تنش شوری سبب افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز شده و میزان پروتئین را کاهش داد. استفاده از تیمار پرایمینگ سبب افزایش پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز شد. بهترین تیمار بذر با اسید سالیسیلیک تیمار بذر با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بود. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که پیش‌تیمار بذرهای ریحان با اسید سالیسیلیک باعث بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی ریحان سبز در شرایط تنش شوری می‌شود و تحمل گیاه ریحان سبز را در مقابل تنش شوری با افزایش در پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پرواکسیداز در مرحله جوانه‌زنی افزایش می‌دهد. پس می‌توان بیان نمود که بین شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در بذرهای پیش‌تیمار شده یک ارتباط و همبستگی مثبت وجود دارد.

References

Ansari, O., Choghazardi, H.R., Sharif Zadeh, F., and Nazarli, H. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. Cer. Agronomice. Moldova. 2 (15): 43-48.

Ansari, O., and Sharif-Zadeh, F. 2012. Does Gibberelic acid (GA), Salicylic acid (SA) and Ascorbic acid (ASc) improve Mountain Rye (*Secale montanum*) seeds Germination and Seedlings Growth under Cold Stress?. Int. Res. J. Applied. B. Sci. 3 (8): 1651-1657.

Ansari, O., Tavakkol Afshari, R., Sharif-Zadeh, F., and Shayanfar, A. 2013. The role of priming on seed reserve utilization and germination of mountan rye (Secale montanum) seeds under salinity stress. Iranian J. Field Crop. Sci. 44(2): 181-189. (In Persia).

Ashraf, M., and Rauf, H. 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays L.*) through seed priming with chloride salts: growth and ion transport at early growth stages. Acta. Physio. Planta. 23: 407 414.

Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res*. 14: 93- 107.

Bohnert, H.J., Nelson, D.E., and Jensen, R.G. 1995. Adaptation to environmental stresses. Plant Cell. 7: 1099-1111.

Bradford, K.J. 1995. Water relation in seed germination. In: J. Kigel and G. Galili (eds), Seed development and germination. Marcel Dekker. pp: 351- 396.

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S.M.A., Cheema, M.A., and Rehman, H. 2008. Chilling toler-ance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. J. Agro. Crop Sci. 194: 161–168.

Ghorbani Javid, M., Moradi, F., Akbari, Gh., and Allahdadi, A. 2007. Some metabolite role in osmotic regulation mechanism of medic *Medicago laciniata* (L.) Mill under drought stress. Iranian J. Crop Sci. 8: 90-105. (In Persian).

Grieve, C.M., Lesch, S., Francois, L.E., and Maas, E.W. 1992. Analysis of main-apike yield components in salt-stressed wheat. Crop Sci. 32: 697-703.

Guzman, M., and Olave, J. 2004. Effect of N-form and saline priming on germination and vegetative growth of Galia-type melon (Cucmis melol. Cv. Primal) under salinity. Acta Hort. 659: 253- 260.

Hus, J.L., and Sung, J.M. 1997. Antioxidant role of glutathione associated with accelerated aging and hydration of triploid Waremelon seeds. Physio plantrum. 100: 967- 974.

Iqbal, M., and Ashraf, M. 2007. Seed treatment with auxins modulates growth and ion partitioning in salt-stressed wheat plants. J. I. Plant Bio. 49: 1003-1015.

Khan, M.A., and Gulzar, S. 2003. Germination responses of *Sporobolus ioclados*. A saline desert grass. J. Arid Environ. 27: 177- 237.

Korkmaz, A., and Korkmaz, Y. 2009. Promotion by 5-aminolevulenic acid of pepper seed germination and seedling emergence under low-temperature stress. Sci. Horti. 119: 98–102.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., and Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Sci. 9: 490–498.

Mohanty, N. 2003. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* L. exposed to warmer growth conditions. J. Plant Physiol. 160:71-74.

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 Agri. Environ. 7: 353-358.

Nelson, C.P. 2000. Water potential: The key to successful seed priming. Decagon Devices, Inc. AN4101-10.

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

Zhuo, J., Wang, W., Lu, Y., Sen, W., and Wang, X. 2009. Osmopriming-regulated changes of plasma membrane composition and function were inhibited by phenylarsine oxide in soybean seeds. J. Integr. Plant Biol. 51: 858–867.