دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال هفتم، شماره بیست و سوم، ۱۳۹۴

کاهش اثر منفی شوری بر گندم سرداری (*Triticum aestivum* L.) با پیش تیمار بذر با پراکسیدهیدروژن (H_2O_2)

طیبه جعفریان[۱]، محمد جواد زارع[۲]

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/٤ تاریخ پذیرش: ۹٤/۳/۷

چکیده

افزایش شوری یک مشکل اساسی در تولید محصولات زراعی بخصوص گندم است . انتخاب یک پیش‌تیمار مناسب بذر می‌تواند در استقرار اولیه گیاه تحت تنش شوری و تحمل آن به شوری موثر باشد. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر پراکسید هیدروژن بر ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گندم تحت شوری بود. بدین منظور کشت گلخانه گندم به صورت طرح فاکتوریل بر پایه کاملا تصادفی در سه تکرار و سه سطح تنش شوری(۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی مولار کلرید سدیم) و چهار سطح پراکسید هیدروژن(۰، ۲۵، ۵۰ و ۸۰ میلی مولار) انجام گرفت. پراکسید هیدروژن موجب القاء آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت شوری شد که در نتیجه این افزایش خسارت رادیکال‌های آزاد تولید شده در گندم کاهش یافت. بو ته های گندم پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن از محتوای کلروفیل (٦٦ درصد) و آب نسبی (۲۸ درصد) بالاتری تحت شوری برخوردار بودند. هرچند پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن بر نشت یونی تأثیر معنی‌دار نداشت اما موجب کاهش اثر شوری بر کاهش محتوی آب ریشه (۱۹ درصد) و رشد طولی آن گردید. پیش تیمار بذر با پراکسیدهیدروژن موجب افزایش طول ریشه در حدود ۲۹ درصد در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و در مقایسه با عدم کاربرد آن گردید. نتایج این آزمایش نشان داد که پیش تیمار بذر با پراکسیدهیدروژن از طریق تعدیل در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گندم می‌تواند در افزایش تحمل گیاه به شوری موثر باشد.

واژه های **کلیدی:** تنش شوری، پرایمینگ بذر، طول ریشه، محتوای آب نسبی

جعفریان، ط. و م.ج. زارع. ۱۳۹٤. کاهش اثر منفی شوری بر گندم سرداری (*Triticum aestivum* L.) با پیش تیمار بذر با پراکسیدهیدروژن (H_2O_2). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۲۳: ۷٦-٦٤.

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: mj.zarea@mail.ilam.ac.ir

مقدمه

امروزه شوری از نگرانیهای پیش روی تولیدات زراعی در نواحی خشک و نیمه خشک محسوب می‌گردد. در بین گیاهان زراعی مختلف، گندم با داشتن بیشترین سطح زیر کشت و تولید تقریبا یک چهارم نیاز غذایی جهان اهمیت زیادی دارد و لذا بهبود مقاومت به شوری در این محصول مستلزم توجه بیشتری است (اشرف، ١٩٩٦). شوری از طریق اثرات سوء بر جوانه‌زنی، قدرت گیاه و عملکرد محصول از اصلی‌ترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی است (مانسو و تستر، ٢٠٠٨). اثرات شوری از طریق کمبود آب، سمیت یون، اختلالات تغذیه-ای، تنش های اکسایشی، تغییر فرآیندهای متابولیکی و کاهش تقسیم سلولی و توسعه آن اثر گذار می‌باشد (هاسگاوا و همکاران، ٢٠٠٠، مونز، ٢٠٠٢، زو، ٢٠٠٧). یکی از پیامدهای مهم تنش غیر زنده افزایش اکسیژن فعال (ROS) در سطح سلولی است (سایرام و همکاران،٢٠٠٢، سایرام و تیاگی، ٢٠٠٤). تنش شوری موجب تجمع انواع اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می گردد (نوکتار و فویر، ١٩٩٨). آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز سبب خنثی‌سازی این رادیکال‌های آزاد می‌گردند (زانگ و کیرهان، ١٩٩٦). ضد اکساینده ها در پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در اثر تنش شوری در برنج (ویدیانتن و همکاران، ٢٠٠٣) و گندم (سایرام و همکاران، ٢٠٠٥) نقش دارند. در زمان تنش معمولا فعالیت آنزیم هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تحریک می‌شود (میشرا و همکاران، ١٩٩٥).

گزارش‌های مختلف بیانگر این است که پر ایمینگ باعث افزایش دامنه جوانه زنی بذرها در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل تنش شور ی، خشکی و دما می‌شود (دمیر کایا و همکاران، ٢٠٠٦). هاس و سانگ (١٩٩٧) گزارش دادند که پرایمینگ با افزایش سطح آنزیم‌های از فعا لیت پراکسیداسیون لیپید در زمان جوانه‌زنی می‌کاهد و باعث افز ایش درصد جوانه زنی می‌گردد.

شواهد قانع کننده‌ای در مورد فعالیت بیولوژیک ROS با تأکید بر کارکرد پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) به عنوان سیگنال مولکولی در گیاهان وجود دارد (هونگ و همکاران، ٢٠٠٥; دات و همکاران، ٢٠٠٠). گزارش شده است که پراکسیدهیدروژن می-تواند به عنوان سیگنال واسطه از اتیلن و سالیسیلیک اسید در پاسخ گیاه به تنش باشد (چامنگپول و همکاران، ١٩٩٨) و یا می-تواند به عنوان پیام رسان ثانویه در مسیر انتقال سیگنال باعث سازگاری به تنش گردد (فویر و همکاران، ١٩٩٧). همچنین اطلاعات موجود نشان می‌دهد که پراکسیدهیدروژن به طور مستقیم در تنظیم بیان ژنها که برخی از آنها جزو سیستم دفاعی گیاه است نقش دارند (کوتن و همکاران، ٢٠٠٠). با توجه به اینکه خواب بذر و خواب ثانویه بذر که در شرایط تنش مانند شوری برانگیخته می‌شود می‌تواند توسط تیمار بذر با اکسیدان شکسته شود و در نتیجه جوانه زنی بذور با وجود تنش با موفقیت انجام گردد. از سوی دیگر مدت طولانی است که پیش تیمار بذور با اکساینده هایی مانند پراکسید هیدروژن که منجر به شکستن خواب بذر می‌شود شناخته شده است (جان و آمن، ١٩٧٧).

اثر تحریک کننده پراکسید هیدروژن بر جوانه‌زنی و پس از آن رشد گیاهچه در تعداد کمی از گونه‌های گیاهی گزارش گردیده است. اولین شواهد مبنی بر تحریک کننده‌گی پراکسید-هیدروژن بر جوانه‌زنی بذر گیاه ***Pseudotsuya Menziesii*** به وسیله خیساندن بذر در پراکسید هیدروژن ١٪ گزارش شد (چاینگ، ١٩٥٩). به طور مشابه تحریک جوانه‌زنی بذر توسط پراکسیدهیدروژن در گیاه ***Zinnia Elegans*** (اگاوا، ٢٠٠١) و سورگم (سارا و همکاران، ٢٠٠٧) و نیز پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن جهت تحمل به تنش شوری در گیاهچه گندم (وحید و همکارن،٢٠٠٧) بدست آمد. گزارش گردیده است پیش تیمار پراکسید هیدروژن بطور همزمان باعث افزایش مقاومت چندگانه به گرما، خشکی، سرما و شوری در گیاهچه های ذرت گردید (گونگ و همکاران، ٢٠٠١).

در میان راه‌کارهای مختلف، پیش تیمار کردن بذر قبل از کشت روشی آسان، کم هزینه و مؤثر در کاهش اثرهای سوء تنش‌های محیطی است (اشرف و فولد، ٢٠٠٥). بنابراین درک بهتر از مکانیزم‌هایی که گیاه را قادر به سازگاری با تنش شوری می‌سازد برای بهینه نمودن زراعت در خاک‌های شور ضروری است. نقش و مکانیزم‌های پراکسیدهیدروژن به عنوان پیش تیمار بذر در افزایش تحمل به تنش شوری هنوز هم مبهم است (وحید و همکاران، ٢٠٠٧). به کارگیری روش‌های ساده و همچنین کاربردی جهت زراعت در مناطق شور ضروری به نظر می‌رسد. همچنین شناخت تغییرات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی سازگار و مرتبط با تحمل به شوری در پاسخ به این تیمارها می‌تواند منجر به شناخت تغییرات مرتبط با تحمل به شوری باشد. در این آزمایش از پراکسید هیدروژن جهت تعیین نقش آن در افزایش تحمل گیاه گندم به شوری استفاده گردید و پاسخ‌های مختلف فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در

سطح گیاه و در پاسخ به کاربرد این تیمار بررسی گردید تا ضمن تعیین کاربردی بودن آن، صفات مرتبط با تغییرات تحمل به شوری در ارتباط با آن مشخص گردد. در مطالعات قبلی انجام یافته کمتر تمامی صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در پاسخ به پراکسید هیدروژن و شوری مورد بررسی قرار گرفته و همچنین در این مطالعه پاسخ های مختلف گیاه گندم تحت شرایط شوری و غیر شور و تحت غلظت های مختلف بررسی گردید تا تغییرات ایجاد شده تحت غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن نیز مشخص گردد. همچنین در این آزمایش از غلظت های بهینه شده پراکسید هیدروژن در کنار غلظت های متفاوت استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پیش تیمار با پراکسیدهیدروژن در کاهش اثر شوری بر رشد گیاهچه‌های گندم رقم سرداری (متحمل به خشکی) که از منابع مهم و با ارزش از نظر پایه ژنتیکی برای اصلاح گندم محسوب می‌شود و محافظت از آن جهت جلوگیری از فرسایش ژنتیکی ضروری به نظر می رسد (صادق زاده و همکاران،١٣٨٣)، آزمایشی تحت شرایط گلخانه انجام پذیرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ١٣٩٢ انجام شد. رشد گیاهچه‌های گندم در گلخانه با طول روشنایی ١٠-١٢ ساعت صورت گرفت. گلخانه از نوع گلخانه معمولی با پوشش شیشه ای و شرایط آن نزدیک به شرایط محیطی بود. میانگین دمای روز و شب در طول دوره رشد گیاه گندم به ترتیب ٢٠ و ٩ درجه سانتی گراد و میزان رطوبت نسبی حدود ٤٥-٦٠ درصد بود. بذرها جهت ضدعفونی ابتدا در اتانول ٩٦ درصد به مدت چند ثانیه قرار داده شد و توسط آب مقطر شستشو انجام گرفت. سپس به مدت ٨ ساعت در دمای خنک در ظروف کاملا پوشانده شده (جهت جلوگیری از نفوذ نور) حاوی پراکسیدهیدروژن با چهار غلظت ٠، ٢٥ ، ٥٠، ٨٠ میلی‌مولار به نحوی که بذور کاملا غوطه ور شوند قرار گرفتند. بذرهای پیش‌تیمار شده در گلدان‌هایی با ارتفاع ٣٠ سانتی متر کشت شدند. خاک گلدان‌ها شامل ٧٥ درصد خاک مزرعه و ٢٥ درصد ماسه بود. هدایت الکتریکی خاک حدود ٠/٥ دسی زیمنس بر متر بود. تیمارهای اعمال شده در گلدان‌ها از زمان کاشت و در طول دوره رشد شامل آبیاری با آب غیر شور با هدایت الکتریکی (EC) حدود ٠/٤ دسی زیمنس بر متر و دو سطح شوری آب آبیاری با غلظت‌های ٨٠ (شوری متوسط) و ١٢٠ (شوری شدید) میلی مولار نمک (کلرید سدیم) بود. آبیاری گلدانها در ابتدای کاشت هر سه روز یکبار و در طول دوره رشد با توجه به نیاز آبی گلدان‌ها، به مقدار یکسان (با توجه به بافت و حجم خاک و شرایط دمایی گلخانه در حدود ٢٠٠ سی سی) انجام شد. در طول مدت آزمایش با توجه به میزان EC خاک آبشویی گلدانها جهت جلوگیری از تجمع نمک در گلدانها انجام شد. نمونه برداری جهت اندازه گیری صفات مورد بررسی در مرحله پنج برگی گندم به شرح ذیل انجام شد.

اندازه گیری کلروفیل a و b

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش لیچتنتالر و ولبورن (١٩٨٣) استفاده شد. دراین روش ابتدا مقدار ٠/٢٥ گرم برگ تازه را با استفاده از ٥ میلی‌لیترآب مقطر در هاون چینی کاملاً ساییده گردیده تا توده یکنواختی حاصل گردید. مخلوط حاصل را به یک فالکون منتقل وحجم آن به وسیله آب مقطر به ١٢/٥ میلی-لیتر رسانده شد. سپس ٠/٥ میلی‌لیتر از عصاره نمونه برداشته و با ٤/٥ میلی‌لیتر استون ٨٠ درصد مخلوط گردید و محلول حاصل را به مدت ١٠ دقیقه در ٣٠٠٠ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس ازسانتریفیوژ، محلول رویی برداشته شد و طول موج جذب در طول موج‌های ٦٦٣ و ٦٤٦ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و کلروفیل بر اساس معادله‌های زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chlorophyll a } (\mu g/ml) = 12.21(A663) - 2.81(A646)$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu g/ml) = 20.13(A646) - 5.03(A663)$$

محتوای آب نسبی برگ (RWC)

برای تعیین محتوای آب نسبی از روش دیازپرز (٢٠٠٦) استفاده شد. ابتدا برگ جوان در موقعیت یکسان روی بوته از هر نمونه انتخاب و جدا گردید. بعد از جدا نمودن برگ از گیاه بلافاصله نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی بوسیله ترازو (با دقت ٠/٠٠١ گرم) توزین شدند (وزن تر) و سپس به مدت ٢٤ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) قرار گرفته و پس از خشک شدن آب سطحی توسط دستمال کاغذی مجدداً توزین گردیدند (وزن اشباع). پس از آن برگ‌ها به مدت ٤٨ ساعت و در دمای ٧٥ درجه سانتی‌گراد در داخل آون قرار داده شدند. پس از این مدت نمونه‌ها توزین تا وزن خشک به دست آید. از رابطه زیر محتوای آب نسبی برگ محاسبه گردید:

$$RWC = (FW - DW)/(TW - DW) * 100$$

RWC: محتوای آب نسبی، FW : وزن تر، DW : وزن خشک، TW : وزن اشباع

فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب پر اکسیدهیدروژن در ٢٤٠ نانومتر و با روش والیکوا و همکاران (٢٠٠٠) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ٥٠ میلی مولار (pH=٧) و پراکسیدهیدروژن ١٥ میلی-مولار بود. با اضافه کردن ١٠٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده واکنش شروع می‌شود. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل موجود در ١٠٠ میکرولیتر عصاره به دست آمده از روش برادفورد (١٩٧٦)، در یک دقیقه محاسبه گردید. از این نظر یک واحد آنزیمی کاتالاز معادل مقدار آنزیمی است که ١ میلی مول پراکسید هیدروژن را در یک دقیقه تجزیه می‌کند.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش ناکانو و آسادا (١٩٨١) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ٥٠ میلی‌مولار (pH=٧)، آسکوربات ٠/٥ میلی‌مولار، پراکسیدهیدروژن ٠/١٥ میلی‌مولار، EDTA ٠/١ میلی‌مولار و ٥٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان آسکوربات با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ٢٩٠ نانومتر و پس از ٢ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل موجود در ٥٠ میکرولیتر عصاره به دست آمده از روش برادفورد (١٩٧٦) گزارش گردید.

اندازه گیری نشت یونی

جهت اندازه‌گیری نشت یونی از روش فلاینت (١٩٦٦) استفاده گردید. از هر بوته یک برگ در موقعیت یکسان جدا و سپس توسط پانچر از هر برگ دیسک‌هایی تهیه و بر روی کاغذ صافی واتمن جهت حذف الکترولیت‌هایی که به سطوح آنها چسبیده است قرار داده شد و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس نمونه‌ها داخل لوله‌های درب‌دار حاوی ٥ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد و به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق نگه‌داری گردیدند. سپس هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) محلول در تماس با نمونه‌ها توسط EC متر مدل Jenway 4010 اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت قرار داده شدند. جهت پاره شدن سلول‌ها و خروج محتویات آن‌ها به محلول، عمل یخ زدن و ذوب شدن چندین بار تکرار گردید. در نهایت هدایت الکتریکی نهایی (EC_2) قرائت گردید. میزان نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\frac{EC1}{EC2} \times 100$$

اندازه گیری‌های ریشه

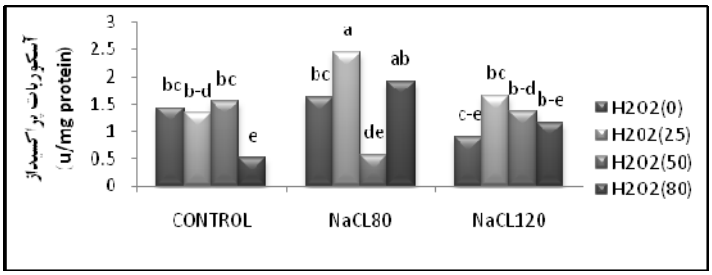
جهت اندازه گیری محتوی آب ریشه بعد از شستشوی خاک گلدان و جدا کردن ریشه‌ها وزن تر آنها اندازه گیری و جهت خشک شدن به آون با دمای ٧٠ درجه به مدت ٢٤ ساعت منتقل شد. از تفاضل وزن تر ریشه با وزن خشک ریشه میزان محتوی آب ریشه محاسبه گردید. طول ریشه از طریق میانگین ارتفاع ریشه های یک بوته اندازه گیری شد.

تجزیه های آماری با نرم افزار SAS و MSTAT-C و میانگین‌ها داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن با یکدیگر مقایسه شدند.

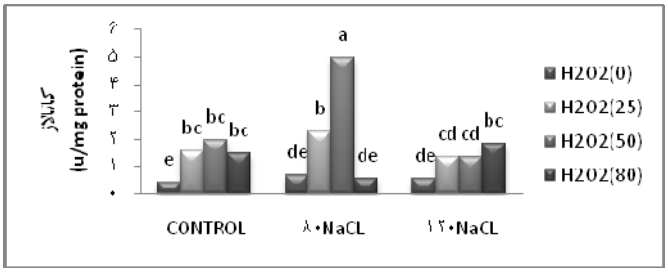
نتایج و بحث

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تاثیر معنی‌داری میزان شوری و نیز پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن قرار گرفت (جدول١). تحت شوری متوسط (٨٠ میلی مولار) و بخصوص شدید (١٢٠ میلی مولار) پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه‌ها گردید. اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که افزایش میزان شوری از ٨٠ میلی‌مولار به ١٢٠ میلی‌مولار موجب کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شاهد) گردید (شکل ١). بین عدم شوری و شوری سطح ٨٠ میلی مولار اختلافی در میزان فعالیت این آنزیم ایجاد نگردید. گیاهچه‌های حاصل از بذرهایی که با پراکسیدهیدروژن پیش تیمار شده بودند تحت تنش شوری از فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بیشتری برخوردار بودند (شکل ١). گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش تیمار شده با غلظت ٢٥ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن تحت شوری ٨٠ و ١٢٠ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب به میزان ٤٥ و ١٩ درصد بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را داشتند (شکل ١). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر شوری و پیش تیمار پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ١). بین دو سطح شوری متوسط و شدید از نظر میزان فعالیت این آنزیم اختلافی ایجاد نشد. گیاهچه‌های حاصل از بذرهایی که با پراکسیدهیدروژن پیش تیمار شده بودند تحت تنش شوری از فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری برخوردار بودند. بیشترین فعالیت آنزیم در پیش تیمار بذور با پراکسید هیدروژن با غلظت ٥٠ میلی مولار و ٨٠ میلی‌مولار به ترتیب در

شرایط شوری ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار بدست آمد. نتایج نشان داد که در شوری شدید (۱۲۰ میلی مولار) فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر غلظت بالاتر پراکسیدهیدروژن (۸۰ میلی مولار) حدود ۱۹ درصد بیشتر می‌شود و این در حالی است که غلظت بالای پراکسیدهیدروژن مانند سایر غلظت‌ها در شوری متوسط فعالیت آنزیم را افزایش نداد (شکل۲) .



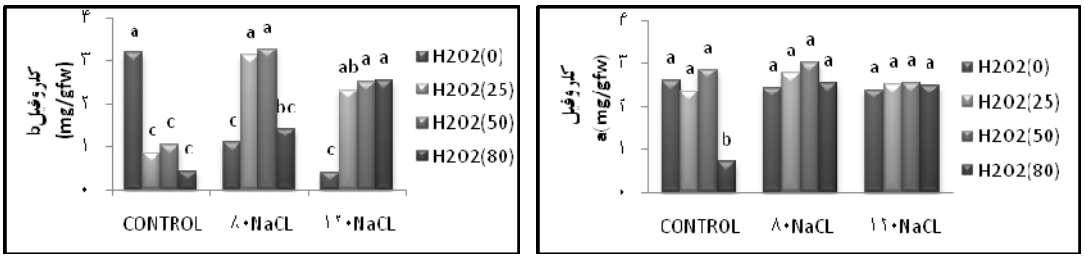
شکل ۱- میانگین آسکوربات پراکسیداز گندم پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن ۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰ میلی مولار یا آب مقطر تحت شوری های مختلف (۰، ۸۰ و ۱۲۰میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۲- میانگین کاتالاز در گندم پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن ۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰ میلی مولار یا آب مقطر تحت شوری های مختلف (۰، ۸۰ و ۱۲۰میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

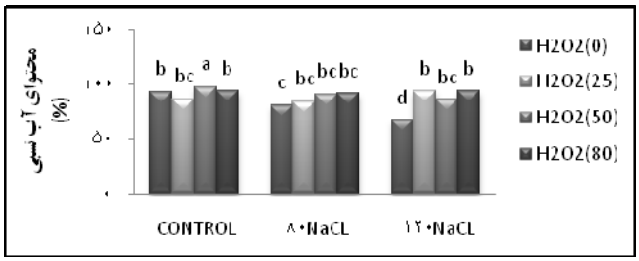
کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از مهمترین آنزیم‌های از بین برنده پراکسید هیدروژن به شمار می‌آیند. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند سبب تجمع پراکسیدهیدروژن شود که علاوه بر اجرای واکنش هابر- ویز، سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم-های چرخه کالوین نظیر ریبولوز مونو فسفات کیناز و بی فسفاتازها نیز می‌گردد (آسودا، ۲۰۰۰). کاهش فعالیت این آنزیم-ها در چرخه کالوین می‌تواند با کاهش نسبت $NADP^+/NADPH\ H^+$ در کلروپلاست سبب افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن شده و آسیب به بیومولکولها از جمله لیپیدها و کلروفیل را افزایش دهد. نتایج این آزمایش بیانگر این بود که استفاده از پراکسیدهیدروژن به عنوان پیش تیمار بر فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز اثر گذاشت و باعث افزایش میزان این دو آنزیم در شرایط تنش شوری گردید. همچنین گزارش گردیده است که پیش تیمار پراکسیدهیدروژن باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه های ذرت نیز گردیده است (فرانکلین و همکاران، ۲۰۱۰). پراکسیدهیدروژن با غلظت ۵۰ میلی‌مولار باعث تولید بیشترین میزان کاتالاز در شرایط شوری شد. در حالیکه در همین غلظت پراکسیدهیدروژن در شرایط شوری کمترین میزان آسکوربات پراکسیداز تولید شد که نشان می‌دهد با فعالیت زیاد کاتالاز نیاز به افزایش در فعالیت پراکسیداز کاهش پیدا می‌کند؛ اگرچه بین این دو آنزیم همبستگی معنی داری وجود نداشت (جدول ۲). این در حالی است که در سایر تیمارها میزان تولید آسکوربات پراکسیداز نسبت به کاتالاز در شرایط شوری تحت تأثیر پیش تیمار پراکسید هیدروژن افزایش یافته است (جو و همکاران، ۲۰۰۱; پاسترنک و همکاران، ۲۰۰۷) زیرا دامنه فعالیت کاتالاز برای سم‌زدایی آب اکسیژنه محدود و فقط در پراکسی‌زوم واقع می‌باشد (میتلر، ۲۰۰۲). اما فعالیت آسکوربات پراکسیداز در کلروپلاست، پراکسی‌زوم، سیتوسول و آپوپلاست دامنه گسترده-تری دارد (آسودا، ۱۹۹۹). افزایش میزان آنتی‌اکسیدانت‌ها می-تواند از اثر تخریب کنندگی گونه‌های اکسیژن فعال بر مولکول-های زیستی مانند کلروفیل جلوگیری کند (میتلر، ۲۰۰۲). نتایج

اندازه‌گیری میزان کلروفیل a و b نشان داد که میزان کلروفیل تحت تأثیر تنش شوری و پراکسیدهیدروژن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ١). شوری باعث کاهش محتوای کلروفیل در برگ گندم گردید. بین تنش شوری متوسط و شدید در میزان کلروفیلb وa اختلافی ایجاد نشد. بر اساس نتایج این آزمایش مشخص گردید که کاربرد پراکسیدهیدروژن به عنوان پیش تیمار در شرایط شوری میزان کلروفیل برگ گندم را افزایش داد (شکل ٣). میزان کلروفیل a در برگ گندم پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن در شوری متوسط حدود ٦ درصد افزایش یافت در حالیکه در شوری شدید اثر پیش تیمار بر میزان کلروفیل اندازه گیری شده کم بود و به میزان ناچیزی آن را افزایش داد که از نظر آماری معنی‌دار نبود. در شرایط اعمال عدم شوری پراکسیدهیدروژن با غلظت ٨٠ میلی‌مولار بطور معنی-داری میزان کلروفیل a را کاهش داد. بیشترین میزان کلروفیل b اندازه گیری شده در سطح شوری ٨٠ میلی‌مولار در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با غلظت ٢٥ و ٥٠ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن (٦٥ درصد) و در سطح شوری ١٢٠ میلی‌مولار در هر سه سطح غلظت پراکسیدهیدروژن (٨٠ درصد) بود. در اثر شوری میزان کلروفیل b کاهش پیدا کرد اما شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a نداشت (شکل ٣) . نشان داده شده است که در شرایط تنش شدید شوری کلروفیل سازی متوقف می‌گردد (کایا و همکاران، ٢٠٠٢). از طرف دیگر برخی از گیاهان در دوره تنش کلروفیل خود را حفظ می‌کنند و برخی دیگر کلروفیل خود را از دست می‌دهند (مولر و همکاران، ٢٠١٠). یکی از علل کاهش کلروفیل می‌تواند سست شدن اتصال کلروفیل با پروتئین‌های کلروپلاستی باشد که بستگی به مقدار یون‌ها دارد. تحت تاثیر شوری میزان یون های Na^+ و Cl^- افزایش یافته و در شوری شدید به حد سمیت می‌رسد متعاقب آن کاهش جذب عناصر غذایی مانند پتاسیم، کلسیم و منیزیم صورت می‌گیرد که می‌تواند یکی دیگر از دلایل کاهش کلروفیل باشد (کایا و همکاران، ٢٠٠١؛ کایا و همکاران، ٢٠٠٦). پیش تیمار با پراکسیدهیدروژن باعث کاهش اثر سوء تنش شوری بر کلروفیل b شد و حتی میزان این آن را نسبت به شاهد (عدم کاربرد پراکسیدهیدروژن) در شرایط شوری افزایش داد. بنابراین استفاده از پیش تیمار پراکسیدهیدروژن باعث افزایش توان آنتی-اکسیدانتی سلول که موجب کاهش مقدار پراکسید هیدروژن و فعالیت لیپوکسیژناز(یکی از آنزیم های دخیل در کاتابولیسم کلروفیل است) (کوستا و همکاران، ٢٠٠٥) شده و از این طریق باعث حفاظت بیشتر غشاهای سلولی و فتوسنتزی و نیز رنگیزه-های فتوسنتزی شده و مانع کاتابولیسم کلروفیل می‌گردد.

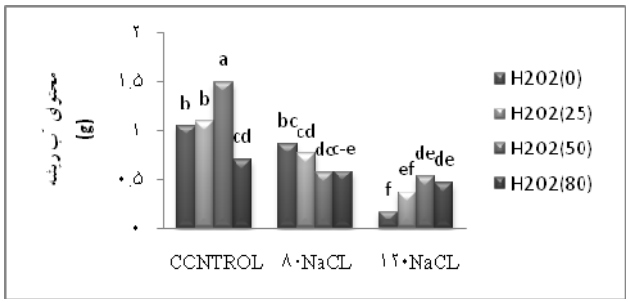


شکل ٣- میانگین کلروفیل a و b گندم پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن ٠، ٢٥، ٥٠، ٨٠ میلی‌مولار یا آب مقطر تحت شوری‌های مختلف (٠، ٨٠ و ١٢٠میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ٥ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

تنش شوری موجب کاهش محتوای آب نسبی برگ گندم گردید. بیشترین مقدار محتوای آب نسبی در شرایط عدم تنش شوری و کمترین مقدار آن در سطح شوری ١٢٠ میلی مولار حاصل گردید (شکل ٤). با توجه به نتایج بدست آمده پیش تیمار پراکسید هیدروژن در هر سه غلظت از کاهش میزان محتوای آب نسبی برگ گندم در شرایط شوری بخصوص در سطح شوری ١٢٠ میلی‌مولار جلوگیری کرد. محتوای آب نسبی برگ معیار مناسبی جهت بررسی وضعیت آبی گیاه است که با افزایش سطوح شوری در این آزمایش بطور معنی‌داری کاهش یافت که می‌تواند به دلیل کاهش پتانسیل آب خاک و افزایش جذب یون‌های کلر و سدیم باشد (فریک و پتر، ٢٠٠٢). در این آزمایش کاربرد پراکسیدهیدروژن موجب حفظ محتوای آب نسبی تحت شوری گردید و از کاهش آن جلوگیری کرد (شکل ٤). همچنین بین سطوح غلظت بکار برده شده پراکسیدهیدروژن در شرایط شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.



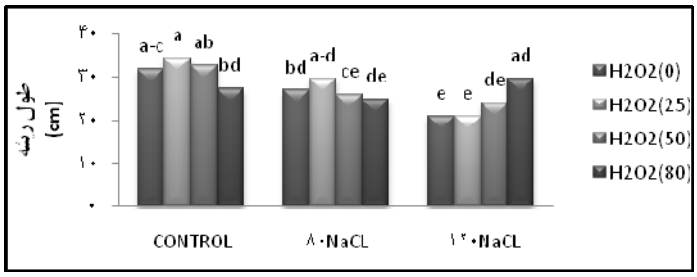
شکل ٤- محتوای آب نسبی گندم پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن ۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰ میلی مولار یا آب مقطر تحت شوری‌های مختلف (۰، ۸۰ و ۱۲۰میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۵- میانگین محتوای آب ریشه گندم پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن ۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰ میلی مولار یا آب مقطر تحت شوری‌های مختلف (۰، ۸۰ و ۱۲۰میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

کاربرد پراکسیدهیدروژن به صورت پیش تیمار بذر موجب تغییر در میزان محتوای آب ریشه در گیاهچه‌های حاصله در سطح شوری ۸۰ میلی‌مولار نگردید در حالیکه در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن از محتوای آب ریشه بالاتری نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار نشده در همین سطح شوری برخوردار بودند. غلظت‌های بالاتر پراکسید هیدروژن (۵۰ و ۸۰ میلی مولار) موجب حفظ محتوای آب بیشتر ریشه‌ها در شوری شدید گردید (شکل ۵). در شرایط عدم تنش شوری غلظت ۵۰ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن بطور معنی‌داری آب ریشه را نسبت به سایر تیمارها افزایش داد در حالیکه کمترین میزان آب ریشه در غلظت ۸۰ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن حاصل شد. همچنین بین این صفت و ارتفاع ریشه همبستگی مثبت و با میزان نشت یونی همبستگی منفی وجود داشت (جدول ۲).

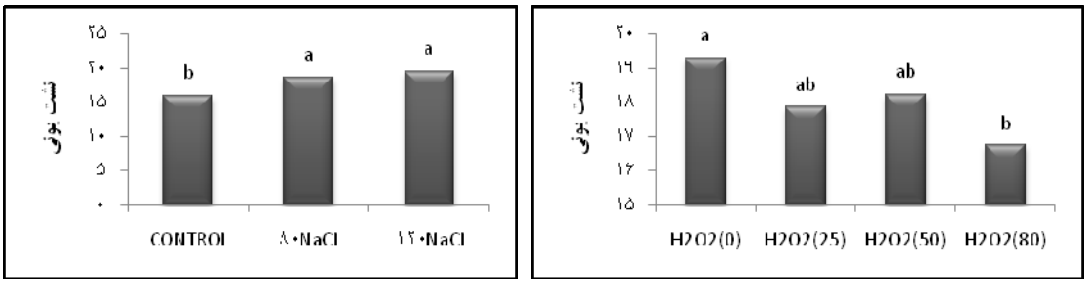
طول ریشه تحت تأثیر شوری و اثر متقابل شوری و پراکسید هیدروژن قرار گرفت در حالیکه اثر پراکسید هیدروژن به تنهایی بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج بیانگر اثر سوء شوری بر طول ریشه گندم بود (شکل ٦). طول ریشه اندازه گیری شده در شوری شدید نسبت به شرایط شوری متوسط و اعمال عدم شوری کمتر بود. پیش تیمار با پراکسیدهیدروژن باعث کاهش اثر سوء شوری بر طول ریشه گندم گردید. کاربرد غلظت بالای پراکسیدهیدروژن (۸۰ میلی مولار) در گندم رشد یافته در شوری شدید (۱۲۰ میلی مولار) اثر سوء شوری بر کاهش طول ریشه را کاهش داد به طوری که گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن در این سطح شوری از ریشه‌های طویل‌تری برخوردار بودند. پیش تیمار بذر با پراکسیدهیدروژن باعث تغییرات معنی‌داری در طول ریشه در شوری ۸۰ میلی‌مولار نگردید. طول ریشه با میزان آب ریشه همبستگی مثبت داشت (جدول ۲).



شکل ٦- میانگین طول ریشه گندم پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن ۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰ میلی مولار یا آب مقطر تحت شوری‌های مختلف (۰، ۸۰ و ۱۲۰میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

ریشه‌ها در مواجهه با تنش‌های محیطی از جمله شوری نقش مهمی در بقا و عملکرد گیاهان زراعی ایفا می‌کنند (کافی و همکاران، ۲۰۰۹) و اولین اندام گیاهی هستند که آثار تنش شوری را تجربه می‌کنند. در اثر تنش شوری طول ریشه کاهش پیدا کرد در حالیکه کاربرد پراکسید هیدروژن باعث کاهش کمتر طول ریشه در شرایط شوری گردید. حتی پیش تیمار با غلظت ۸۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار رشد ریشه را در حدود ۲۹ درصد افزایش داد (شکل ٦). همچنین نتایج مشابهی نیز از تاثیر پیش تیمار با پراکسیدهیدروژن در افزایش رشد ریشه دیگر محصولات زراعی شامل گندم (یاشی و همکاران، ۲۰۰۸)، جو (کارسات و کادرت، ۲۰۱۰) و ذرت (آزودو و همکاران، ۲۰۰۵) گزارش گردیده است. محتوای آب ریشه در شرایط شوری کاهش یافت در حالیکه پراکسید هیدروژن در سطوح بالاتر شوری (۱۲۰ میلی مولار) از کاهش زیاد محتوای آب ریشه در حدود ۱۹ درصد کاست. اگرچه در سطح شوری ۸۰ میلی‌مولار نمک کاربرد پراکسیدهیدروژن تأثیر مثبت بر حفظ آب ریشه نداشت. بیان گردیده که ریشه‌های طویل‌تر و حجیم‌تر می‌تواند موجب افزایش تحمل گیاه به تنش شوری و خشکی گردد (نور و همکاران، ۱۹۷۸؛ ویتن مایار و مرباچ، ۲۰۰۵). گزارش شده است که گیاهانی که ریشه اصلی طویل‌تر و تعداد ریشه‌های جانبی بیشتری دارند نسبت به گیاهانی که این خصوصیت را کمتر دارند تحمل بیشتری به تنش شوری دارند (سینگ و همکاران، ۲۰۰۰).

نتایج نشان داد که اثر تنش شوری و پراکسید هیدروژن بر نشت یونی معنی‌دار اما اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۱). در شرایط شوری نشت یونی افزایش یافت. در بین سطوح شوری و متوسط از نظر میزان نشت یونی اختلافی ایجاد نگردید. پراکسیدهیدروژن تأثیر معنی‌دار بر میزان نشت یونی در شرایط تنش شوری نداشت. در حالیکه در شرایط عدم تنش شوری کمترین میزان نشت یونی در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن به خصوص در غلظت ۸۰ میلی-مولار بدست آمد. میزان نشت یونی با صفاتی چون آب ریشه، وزن خشک ریشه و ارتفاع ریشه دارای همبستگی منفی بود (جدول ۲). غلظت زیاد نمک در محیط کشت باعث ایجاد تغییراتی در غشاء سلولی گیاه می‌شود و علاوه بر این میزان تراوش یونی غشاء سلولی نیز به همین تغییرات ایجاد شده بستگی دارد (کارو و همکاران، ۱۹۹۵). گزارش شده است که شوری بالا باعث آسیب زدن به قابلیت تراوش یونی و افزایش نشت یونی می‌گردد (کایا و همکاران، ۲۰۰۲). در این آزمایش شوری باعث افزایش نشت یونی شد و پراکسیدهیدروژن تأثیر معنی‌دار بر میزان نشت یونی در شرایط تنش شوری نداشت در حالیکه در شرایط عدم تنش شوری گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با پراکسیدهیدروژن دارای میزان نشت یونی کمتری بودند.



شکل ۷- میانگین نشت یونی گندم پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن ۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰ میلی مولار یا آب مقطر تحت شوری‌های مختلف (۰، ۸۰ و ۱۲۰میلی‌مولار کلرید سدیم). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱- مقادیر میانگین مربعات تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای آب نسبی	کلروفیلa	کلروفیلb	نشت یونی	طول ریشه	محتوای آب ریشه	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
تنش	۲	۱۸۹*	۱**	۲/۲**	٤۱**	۱۷۹**	۱/۵**	۲/٦**	۰/٦٦*
پراکسید هیدروژن	۳	۲۷۵**	۱**	۱/٤۵*	۱۰*	٤/۲$^{n.s}$	۰/۱**	۷/۷**	۰/۸۱*
تنش×پراکسیدهیدروژن	٦	۱٦٦**	۰/ ۸۸**	۵/۱**	۲/۸$^{n.s}$	٤۲**	۰/۱**	۳/٦**	۱**
خطا	۲٤	۳۹	۰/۱۳	۰/۳٦	۲/۹	۹/۸	۰/۰۲	۰/۱۹	۰/۱۷
ضریب تغییرات	-	۷	۱۵	۱۳	۹	۱۱	۲۱	۲۰	۲۸

*و** در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ معنی دار، ns غیر معنی دار

جدول۲- همبستگی بین صفات گندم

	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	طول ریشه	نشت یونی	کلروفیلb	کلروفیل a	محتوای آب نسبی
کلروفیلa							-۰/۰۵$^{n.s}$
کلروفیلb						۰/۵۵$^{n.s}$	۰/۳$^{n.s}$
نشت یونی					۰/۰۰۲$^{n.s}$	۰/۲۹$^{n.s}$	-۰/۵۷$^{n.s}$
طول ریشه				-۰/۸**	۰/۰۵$^{n.s}$	۰/۰٦$^{n.s}$	۰/٤$^{n.s}$
آسکوربات پراکسیداز			۰/۱۵$^{n.s}$	۰/۲۵$^{n.s}$	۰/۲۵$^{n.s}$	۰/٤٤$^{n.s}$	۰/۰۲$^{n.s}$
کاتالاز		-۰/۳۱$^{n.s}$	۰/۰۹$^{n.s}$	-۰/۱$^{n.s}$	۰/٤٤$^{n.s}$	۰/۲۹$^{n.s}$	۰/۲۵$^{n.s}$
آب ریشه	۰/۰۱$^{n.s}$	۰/۲۳$^{n.s}$	۰/۸٤**	-۰/٦٤*	-۰/۰۹$^{n.s}$	۰/۱$^{n.s}$	۰/٤۵$^{n.s}$

*و** در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ معنی دار، ns غیر معنی دار

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق پیش تیمار بذر گندم با پراکسیدهیدروژن از طریق افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و همچنین افزایش طول ریشه که باعث جذب بیشتر آب و درنتیجه افزایش محتوای آب در ریشه و اندام هوایی گیاه می‌گردد باعث کاهش اثرات سوء شوری گردید. نتایج این آزمایش همچنین نشان داد سطح بهینه پراکسیدهیدروژن این آزمایش با گزارش‌های قبلی ارائه شده مشابهت ندارد و این نتیجه می‌تواند بیانگر تفاوت پاسخ ارقام مختلف گندم به سطوح مختلف پراکسیدهیدروژن باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نوع گیاه و رقم می‌تواند در میزان مصرف غلظت پراکسیدهیدروژن موثر باشد. در نتیجه امکان

بهره‌گیری از پیش‌تیمار بذر با غلظت مشخصی از پراکسیدهیدروژن می‌تواند در رشد و تحمل بهتر گندم تحت تنش شوری به عنوان یک راهکار در اراضی کشاورزی شور ایران مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

صادق زاده اهری، د., ح. کتاتا و م. روستایی .۱۳۸۳. ارزیابی تنوع ژنتیکی صفات و خصوصیات زراعی در گندم سرداری. مجله علوم کشاورزی. جلد۱۰، شماره ۲: ۲۷-۳۸.

Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplast: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 50: 601-639.

Asada, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. Phill Trans R Soc Lond B, Biol Scie. 355:1419-1431.

Ashraf, M and J. W. O'Leary.1996. Responses of some newly evolved salt-tolerant genotypes of spring wheat to salt stress.Yield components and ion distribution. J. Agron. Crop Sci. 176: 91–101.

Ashraf, M and R. M. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment – a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. Adv Agron. 88: 223–71.

Azevedo Neto, A. D., J. T. Prisco, J. Eneas-Filho, J. Medeoros, V. R. Gomez and E. Fiho. 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces stress acclimation in maize plants. J. Plant Physiol. 162:1114-22.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Cchaorro, P., E. Olmos and A. Cerda. 1995. Salinity – induced changes in the structure and ultra structure of bean root Cell. Plant Biol. 37: 273-283.

Chamnogpol, S., H. Willeekens, W. Moeder, C. Langebartels, J.R.H. Sandermann and M.V. Montage. 1998. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H_2O_2 in transgenic tobacco. Plant Biol. 95: 818–23.

Ching, T. M. 1959. Activation of germination in douglas fir seed by hydrogen peroxide. Plant Physiol. 34: 557-563.

Costa, M., P. M. Civell, A. R. Chaves, and G. A. Martinez. 2005. Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea L.*) at 20 ˚C. Postharvest Biol. 35:191-199.

Dat, J. F., F. Vandendede, E. Vranova, M. V. Montagu, D. Inze and F. V. Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress response. Cells Mol. Life .57:779–95.

Demir Kaya, M., G. Okçu,. M. Atak,. Y. Çikili and Ö. Kolsarici. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (Helianthus annuus L.). Eur J of Agro. 24: 291-295.

Diaz-Perez, J. C., K. A. Shackel and E. G. Sutter. 2006. Relative water content. Ann of Bot. 97(1): 85-96.

Franklin, A., G. F. Enéas, F. Claudivan, T. P. José, D. André, N. Azevedo and C. Elton. 2010. Pretreatment with H2O2 in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. Braz. J. Plant Physiol. 22(2): 103-112.

Flinet. H. I., B. R. Boyce and D. J. Beattie. 1966. Index of injury drought a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method. Can. J. Plant Sci. 47: 229-230.

Foyer, C. H., H. Lopez-Delgado, J. F. Dat and I. M. Scott. 1997. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanism of acclamatory stress tolerance and signaling. Physiol Plant. 100: 241–54.

Fricke, W and W. S. Peter. 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed. A study at the cell level. Plant Physiol. 129: 374-388.

Gong, M., B. Chen, Z.G. Li and L.H. Guo .2001. Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt in maize seedlings and involvement of H_2O_2. J. Plant Phyisol. 158:1125–1130.

Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J. K. Zhu and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu Rev Plant Biol. 51: 463-499.

Hung, S. H., C. W. Yu and C. H. Lin. 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. Bot Bull Acad Sin .46: 1–10.

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

Jann, R. C and R. D. Amen. 1977. What is germination? In: Khan AA (ed), The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination, North Holland Publishing, Amsterdam. 7- 28.

Joo, J.H., Y.S. Bae and J.S. Lee. 2001. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. Plant Physiol. 126: 1055–1060.

Kafi, M., M. Barzoii, A. Salehi, A. Kamandi, A. Masomi and J. Nabati. 2009. Environmental stress in plant physiology. Mashhad University of jihad publications.502pp.

Kaya, C., D. Higges and H. Kirnak. 2001. The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. Bulg J Plant Physiol. 27: 47-59.

Kaya, C., H. Kirnak, D. Higgs and K. Satali. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. Plant Horti. 93:65-74.

Kaya, M. D., G. Okcu, M. Atak and O. Kolsarici. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination of sunflower (*Helianthus annus L.*). Eur. J. Agron. 24: 291-295.

Kürsat, C. and K. Kudret. 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. Eur. Asia. J. Bio. Sci. 4:70-79

Lichtenthaler, H.K. and A.R. Wellburn.1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. Biol. Soc. Trans. 11: 591–592.

Mishra, N. P., R. K. Mishra and G. S. Singhal. 1995. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visual light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. Plant Physiol. 102: 903–910.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Scie. 7: 405-410.

Muller, T., D. Luttchwager and P. Lentzsch. 2010. Recovery from drought stress at the shooting stage in oilseed crop (*Brassica napus L.*). J. Agron. Crop Sci. 196(2): 81-89.

Munns, R and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ. 25(2): 239-250.

Nakano, Y and K. Asada .1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.

Noctor and C. H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 49: 249-279.

Nour, A. M., D. E. Weibel and G. W. Tood. 1978. Evaluation of root characteristics in grain sorghum. Agron J. 70: 217-218.

Ogawa, K and M. A. Iwabuchi. 2001. Mechanism for promoting the germination of *Zinnia elegans* seeds by hydrogen peroxide. Plant Cell Physiol. 42: 286–291.

Pasternak, T. P., O.S.K. Tvo, M. Domoki and A. Fehe. 2007. Linked activation of cell division and oxidative stress defense in alfalfa leaf protoplast-derived cells is dependent on exogenous auxin. Plant Growth Regul. 51: 109–117.

Sairam, R.K. and A. Tyagi. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Curr Sci. 86: 407-421.

Sairam, R.K,. G.C. Srivastave, S. Agarawal and R. C. Meena. 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biol Plant. 49: 85–91.

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

Sarath, G., R. Mitchell., G. Hou and L. M. Baird. 2007. Reactive oxygen species, ABA and nitric oxide interactions on the germination of warm-season C4-grasses. Planta. 226: 697-708.

Singh, D. N., A. M. Masood and D. S. Basu. 2000. Genetic variation in dry matter partitioning in shoot and root influences of chickpea to drought. 3rd International Crop Science Congress, Hamburg, Germany. pp17-22.

Vaidyanathan, H., P. Sivakumar, R. Chakarbarti and G. Thomas. 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl stressed rice (*Oryza sativa L.*) differential response in salttolerant and sensitive varieties. Plant Sci. 165: 1411–8.

Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. Plant Sci.151: 59-66.

Wahid, A., M. Perveen., S. Gelani and S. M. Basra. 2007. Pretreatment of seed with H_2O_2 improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. Plant Physiol. 164: 283–294.

Wittenmayer, L. and W. Merbach. 2005. Plant responses to drought and phosphorus deficiency Contribution of phytohormones in root-related processes. J. Plant Nutr. Soil Sci. 168(4): 531-540.

Yushi, I., Y. Kouhei, T. Tomoya, Y. Takashi and M. Iwaya-Inoue. 2008. Hydrogen peroxide scavenging regulates germination ability iwheat (*Triticum aestivum* L.) seed maturation Plant Signal Behav. 3(3):183–188.

Zhang, J. and M.B. Kirkham. 1996. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, acid and propyl gallate. Plant Physiol. 149: 489–493.

Zhu, J. K. 2007. Plant Salt Stress: John Wiley & Sons, Ltd.

Reduce the negative effect of salinity on wheat via pretreatment seed with hydrogen peroxide (H_2O_2)

T. Jafarian[1], M. J. Zarea[2]

Received: 2014-1-25 Accepted: 2015-5-28

Abstract

Increasing salinity is a major problem in crop production area, especially wheat. Selection a suitable seed pretreatment methods can enhance salinity tolerance and facility early establishment of plant under salinity condition. The purpose of this study was to investigate the effect of hydrogen peroxide (H_2O_2) pretreatment on morphological, physiological and biochemical characteristics of wheat seedling under salt stress conditions. In this regards a greenhouse experimentation carried out as factorial based on randomized complete blocks design with three replications. Treatments were consisted of three levels of salinity (0, 80 and 120 mM NaCl) and four levels of hydrogen peroxide (0, 25, 50, 80 mM). Hydrogen peroxide caused an increase in catalase and ascorbate peroxidase in wheat seedling under salinity condition. This increase was associated with reducing the damage of free radicals in produced wheat. Under salinity stress pretreated wheat seed with hydrogen peroxide had higher chlorophyll (66%) and relative water contents (28%). However hydrogen peroxide reduced the negative effect of salinity on absorbed water (19) and length and root dry weights of wheat seedling but there was no significant effect between hydrogen peroxide and ionic leakage. Under salinity of 120 mM NaCl pretreatment of seed with hydrogen peroxide enhanced length of root by 29% compared to control. Overall seed priming with hydrogen peroxide through modulate and improved the physiological and biochemical characteristics increased tolerance of wheat to salt stress.

Keywords: Ascorbate peroxidase, catalase, roots, relative water content

1- Department of Agronomy and Crop Breeding, Ilam University, Ilam, Iran