نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد دهم، شماره ۳(۳۹)، پاییز ۱۳۹۵، صفحه ۷۳۰-۷۱۷

پیش تیمار پراکسید هیدروژن بر برخی خصوصیات مورفو- فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گندم تحت تنش شوری

طیبه جعفریان [۱] و محمدجواد زارع [۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۱ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۴/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۲۳

چکیده

شوری از جمله عوامل اصلی کاهش تولیدات زراعی در مناطق خشک جهان محسوب می‌گردد. در این آزمایش اثرات شوری بر خصوصیات فیزیولوژیک، مورفولوژیک و اجزای عملکرد گندم (رقم سرداری) تحت پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح شوری (صفر، ۸۰، ۱۲۰ میلی‌مولار) و پراکسید هیدروژن در چهار سطح شامل غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۸۰ میلی‌مولار بودند. در این مطالعه، تنش شوری تمامی اجزای عملکرد و نیز سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها، رنگیزه‌ها و تعداد و طول روزنه‌های برگ را تحت تاثیر قرار داد. پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن از طریق تأثیر مثبت بر روابط آبی گیاه، رنگیزه‌ها و نیز مساحت سطح برگ و روزنه اثر سوء شوری را بر عملکرد کاهش داد. گیاهان حاصل از بذرهای پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن از محتوای نسبی آب، رنگیزه کلروفیلی و کاروتنوئیدی بالاتر، مساحت سطح برگ بیشتر و تعداد روزنه کمتر و طول روزنه بیشتر تحت تنش شوری نسبت به شاهد برخوردار بوده و در عین حال دارای اثر سودمند پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن بر کاهش اثر سوء تنش شوری بودند.

واژگان کلیدی: پراکسید هیدروژن، شوری، گندم، مرفو-فیزیولوژیک.

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی،دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام ، ایران
۲- دانشیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایران (* نگارنده‌ی مسئول)
mj zarea@ ymail.com

مقدمه

شوری یکی از عوامل محیطی است که در حدود یک سوم زمین‌های کشاورزی جهان را تحت تأثیر خود قرار داده است و در مناطق خشک و نیمه خشک به‌عنوان مشکلی جدی مطرح می‌باشد. در این مناطق کمبود آب و بارندگی محدود، گرمای زیاد، تبخیر و تعرق بالا، کیفیت پایین آب‌های کشاورزی یا روش‌های نادرست کشاورزی و مدیریت ضعیف در سیستم‌های آبیاری این مشکل را جدی‌ترکرده است (Shibli *et al*., 2007). گندم یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در ایران و گیاهی نسبتاً متحمل به شوری، با آستانه تحمل به شوری۶ دسی‌زیمنس بر متر می‌باشد (Colmer *et al*., 2006). تنش شوری به دلیل اثرات اسمزی بر فعالیت‌های متابولیک مختلف، کمبود آب را القا می‌کند که این کمبود آب منجر به تنش اکسیداتیو از طریق افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که منجر به صدمه سلولی از طریق اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Mudgal *et al*., 2010). البته شواهدی قانع‌کننده در ارتباط با نقش بیولوژیکی و سیگنالی ROSها به‌خصوص پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به عنوان یک پیام رسان مولکولی در گیاهان وجود دارد (Hung *et al*., 2005). پراکسید هیدروژن در گیاهان به‌عنوان تنظیم کننده فرآیندهای اصلی مانند آسیمیلاسیون، فتوسنتز، تنفس، هدایت روزنه‌ای، چرخه سلولی، رشد و توسعه نقش دارد (Gill and Tuteja, 2010). به‌طورکلی، پراکسید هیدروژن هنگام گسترش تنش‌ها افزایش می‌یابد و بعضی محققین معتقد هستند که پراکسید هیدروژن فاکتور کلیدی در پدیده‌های آسیمیلاسیون و تحمل به تنش است (Neill *et al*., 2002)، همچنین راه‌کارهای مختلف مانند پیش تیمار کردن بذور قبل از کشت که روشی آسان، کم هزینه و با ریسک کم است باعث کاهش مشکلات ناشی از تنش‌های محیطی می‌شود (Wahid and Shabbir, 2005; Santhy *et al*., 2014). پیش تیمار بذر فرآیند از دست‌دهی آب را کنترل کرده و باعث می‌شود فعالیت‌های متابولیکی قبل از به وجود آمدن رادیکال‌های آزاد انجام شود (Sivritepe *et al*., 2005). با توجه به گسترش خاک‌های شور و کاهش تولید محصول تحقیقی با هدف ارزیابی اثر پیش تیمار بذر گندم با پراکسید هیدروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و کاهش اثرات سوء شوری بر رشد و عملکرد گندم اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر پیش تیمار بذر گندم (رقم سرداری) با پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در تحمل به تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. برای ضدعفونی کردن بذرها در اتانول ۹۶ درصد به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شد و سپس توسط آب مقطر شستشو انجام گرفت. سپس به مدت ۸ ساعت در پراکسید هیدروژن با سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۸۰ میلی‌مولار و نیز در آب مقطر (شاهد) قرار گرفتند. بذرهای پیش‌تیمار شده (تعداد ۱۰ بذر در هر گلدان) در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند. خاک گلدان‌ها شامل مخلوطی از خاک مزرعه و کود حیوانی پوسیده شده با هدایت الکتریکی حدود ۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. تیمارهای اعمال شده شوری در گلدان‌ها شامل آب مقطر، محلول ۸۰ (شوری متوسط) و ۱۲۰ (شوری شدید) میلی مولار نمک (کلرید سدیم) بود. آبیاری گلدان‌ها هر سه روز یک‌بار و در طول مدت آزمایش با توجه به میزان EC خاک آب‌شویی گلدان‌ها جهت جلوگیری از تجمع نمک در گلدان‌ها انجام شد.

نمونه‌برداری پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مرحله گلدهی و اجزای عملکرد در مرحله رسیدگی کامل گندم انجام شد.

محتوای آب نسبی برگ (RWC): برای تعیین محتوای آب نسبی از روش دیازپرز و همکاران (Diaz-Perez *et al*., 2006) استفاده شد. ابتدا تعدادی مساوی برگ رسیده و جوان از هر نمونه انتخاب و جدا گردید. بعد از جدا نمودن برگ‌ها از گیاه بلافاصله نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (وزن تر) و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) قرار گرفته و پس از خشک شدن آب سطحی مجدداً توزین شدند (وزن اشباع). پس از آن برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه سلسیوس در داخل آون الکتریکی قرار داده شدند. پس از این مدت نمونه‌ها توزین تا وزن خشک به‌دست آید. از رابطه زیر محتوای آب نسبی برگ محاسبه گردید.

$$RWC= (FW – DW)/(TW – DW)\times 100$$

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 پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر و با روش والیکوا و همکاران (Velikova *et al*., 2000) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار می‌باشد. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش شروع می‌شود. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره (به‌دست آمده از روش Bradford, 1976)، در یک دقیقه محاسبه گردید.

یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول پراکسید هیدروژن را در یک دقیقه تجـــزیه می‌کند.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۰/۱۵ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، میزان آسکوربات پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره (به‌دست آمده از روش Bradford, 1976)، گزارش شد.

اندازه‌گیری نشت یونی: جهت اندازه‌گیری نشت یونی از روش فلینت و همکاران (Flinet *et al*., 1966) 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 و با آب مقطر شستشو داده شد. سپس نمونه‌ها داخل لوله‌های درب‌دار حاوی ۵ میلی‌لیتر آب مقطر (با هدایت الکتریکی تعیین شده به‌عنوان EC_1) قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگه‌داری گردیدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. جهت پاره شدن سلول‌ها و خروج محتویات آنها به محلول، عمل یخ زدن و ذوب شدن چندین بار تکرار شد.در نهایت هدایت الکتریکی نهایی (EC_2) قرائت گردید.

میزان نشت یونی با استفاده از نسبت EC_1 به EC_2 به صورت درصد محاسبه گردید.

اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کاروتنوئید: برای اندازه‌گیری کلروفیل مطابق با روش لیشتن‌تالبر و

ولبرن (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) انجام گرفت. دراین روش ابتدا مقدار ۰/۲۵ گرم برگ تازه را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به‌دست آید. مخلوط حاصل را به یک فالکون منتقل کرده و حجم آن به وسیله آب مقطر به ۱۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره نمونه برداشته و با ۴/۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط کرده و محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی برداشته شده و در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر طول موج جذبی قرائت و کلروفیل بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$Chl\ a\ \mu(g/ml)=12.21(A663) - 2.81\ (A646)$$
$$Chl\ b\ \mu(g/ml)=20.13(A646) – 5.03\ (A663)$$
$$Car=[(1000A470-1.8\ Chl.a-85.02Chl.b)/198]$$

اندازه‌گیری تعداد و طول روزنه: جهت اندازه گیری تعداد و طول روزنه‌های برگ از روش تیر و همکاران (Tear *et al*., 1971) استفاده گردید. برای این منظور نمونه‌های برگی از محلی یکسان در هر گیاه انتخاب و نمونه‌گیری از روزنه‌ها در نقاط یکسان از سطح رویی و زیری برگ انجام گردید. به این صورت که لایه‌ای نازک از یک لاک شفاف ناخن که با استون رقیق شده بود بر روی سطح برگ کشیده و پس از خشک شدن، با استفاده از نوار چسب، لایه خشک شده لاک از روی سطح برگ برداشته و روی لام منتقل گردید. سپس لام را که حاوی کپی اپیدرم برگ بود در زیر میکروسکوپ نوری قرار داده و تعداد روزنه‌ها با بزرگ‌نمایی ۱۰ × ۴۰ شمارش گردید. جهت اندازه‌گیری طول روزنه‌ها از یک عدسی چشمی مجهز به یک خط‌کش میکرومتر استفاده شد و طول روزنه‌ها در مساحت ۰/۰۲۳۴ میلی‌متر مربع (مساحت چشمی میکروسکوپ) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مساحت و سطح ویژه برگ (SLA): به‌منظور تعیین سطح ویژه برگ از برگ‌هایی که در موقعیت یکسان روی بوته قرار داشتند نمونه‌برداری شد. جهت به دست آوردن مساحت برگ (LA) نمونه‌های برگی که بر روی کاغذ A_4 چسبانده شده بودند اسکن شدند. تصاویر مربوط به برگ‌ها توسط نرم‌افزار Scion Image آنالیز شده و مساحت برگ‌ها بر حسب سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها را از کاغذ A_4 جدا نموده و به منظور تعیین میزان خشک (W) بر حسب گرم در آون ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند.

سطح ویژه برگ با استفاده از نسبت سطح برگ به وزن خشک برگ محاسبه گردید.

تجزیه های آماری داده‌های آزمایش با نرم‌افزار SAS و MSTAT-C و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار دانکن با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

به منظور کاهش اثرات نامطلوب تنش استفاده از مواد شیمیایی هم از دیدگاه عملی و هم نظری پیامدهای بزرگی به همراه دارد (Sivritepe *et al*., 2005). تولید پراکسید هیدروژن به صورت داخلی یا اعمال خارجی آن در غلظت‌های بالا به عنوان یک عامل اکسیدکننده قوی در برابر آسیب‌های سلولی و خسارات فتوسنتزی است (Samuilov *et al*., 2001; Sairam *et al*., 2002) اما در غلظت پایین به‌عنوان سیگنال تنش عمل می‌کند (Dat *et al*., 2000; Desikan *et al*., 2004). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر میزان شوری، پیش تیمار بذر با پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۱). اندازه‌گیری فعالیت آنزیم

آسکوربات پراکسیداز نشان داد که افزایش میزان شوری از ۸۰ میلی‌مولار به ۱۲۰ میلی‌مولار موجب کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردید (جدول ۲). گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش تیمار شده با غلظت ۲۵ و۵۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن به‌ترتیب تحت شوری ۱۲۰ و۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را داشتند (جدول ۲) در حالی که غلظت پراکسید هیدروژن ۸۰ میلی‌مولار در شوری متوسط باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم اما در شوری شدید موجب افزایش فعالیت آنزیم در این غلظت شد (جدول ۲). تنش‌های محیطی سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست و دیگر اندامک‌های سلولی گیاه می‌شود. کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آیند. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شود. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها درچرخه کالوین می‌تواند با کاهش نسبت $NADP+/NADPH\ H^+$ در کلروپلاست سبب افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن شده و آسیب به بیومولکول‌ها ازجمله لیپیدها و کلروفیل گردد (Mudgal *et al*., 2010). آسکوربات پراکسیداز در پاک‌سازی ROS و حمایت از سلول‌های گیاهان و دیگر ارگانیزم‌ها نقش اساسی دارد (Gill and Tuteja, 2010). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر پیش تیمار پراکسید هیدروژن و اثر متقابل تنش در پراکسید هیدروژن قرار گرفت در حالی‌که اثر تنش معنی‌دار نبود (جدول ۱). گیاهچه‌های حاصل از بذرهایی که با پراکسید هیدروژن 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 ۵۰ و ۲۵ میلی‌مولار در شرایط شوری متوسط و شدید به‌دست آمد. این در حالی است که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تنش شوری متوسط و شدید کاهش یافت (جدول ۲). پیش تیمار بذور با پراکسید هیدروژن در برخی از محصولات شامل جو (Kursat and Kurdat, 2010) و پنبه (Santhy *et al*., 2014) نیز باعث افزایش میزان آنتی اکسیدان‌ها مانند پراکسیداز و کاتالاز گردید. در حالی‌که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شاهد) و کاتالاز (شاهد) تحت تأثیر شوری کاهش یافت.

گزارش شده است که تنش شوری باعث کاهش میزان محتوای آب نسبی در شرایط تنش شوری نسبت به عدم تنش شوری می‌شود (Santos *et al*,. 2002). در این تحقیق، تنش شوری احتمالاً از طریق کاهش سرعت طویل شدن و توسعه‌ی سلول‌ها بر اثر تورژسانس سلول‌ها و با ضخیم شدن دیواره‌ی سلول‌ها (Fricke and Peters, 2002) باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ شد (جدول ۲). به‌طوری‌که، بیشترین مقدار محتوای آب نسبی در شرایط عدم تنش شوری و کمترین مقدار در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار حاصل گردید (جدول ۲). با توجه به نتایج به‌دست آمده پیش تیمار پراکسید هیدروژن در هر سه غلظت از کاهش میزان محتوای آب نسبی برگ گندم در شرایط شوری ۸۰ میلی‌مولار جلوگیری کرد. بیشترین میزان محتوی آب نسبی گیاهچه‌های به‌دست آمده از بذور پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن تحت شوری متوسط در غلظت ۸۰ میلی‌مولار بود. در حالی‌که تحت شوری شدید غلظت پایین پراکسید هیدروژن (۲۵ میلی‌مولار) مانع کاهش محتوی آب نسبی برگ گندم شد (جدول ۲). شوری از طریق آسیب زدن به قابلیت تراوش یونی باعث افزایش نشت یونی شد (Dehshiri *et al*., 2012) در حالی‌که پیش تیمار پراکسید هیدروژن باعث کاهش نشت یونی در شرایط شوری ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار شد (جدول ۲).

پیش تیمار پراکسید هیدروژن در غلظت بالاتر (۸۰ میلی مولار) تحت شوری ۸۰ میلی‌مولار باعث کاهش نشت یونی شد در حالی‌که در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار، غلظت ۸۰ و ۵۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن در کاهش نشت یونی مؤثرتر بود (جدول ۲). نفوذ پذیری بیشتر غشا سلولی در نتیجه تنش‌های محیطی، افزایش نشت محلول‌های سلولی مانند پتاسیم، آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها و در مجموع الکترولیت‌های مختلف به خارج از سلول را در پی دارد (Mandhanis *et al*., 2006). همچنین، پیش تیمار پراکسید هیدروژن از طریق افزایش میزان آنتی-اکسیدان‌هایی مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مانع پراکسیداسیون لیپیدها شده و در نتیجه باعث کاهش نشت یونی در شرایط شوری شدید شد (Santhy *et al*., 2014).

نتایج اندازه‌گیری میزان کلروفیل a نشان داد که میزان آن تحت تأثیر تنش شوری، پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۱). شوری باعث کاهش محتوای کلروفیل a در برگ گندم گردید. میزان کلروفیل تحت تأثیر تنش شدید کاهش یافت در حالی‌که شوری متوسط تأثیر معنی‌داری بر کلروفیل *a* نداشت (جدول ۲). کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش به‌وسیله خسارت گونه‌های فعال اکسیژن به کلروپلاست می‌باشد (Manivannan *et al*., 2007). در این آزمایش، افزایش مقدار کلروفیل می‌تواند یکی از مکانیسم‌های افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری باشد. پیش تیمار پراکسید هیدروژن از طریق کاهش تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث کاهش تخریب غشا کلروپلاستی و در نتیجه جلوگیری از کاهش میزان کلروفیل تحت تنش شوری ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار شد. بیشترین تأثیر پراکسید هیدروژن بر میزان کلروفیل در غلظت ۵۰ و ۲۵ میلی‌مولار به‌ترتیب در شوری متوسط و شدید بود (جدول ۲). بر اساس نتایج این آزمایش مشخص گردید کاربرد پراکسید هیدروژن به عنوان پیش تیمار در شرایط شوری میزان کلروفیل b برگ گندم را افزایش داد (جدول ۲). پیش تیمار پراکسید هیدروژن با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نسبت به سایر غلظت‌ها از کاهش میزان کلروفیل b تحت شوری متوسط و شوری جلوگیری کرد در حالی‌که در شوری متوسط غلظت ۵۰ میلی‌مولار تأثیر مثبتی بر کاهش اثر سوء تنش شوری بر میزان کلروفیل نداشت (جدول ۲). نتایج اندازه‌گیری میزان کلروفیل a و b نشان داد که میزان کاهش کلروفیل b بیشتر از کلروفیل a بود. زیرا در اثر تنش، مقدار کمپلکس پروتئینی جذب کننده نور chla/b موجود در فتوسیستم II به شدت کاهش پیدا می‌کند. بخش کلروفیل b این کمپلکس پروتئینی درون غشای کلروپلاست است که در اثر تنش شوری، غشا تخریب شده و میزان کلروفیل b کاهش می‌یابد. همچنین، شوری زوال رنگیزه‌های کلروفیلی را در گیاهانی مانند ذرت (Nadeem *et al*., 2006) و جو (Zeng *et al*., 2013) تسریع کرده و نیز موجب کاهش هدایت دی‌اکسیدکربن و میزان کلروپلاست، کوچک‌تر شدن فضای بین سلولی و در نهایت کاهش فتوسنتز در گیاهان می‌گردد. شوری موجب اختلال در فعالیت آنزیم‌های سازنده رنگیزه‌های کلروفیلی می‌گردد. کاهش در جذب عناصر معدنی (به‌عنوان مثال منیزیم) مورد نیاز جهت بیوسنتز کلروفیل از دیگر تأثیرهای تنش شوری است.

کاروتنوئید که از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی محلول در چربی است و از سلول در مقابل رادیکال‌های آزاد و اکسیژن منفرد حمایت می‌کند (Hidalgo *et al*., 2006) تحت تنش شوری کاهش پیدا کرد (جدول ۲). پراکسید هیدروژن با غلظت ۵۰ و ۲۵ میلی‌مولار از کاهش میزان کاروتنوئید تحت

تنش شوری متوسط جلوگیری کرد در حالی‌که پیش تیمار پراکسید هیدروژن در هر سه غلظت مخصوصاً ۲۵ میلی‌مولار تحت تنش شدید باعث کاهش کمتر کاروتنوئید شد (جدول ۲). کاروتنوئید به‌عنوان رنگدانه نوری فرعی، جمع کننده نوری در ممانعت از آثار مخرب تنش نوری نیز ایفای نقش دارد. این رنگدانه بر نسبت بازتاب نور ورودی بر روی برگ و در نتیجه گرم شدن برگ مؤثر است(Carter and Knapp, 2001).

برگ‌های سبز منبع تولید مواد فتوسنتزی برای گیاه می‌باشند. مساحت سطح برگ گندم تحت تأثیر تنش و پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۱). تنش اسمزی ناشی از شوری، آستانه فشار آماس لازم برای رشد سلول‌های برگ را افزایش داده و در نهایت منجر به کاهش سطح برگ شد (جدول ۲). در حالی‌که پیش تیمار پراکسید هیدروژن در غلظت ۲۵ و ۸۰ میلی‌مولار تحت تنش شوری متوسط باعث کاهش اثر سوء شوری بر مساحت سطح برگ شد و در شوری شدید هر سه غلظت پراکسید هیدروژن به‌طور جزیی تأثیر مثبت بر این صفت داشت (جدول ۲). کاهش سطح برگ به واسطه شوری باعث کاهش میزان فتوسنتز گیاه و تبادل CO_2 (Munns and Tester, 2008) از طریق برهم زدن تعادل متابولیکی، کمبود مواد معدنی و تنش اسمزی موجب بستن روزنه‌ها (Parida and Das, 2005) و همچنین کاهش طول روزنه‌ها در سطح رو و زیربرگ می‌شود (Juan *et al*., 2005). سطح ویژه برگ تحت تأثیر تنش، پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۱). سطح ویژه برگ نشان دهنده ضخامت برگ است. پیش تیمار پراکسید هیدروژن در سطوح غلظت ۵۰ و ۸۰ میلی‌مولار سطح ویژه برگ را تحت تنش شوری متوسط کاهش داد در حالی‌که در شوری شدید هر سه غلظت پراکسید هیدروژن باعث کاهش سطح ویژه برگ شد (جدول ۲) که نشان‌دهنده ضخیم‌تر بودن برگ است و در واقع غلظت کلروپلاست، کلروفیل و تعداد سلول‌های مزوفیل آن بیشتر می‌باشد، بنابراین هدررفت نوری یا نوری که از آن عبور می‌کند کمتر است در نتیجه توان فتوسنتزی آن بیشتر است (Shirani Rad, 2005).

تنش شوری به‌طور جزیی باعث کاهش طول روزنه رویی برگ شد (جدول ۲). در حالی‌که پیش تیمار پراکسید هیدروژن باعث افزایش طول روزنه شد. در شوری ۸۰ میلی‌مولار کاربرد پیش تیمار پراکسید با غلظت ۸۰ میلی‌مولار و در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن با غلظت ۵۰ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را بر طول روزنه داشتند (جدول ۲). تعداد روزنه رویی و زیری برگ در شرایط تنش شوری متوسط و شدید افزایش یافت (جدول ۲ و۳). در شرایطی که میزان آب کافی در دسترس گیاه باشد، در مقایسه با شرایطی که گیاه تحت تنش قرار می‌گیرد، تراکم روزنه‌ها کمتر است. به نظر می‌رسدکه دلیل افزایش تعداد روزنه در شرایط تنش شوری،کاهش سطح برگ است (جدول ۲). در گیاهچه‌های حاصل از پیش تیمار پراکسید هیدروژن تعداد روزنه‌های زیری و رویی برگ به دلیل کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری بر مساحت سطح برگ نسبت به عدم استفاده از پیش تیمار کمتر بود (جدول ۲ و ۴). تعداد روزنه زیری در شوری متوسط و شدید به‌ترتیب تحت تأثیر غلظت ۲۵ و ۸۰ میلی‌مولار پیش تیمار پر اکسید کاهش یافت (جدول ۲). تنش شوری از طریق بسته شدن روزنه‌ها و آسیب رساندن به واکنش‌های فتوشیمیایی و آسیمیلاسیون کربن بر فتوسنتز اثر گذاشته و در نهایت باعث کاهش عملکرد در گیاه می‌شود (Liu *et al*., 2011). در حالی‌که پیش تیمار پراکسید هیدروژن با کاهش اثر سوء تنش بر طول روزنه (جدول ۲) باعث

بهبود هدایت روزنه‌ای و کاهش اختلال در فرآیندهای متابولیکی در جذب کربن در شرایط شوری می‌شود.

تعداد سنبلچه در شرایط شوری (جدول ۱) متوسط و شدید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت در حالی‌که تعداد سنبلچه در گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن کمتر تحت تأثیر تنش شوری متوسط و شدید کاهش یافت. پیش تیمار پراکسید هیدروژن بخصوص غلظت ۵۰ میلی‌مولار در هر دو سطح شوری باعث کاهش کمتر تعداد سنبلچه شد (جدول ۲). تعداد دانه در هر سنبله تحت تأثیر تنش شوری و اثرات متقابل تنش شوری× پراکسید هیدروژن قرار گرفت در حالی که اثر پراکسید هیدروژن معنی‌دار نبود (جدول ۱). تعداد دانه در هر سنبله تحت تأثیر تنش شوری کاهش یافت. بذور پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن موجب کاهش کمتر تعداد دانه تحت تنش شوری شد. در شوری متوسط غلظت ۸۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن تأثیر مثبت بر تعداد دانه در سنبله داشت در حالی‌که در همین سطح غلظت شوری، تعداد دانه در سنبله کاهش یافت. در شوری شدید بذور پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن با غلظت ۵۰ میلی‌مولار از تعداد دانه بیشتری در سنبله برخوردار بودند (جدول ۲). به نظر می‌رسد اعمال تیمارهای مختلف شوری سبب نابارور شدن سنبلچه‌ها و همچنین کاهش انتقال مواد فتوسنتزی به دانه‌ها شده است. کاهش تعداد دانه در هر سنبله ممکن است هم نتیجه کاهش تعداد سنبلچه در هر سنبله و هم ناشی از عقیمی گلچه‌های موجود در هر سنبله می‌باشد.

وزن دانه در تک بوته تحت تأثیر شوری و اثر متقابل شوری× پراکسید هیدروژن قرار گرفت در حالی‌که اثر پراکسید هیدروژن معنی‌دار نبود (جدول ۱). وزن دانه در شرایط شوری کاهش یافت. تحت شرایط شوری متوسط پیش تیمار پراکسید هیدروژن در هر سه غلظت به‌طور معنی‌دار باعث کاهش کمتر وزن دانه شد. در شوری شدید غلظت ۵۰ و ۲۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن بر این صفت تأثیر مثبت داشت در حالی‌که غلظت ۸۰ میلی‌مولار به‌طور معنی‌دار باعث کاهش وزن دانه شد (جدول ۲). کاهش وزن دانه از طریق کوتاه شدن دوره پر شدن دانه و تسریع در بلوغ دانه‌ها است (Francois *et al*., 1994). به همین دلیل با اعمال تنش شوری در مراحل اولیه نمو گیاه وزن دانه گندم کاهش پیدا کرد. در حالی‌که پیش تیمار پراکسید هیدروژن در هر دو سطح شوری با بهبود وضعیت آبی گیاه و کاهش اثرات سوء تنش از طریق افزایش میزان آنتی اکسیدان‌ها و محتوای آب نسبی، کلروفیل، مساحت سطح برگ و کاهش نشت یونی باعث کاهش کمتر تعداد سنبلچه، تعداد دانه و وزن دانه شد (جدول ۲).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق پیش تیمار بذر گندم با پراکسید هیدروژن از طریق افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز و همچنین افزایش میزان کلروفیل، محتوای آب نسبی برگ، سطح برگ، طول روزنه و کاهش نشت یونی باعث کاهش اثرات سوء شوری گردیده که در نتیجه باعث بهبود میزان عملکرد در شرایط تنش می‌شود. بنابراین امکان بهره‌گیری از پیش‌تیمار بذر با غلظت مشخصی از پراکسید هیدروژن می‌تواند در رشد و تحمل بهتر گندم تحت تنش شوری به‌عنوان یک راه‌کار در اراضی کشاورزی شور ایران مورد استفاده قرار گیرد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده گندم تحت تأثیر تنش شوری و پیش تیمار با پراکسید هیدروژن

Table 1- Analysis of variance measure of wheat affected by salinity and pretreatment with hydrogen peroxide

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	وزن دانه در تک بوته Seed weight per plant	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike	تعداد سنبلچه در سنبله Number of spikelet per spike	مساحت سطح برگ LA	آسکوربات پراکسیداز (10^{-6}) Ascorbate peroxidase	کاتالاز CAT	نشت یونی Ec	محتوای آب نسبی RWC
بلوکRep	2	0.0001	0.63	0.06	0.39	24	9	23	8.7
تنشStress	2	0.03^{**}	157^{**}	46^{**}	81^{**}	44^{**}	$5^{n.s}$	368^{**}	518^{**}
پراکسید هیدروژن H_2O_2	3	$0.001^{n.s}$	$2.7^{n.s}$	$1.4^{n.s}$	1.7^{*}	28^{*}	1.8^{**}	46^{*}	87^{*}
تنش×پراکسید هیدروژن H_2O_2×Stress	6	0.004^{*}	15^{**}	2.2^{*}	1.4^{*}	24^{**}	1.3^{**}	40^{*}	123^{**}
خطاErorr	22	0.001	2.7	0.76	0.51	4	0.6	12	28
ضریب تغییراتC.V		19.8	15.1	11.7	13.6	15.19	12.16	7.6	7.7

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

* and ** significant at the 5 and 1%, probability levels, respectively and ns non- significant

ادامه جدول ۱

Table 1- Continued

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	طول روزنه رویی Length top stomata	تعداد روزنه زیری Number of bottom stomata	تعداد روزنه رویی Number of top stomata	سطح ویژه برگ SLA	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیلa Chlorophyll a
بلوکRep	2	3.7	0.75	2.6	11	1.6	0.21	0.66
تنشStress	2	$6.3^{n.s}$	4.2^{**}	5.6^{**}	425^{**}	20^{**}	1.3^{**}	11^{**}
پراکسید هیدروژن H_2O_2	3	13^{*}	5.8^{**}	9.6^{**}	313^{**}	4^{*}	0.33^{**}	3^{**}
تنش×پراکسید هیدروژن H_2O_2×Stress	6	1.3^{*}	2.2^{*}	$1.1^{n.s}$	79^{*}	2.9^{*}	0.28^{**}	1.1^{*}
خطاErorr	22	3.6	0.68	0.69	24	1.04	0.04	0.4
ضریب تغییراتC.V		8.6	12.05	8.5	8.6	13.9	14.3	10.9

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

* and ** significant at the 5 and 1%, probability levels, respectively and ns non- significant

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری × پراکسید هیدروژن در گندم

Table 2- Compares the average interaction of salinity × Peroxide in Wheat

		طول روزنه رویی (um) Length top stomata	تعداد روزنه زیری Number of bottom stomata	سطح ویژه برگ (cm^2/gr) SLA	کارتنوئید Caroten oid	کلروفیلb Chlorophy ll b	کلروفیلa Chlorophy ll a
NaCl 0 میلی مولار	شاهد	21.11c-e	7.00b-d	63.66b	8.06a-c	1.88a	6.31a-c
	H_2O_2(25)	26.50a	6.33c-e	75.00a	8.50ab	1.94a	6.67ab
	H_2O_2(50)	21.33b-e	6.33c-e	56.66b-d	8.70ab	1.91a	6.67ab
	H_2O_2(80)	22.77b-d	5.00e	60.00b-d	8.99ab	1.96a	6.88a
NaCl 80 **میلی مولار**	Nacl 80	20.44de	8.50a	60.00b-d	7.48b-d	1.46bc	5.56b-d
	H_2O_2(25)	21.44b-e	6.00de	60.00b-d	8.36ab	1.77ab	6.27a-c
	H_2O_2(50)	20.88c-e	7.00a-c	45.00e	9.27a	0.75d	7.04a
	H_2O_2(80)	24.00a-c	7.66a-c	44.00e	6.33c-e	1.51bc	5.62b-d
NaCl 120 **میلی مولار**	Nacl 120	19.5e	8.33ab	61.00bc	4.77e	0.86d	3.22e
	H_2O_2(25)	20.66de	7.66a-c	54.33cd	7.76e	1.65ab	5.98a-c
	H_2O_2(50)	24.44ab	7.00a-c	55.00cd	5.67e	1.43bc	5.23cd
	H_2O_2(80)	22.00b-e	5.33e	52.33de	5.94de	1.27c	4.65d

ادامه جدول ۲

Table 2- Continued

		وزن دانه در تک بوته (gr) Seed weight per plant	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike	تعداد سنبلچه در سنبله Number of spikelet per spike	مساحت سطح برگ (cm^2) LA	آسکوربات پراکسیداز (10^{-6}) Ascorbate peroxidase	کاتالاز CAT	نشت یونی Ec	محتوای آب نسبی RWC
NaCl 0 میلی مولار	**شاهد**	0.28a	18a	10.44a	7.99a	0.006a	0.004ab	42d-f	73bc
	H_2O_2(25)	0.24ab	13b	8.44bc	8.01a	0.006a	0.003c-e	37f	77ab
	H_2O_2(50)	0.21a-c	12bc	9.00ab	7.65ab	0.006a	0.004b-d	38ef	84a
	H_2O_2(80)	0.25ab	16a	9.6ab	7.65ab	0.006a	0.003de	44c-e	70bc
NaCl 80 **میلی مولار**	Nacl 80	0.14d-f	9d-f	6.55e-f	4.21c	0.003bc	0.003de	54a	64c-e
	H_2O_2(25)	0.22a-c	9de	7.03d-f	6.65b	0.003bc	0.005a	47b-d	66cd
	H_2O_2(50)	0.21a-c	9.3c-e	8.75bc	4.04cd	0.004b	0.004a-c	50a-c	71bc
	H_2O_2(80)	0.21b-d	11b-d	7.46c-e	5.19c	0.001e	0.004a-c	41d-f	72bc
NaCl 120 **میلی مولار**	Nacl 120	0.13ef	8ef	5.00g	2.31e	0.001de	0.002e	54a	57de
	H_2O_2(25)	0.17c-e	8.7d-f	5.61fg	2.67e	0.004b	0.004a-c	52ab	73bc
	H_2O_2(50)	0.17c-e	10c-e	6.22e-g	2.83de	0.002c-e	0.004ab	50a-c	56e
	H_2O_2(80)	0.10 f	6f	5.00g	2.62e	0.002cd	0.003b-d	50a-c	65c-e

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Similar letters in each column indicate non-significant differences at 5% probability level

جدول۳- میانگین تعداد روزنه رویی گندم در سطوح مختلف شوری

Table 3- Meane of number of top stomata wheat under different salinity levels

	تعداد روزنه رویی Number of top stomata
NaCl 0 **میلی مولار**	8.95b
NaCl 80 **میلی مولار**	10a
NaCl 120 **میلی مولار**	10.2a

جدول۴- میانگین تعداد روزنه رویی گندم در سطوح مختلف پراکسید هیدروژن

Table 4- Meane of number of top stomata wheat under different peroxide hydrogen levels

	تعداد روزنه رویی Number of top stomata
شاهد	10.11a
H_2O_2(25)	10.05a
H_2O_2(50)	10a
H_2O_2(80)	8.77b

References منابع مورد استفاده

- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Carter, A.C., and A.K. Knapp. 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*. 88: 677-684.
- Colmer, T.D., T.J. Flowers, and R. Munns. 2006. Use of wild relative to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*. 57: 1059-1078
- 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. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57: 779–795.
- Dehshiri, A., M. Modares Sanavi, H. Rezai, and A. Shirani Rad. 2012. Effect of elevated concentration of atmospheric carbon dioxide on some traits of three rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under saline conditions. *Seed and Plant Production Journal*. 28(2): 35-52. (In Persian).
- Desikan, R., M.K. Cheung, A. Clarke, S. Golding, M. Sagi, and R. Fluhr. 2004. Hydrogen peroxide is a common signal for darkness- and ABA-induced stomatal closure in *Pisum sativum*. *Functional Plant Biology*. 31: 913–20.
- Diaz-Perez, J.C., K.A. Shackel, and E.G. Sutter. 2006. Relative water content. *Annals of Botony*. 97(1): 85-96.
- 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. *Canadian Journal of Plant Science.* 47: 229-230.
- Francois, L.E., C.M. Grieve, E.V. Mass, and S.M. Lesch. 1994. Time of salt stress affects growth and yield components of irrigated wheat. *Agronomy Journal*. 86: 100-107.
- Fricke, W., and W.S. Peters. 2002. The biophysics of leaf growth and yield components of irrigation wheat. *Agronomy Journal*. 86: 100-107.
- Gill, S.S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 909-930.
- Hidalgo, A., A. Brandolini, C. Pompei, and R. Piscozzi. 2006. Carotenoids and to cols of einkorn Wheat (*Triticum monococcum* L.). *Journal of Cereal Science.* 44: 182-193.
- Hung, S.H., C.W. Yu, and C.H. Lin. 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 46: 1–10.
- Juan, M.R., M. Rivero, L. Romero, and J.M. Ruiz. 2005. Evalution of some nutritional and biochemical indicator sin selecting salt-resistant tomato cultivars. *Environmental and Experimental Botany.* 54: 193-201.

- Kursat, C., and K. Kurdat. 2010. Effect of hydrogen peroxide on the germination and early seedilling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. *Eurasia Journal Biology Science*. 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. *Biochemical Society Trans*. 11: 591–592.
- Liu, Y., D. Hongmei, and K, Wang. 2011. Differential photosynthetic responses to salinity stress between two perennial grass species contrasting in salinity tolerance. *HortScience*. 46: 311-316.
- Mandhanis, S., S. Madan, and V. Whney. 2006. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedling. *Journal Biology Plantarum*. 50: 231-227.
- Manivannan, P., C. Abdul Jaleel, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Somasundaram, G.M.A. Lakshmanan, and R. Panneerselvam. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces* B*: Biointerfaces*. 59: 141–149.
- Mudgal, V., N. Madaan, and A. Mudgal. 2010. Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: A Review. *International Journal of Botany*. 6: 136-143.
- Munns, R., and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Physiology*. 59: 651-681.
- Nadeem, S.M., Z.A. Zahir, M. Naveed, M. Arshad, and S.M. Shahzad. 2006. Variatin in growth and ion uptake of maize due to inculation with plant growth promoting rhizobacteria under salt stress. *Soil Environment*. 25: 78-84.
- Neill, S., R. Desikan, and J. Hancock. 2002. Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology*. 5: 388-395
- Parida, A.K., and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: *Review Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60: 324-349.
- 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 Science*. 163: 1037–1046.
- Samuilov, V.D., D.B. Bezryadnov, M.V. Gusev. A.V. Kitashov, and T.A. Fedorenko. 2001. Hydrogen peroxide inhibits photosynthetic electron transport in cells of cyanobacteria. *Biochemistry*. 66: 640–645.
- Santhy, V., M. Meshram, R. Wakde, and R. Vijaya Kumari. 2014. Hydrogen peroxide pre-treatment for seed enhancement in cotton. *African Journal of Agricultural Research*. 9: 1982-1989.
- Santos, C., G. Pinto, J. Loureiro, H. Oliveira, and A. Costa. 2002. Response of sunflower cells under Na_2SO_4. I. Osmotic adjustment and nutrient responses and proline metabolism in sunflower cells under Na_2SO_4 stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 165: 366-372.

- Shibli, R.A., M. Kushad, G.G.Yousef, and M.A. Lila. 2007. Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress in associated ethylene accumulation. *Plant Growth Regulation*. 51: 159-169.
- Shirani Rad, A.H. 2005. Physiology of crop plants. Cultural and Artistic Institute Tehran debugger. 359 pp.
- Sivritepe, H.O., N. Sivritepe, A. Eris, and E. Turhan. 2005. The effects of NaCl pre-treatment on salt tolerance of melons grown under long-term salinity. *Science Horticulture*. 106: 568–581.
- Tear, I.D., C.J. Peterson, and A.G. Law. 1971. Size and frequency of leaf stomata in cultivars of *Triticum aestivum* and other Triticum species. *Crop Science*. 11: 496-498.
- 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 Science*. 151: 59-66.
- Wahid, A., and A. Shabbir. 2005. Induction of heat stress tolerance in barley seedlings by pre-sowing seed treatment with glycinebetaine. *Plant Growth Regulation*. 46: 133–141.
- Zeng, F., L. Shabala, M. Zhou, and G. Zhang. 2013. Barley responses to combined waterlogging and salinity stress: separating effects of oxygen deprivation and elemental toxicity. *Plant Physiology*. 4:116-128.

The Effects of Hydrogen Peroxide Pretreatment of Seeds on Morpho-Physiological and Biochemical Characteristics of Wheat under Salt Stress

Tayyebeh Jafarian [1], and MohammadJavad Zarea[2*]

Received: October 2015, Revised: 23 February 2016, Accepted: 13 September 2016

Abstract

Salinity is one of the main factors to reduce crop production worldwide, especially in dry land farms. In this study the effect of pretreatment of wheat seed with hydrogen peroxide (H_2O_2) on various traits of wheat (Sardary) including morph-physiological parameters and yield components under salinity conditions were evaluated. This experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications, in greenhouse. Treatments were three salinity levels (0, 80 and 120 Mm) and four concentrations of hydrogen peroxide (0, 25, 50 and 80 Mm). In this study, salinity affected all of yield components, levels of antioxidants, photosynthetic pigments, length and number of leaf stomata. Pretreatment of seed with hydrogen peroxide alleviated the effect of salinity on yield through positive effect on plant water relation, pigments, leaf area and stomata. Plants from pretreatment of seed with hydrogen peroxide had higher relative water content, chlorophyll and carotenoid pigments, leaf area and lower number of stomata and larger length of stomata under salt stress condition as compared with control. Seed pretreatment with hydrogen peroxide also reduced the adverse effect of salinity.

Key words: Salinity, Morph-physiological parameters, H_2O_2, Wheat.

1- Ph.D. Student of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.
2- Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.
* *Corresponding Author: mj zarea@ ymail.com*