ارزیابی اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی، بنیه بذر و برخی صفات فیزیولوژی گیاه دارویی شنبلیله تحت تنش شوری

زینب ولی پور دهنو*[۱]، مجید امینی دهقی[۲]، خدیجه احمدی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد تکنولوژی بذر، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

[۲]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

[۳]کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۳

چکیده

به‌منظور بررسی پیش‌تیمار بر ویژگی‌های جوانه‌زنی، رشد و فیزیولوژیکی توده اصفهانی شنبلیله تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹٦ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل پنج سطح پرایمینگ (شاهد (آب مقطر)، هیدروپرایمینگ آب مقطر به مدت ۲٤ ساعت، هیدروپرایمینگ آب مقطر به مدت ٤۸ ساعت، نیترات پتاسیم ۳٪ و سالیسیلیک اسید ۰٫۵٪) و تنش شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بود. نتایج تجزیه واریانس حاکی از تأثیر معنی‌دار ترکیب تیماری پرایمینگ و تنش شوری بر صفات جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای پرولین بود. نتایج مقایسه میانگین اثر برهمکنش نشان داد که درصد جوانه‌زنی در سطوح هیدروپرایمینگ با تنش ۱۵۰ میلی‌مولار ۱۰۰ درصد بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت در صفاتی مانند سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، بنیه طولی گیاهچه، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای کارتنوئید نسبت به سطوح دیگر پرایمینگ دارای برتری نسبی بود. به نظر می‌رسد گیاه شنبلیله گیاهی مقاوم به تنش می‌باشد و کاربرد هیدروپرایمینگ نسبت به سطوح دیگر اثر بهبود بخشی بر صفات مورد بررسی داشت.

واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه، شنبلیله، کارتنوئید، کلروفیل.

*نویسنده مسئول: z.valipour2015@gmail.com

مقدمه

افزایش جمعیت و نیاز صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به عنوان مواد اولیه تولید دارو و اهمیت مواد موثره آنها در صنایع مختلف سبب شده که کشت و تولید گیاهان دارویی از اهمیت خاصی برخوردار باشند (Abdullaev and Espinosa-Aguirre, 2004). شنبلیله با نام علمی (*Trigonella foenum-graecum* L.) یکی از گیاهان دارویی است که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری برای آن ذکر شده است. بذر و قسمت‌های هوایی این گیاه قرن‌ها به عنوان منبع ارزشمندی از پروتئین در تغذیه انسان و دام، همچنین در طب سنتی نیز به همان قدمت، برای درمان کورک، دیابت، سلولیتیس و سل مورد مصرف بوده است (Omidbigi, 2004). شوری محدودیت مهم در تولید محصولات زراعی در نواحی خشک و نیمه خشک دنیا است. ضمن اینکه شوری در خاک یا آب یکی از اصلی‌ترین تنش‌های غیرزیستی است کـه رشد و تولید گیاهان را کاهش می‌دهد (Arzani, 2008). آثار شوری بر گیاهان شامل ممانعت از رشد، کاهش فتوسنتز، تنفس و سنتز پروتئین‌ها و در نهایت، سطوح بالاتر تنش شوری، مرگ است. بنابراین انتخاب و شناسایی خصوصیات گیاهان متحمل به تنش شوری برای افزایش تولید محصول در این مناطق حائز اهمیت می‌باشد (Arzani, 2008). استفاده از تکنیک‌های مناسب برای آماده‌سازی بذر در مقابل شرایط نامطلوب، به عنوان راهکاری جهت کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی بر گیاه و بهبود عملکرد به شمار می‌رود. یکی از روش‌هایی که امروزه توجه ویژه‌ای به آن شده، تکنیک پرایمینگ بذر است (Cavusoglu and Kabar, 2010;). رایج‌ترین روش‌های پرایمینگ شامل هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ می‌باشند. اسموپرایمینگ نوع خاصی از آماده‌سازی بذرها قبل از کاشت می‌باشد که از طریق خواباندن بذرها در محلول‌های با پتانسیل اسمزی پایین حاوی مواد شیمیایی صورت می‌گیرد (Ashraf and Foolad, 2005). در روش هیدروپرایمینگ بذرها با آب خالص و بدون استفاده از هیچ ماده‌ی شیمیایی تیمار می‌شوند که این نوع پرایمینگ بسیار ساده و ارزان است (ISTA, 2008). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که پرایمینگ باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی بذر و سبز شدن گیاهچه می‌گردد (Demir Kaya et al., 2006). سالیسیلیک اسید و نیترات پتاسیم به‌عنوان پیش‌تیمار برای افزایش جوانه‌زنی بذرها استفاده می‌شوند. سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی و هورمونی می‌باشد که به‌عنوان تنظیم کننده رشد داخلی نقش مهمی را در مکانیزم‌های دفاعی در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده بازی می‌کند (Zalai et al., 2000). نیترات پتاسیم پرمصرف‌ترین ماده شیمیایی برای افزایش جوانه‌زنی بذرها بوده که توسط انجمن متخصصان رسمی بذر (ASOA) و انجمن بین‌المللی آزمون‌های بذر (ISTA) برای آزمایش‌های جوانه‌زنی بسیاری از گونه‌ها توصیه شده‌است (Copland and McDonald, 1995). با توجه به اینکه گیاه دارویی شنبلیله یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده بقولات است و شوری آب و خاک در بیش‌تر مناطق باعث کاهش پتانسیل عملکرد گیاهان می‌شود در نتیجه تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر خصوصیات مورفولوژیکی، بنیه بذر و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی توده اصفهانی گیاه دارویی شنبلیله تحت تنش شوری اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصـادفی بـا سـه تکـرار در آزمایشـگاه تکنولـوژی بـذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل سه عـاملی در قالـب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. عامل اول آزمایش شـامل ٦ سـطح پرایمینـگ (شـاهد (آب مقطـر)،

هیدروپرایمینگ آب مقطر به مدت ۲٤ ساعت، هیدروپرایمینگ آب مقطر به مدت ٤۸ ساعت، نیترات پتاسیم ۳٪، سالیسیلیک اسید ۵٪ و ترکیب نیترات پتاسیم ۳ ٪ + سالیسیلیک اسید ۵٪) و عامل دوم تنش شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بود. قبل از اعمال پرایمینگ، ابتدا بذرهای شنبلیله با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر شسته شدند. بذرهای شنبلیله به شش قسمت تقسیم شدند که برای شاهد از آب مقطر استفاده شد و اعمال محلول‌های مختلف پرایمینگ به این صورت بود که، برای هیدروپرایمینگ ۲٤ و ٤۸ ساعت، بذور به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت جداگانه درون آب مقطر در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای پیش تیمار با محلول نیترات پتاسیم با غلظت سه درصد بذرهای ضدعفونی شده بعد از خشک شدن به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، برای مقدار پنج درصد سالیسیلیک اسید بذرهای ضدعفونی شده به‌مدت ۲٤ ساعت و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد درون این محلول قرار گرفتند (Ghasemi jobshahr and Khoramivafa, 2013). سپس نمونه‌ها از محلول‌ها خارج و در دمای اتاق به مدت ۲٤ ساعت خشک خواهند شد. در هر پتری دیش ۲۵ عدد بذر بر روی کاغذ واتمن قرار داده شد و به هر کدام از آن‌ها آب مقطر یا سطوح مختلف تنش شوری (کلرید سدیم) افزوده شد و به منظور کاهش تبخیر آب دور پتری‌ها با پارافیلم بسته شد. سپس پتری‌ها به درون ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ و رطوبت نسبی ۷۰ درصد منتقل شدند. صفات مربوط به جوانه‌زنی و بنیه بذر (درصد و سرعت جوانه‌زنی)، طول گیاهچه (طول ساقه‌چه و ریشه‌چه)، وزن خشک گیاهچه و شاخص‌های بنیه گیاهچه (شاخص طولی بنیه گیاهچه، شاخص وزنی بنیه گیاهچه) طبق استانداردها اندازه‌گیری شد (Ellis et al., 1981; ISTA, 2008).

اندازه‌گیری میزان کلروفیل (a, b and Total) و کارتنوئید بافت برگ: میزان کلروفیل از روش (Arnon, 1949) و میزان کارتنوئید از روش (Gu et al, 2008) انجام گرفت. به این ترتیب که ۰/۵ گرم بافت تازه برگ را با ۲۰ سی‌سی استن ۸۰٪ به‌طور کامل عصاره‌گیری نموده سپس عصاره‌ی حاصل را با کاغذ صافی صاف کرده و آن را به حجم رسانده و به وسیله اسپکتروفوتومتر میزان کلروفیل در طول موج‌های ٦٦۳ و ٦٤۵ نانومتر و میزان کارتنوئید در طول موج ٤۸۰ نانومتر قرائت شد.

غلظت کلروفیل‌های a، b و کل از فرمول‌های زیر به دست می‌آید:

$C_a\,(mg.gFW^{-1}) = 12.7\,(A_{663}) - 2.69\,(A_{645}) \times V/1000W$

$C_b\,(mg.gFW^{-1}) = 22.9\,(A_{645}) - 2.69\,(A_{663}) \times V/1000W$

$C_T\,(mg.gFW^{-1}) = 20.2\,(A_{645}) + 8.02\,(A_{663}) \times V/1000W$

C میزان غلظت بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر برگ، Vحجم عصاره ، W وزن نمونه است.

در رابطه کاروتنوئید:

$Carotenoid\,(mg.gFW^{-1}) = 7.6\,(A_{480}) - 14.9\,(A_{510}) \times VD/1000W$

A میزان جذب نوری،Vحجم عصاره، D نسبت رقت و W وزن نمونه است.

اندازه‌گیری محتوی پرولین بافت برگ: برای تعیین مقدار پرولین بافت برگ، از روش Bates et al. (1973) استفاده شد. برای اندازه‌گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی تر بافت برگ توزین شد و در هاون چینی در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد، به خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار دو میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال، اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، آن‌ها به مدت یک ساعت در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هر یک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. برای مخلوط

کردن این دو محلول، به مدت ۲۰– ۱۵ ثانیه با استفاده از ورتکس لوله‌ها تکان داده شدند. سرانجام فاز رویی که به رنگ قرمز در آمده و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود را برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد، میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ، با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

در این تحقیق تجزیه و تحلیل داده‌ها، به کمک نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و میانگین تیمارها توسط آزمون LSD در سطح پنج درصد مورد مقایسه و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

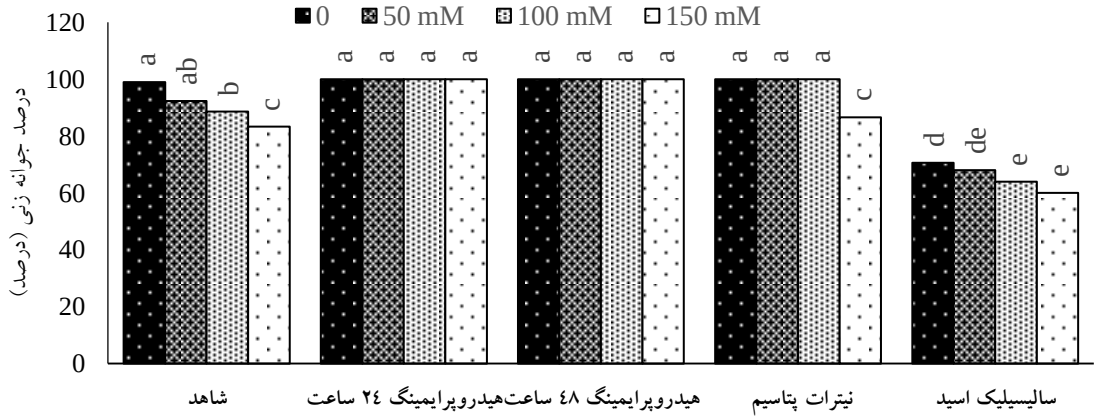
نتایج

درصد جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پرایمینگ، تنش شوری و اثر برهمکنش پرایمینگ × تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر صفت درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و شوری بیان‌گر این است که بیش‌ترین میانگین درصد جوانه‌زنی مربوط به سطوح تیماری هیدروپرایمینگ ۲۴ و ۴۸ ساعت و هم‌چنین پیش تیمار نیترات پتاسیم بجز تنش ۱۵۰ میلی‌مولار بود، و کم‌ترین مقدار آن نیز (۶۰ درصد) در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار و تیمار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. درصد جوانه‌زنی در عدم کاربرد پرایمینگ در گیاه شنبلیله مشاهده شد اما این مقدار کاهش نسبت به کاربرد سالیسیلیک اسید (شکل ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات کیفی گیاه شنبلیله تحت اثر پرایمینگ و تنش شوری

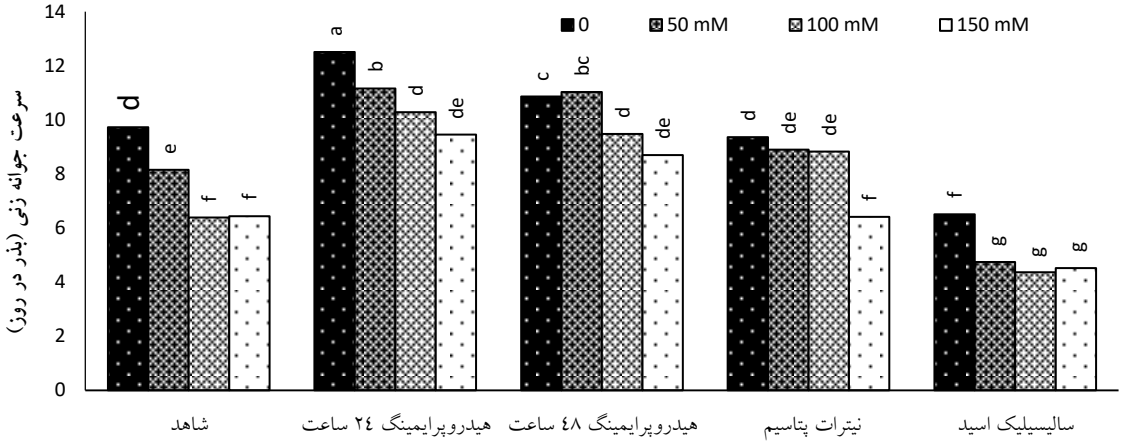
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MSe)							
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک گیاهچه	شاخص وزنی بنیه گیاهچه	شاخص طولی بنیه گیاهچه
پرایمینگ (P)	۴	۲۱۵۳/۸۵**	۶۱/۳۴**	۲/۳۴**	۲/۴۱**	۱۰/۰۶**	۰/۰۰۹*	۳/۶۷**	۱۳۱۲/۳۲**
تنش‌شوری(S)	۳	۱۹۱/۰۴**	۱۱/۳۴**	۰/۸۴**	۱۷/۶۹**	۳۵/۲۹**	۰/۰۱*	۲/۴۱**	۶۴۲۵۰/۹۱**
P × S	۱۲	۱۳۲/۸۳**	۳/۳۴**	۰/۴۴**	۰/۱۶^{ns}	۱/۶۶**	۰/۰۰۶*	۰/۷۲*	۱۴۷۱/۶۰**
خطا	۴۰	۶/۸۳	۰/۸۸	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۳۷	۰/۰۰۳	۰/۲۸	۴۱۷/۳۳
ضریب تغییرات (٪)		۲/۸۱	۱۱/۲۲	۱۲/۱۶	۱۶/۷۱	۱۶/۳۵	۱۴/۴۴	۱۴/۷۷	۱۴/۱۱

^{ns} * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.



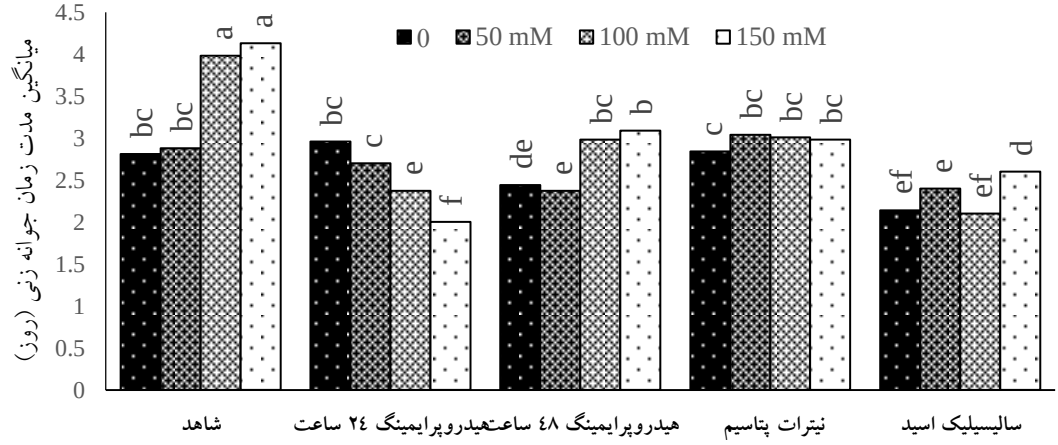
شکل ۱: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح مختلف پرایمینگ، تنش شوری و اثر متقابل آن‌ها بر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). آن‌چه از شکل۲ بدست می‌آید حاکی از کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور شنبلیله است در شرایط تنش شوری است. هم‌چنین با توجه به اینکه تیمار هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت با افزایش تنش شوری نیز باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی شد اما اثر کم‌تری گذاشت به گونه‌ای که بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی در تنش ۱۵۰ میل‌مولار را می‌توان در هیدروپرایمنگ ۲٤ ساعت می‌توان مشاهده کرد. تیمار سالیسیلیک اسید نسبت به دیگر سطوح پرایمینگ و بخصوص عدم پرایمینگ دارای کم‌ترین میزان سرعت جوانه‌زنی بود.



شکل ۲: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی

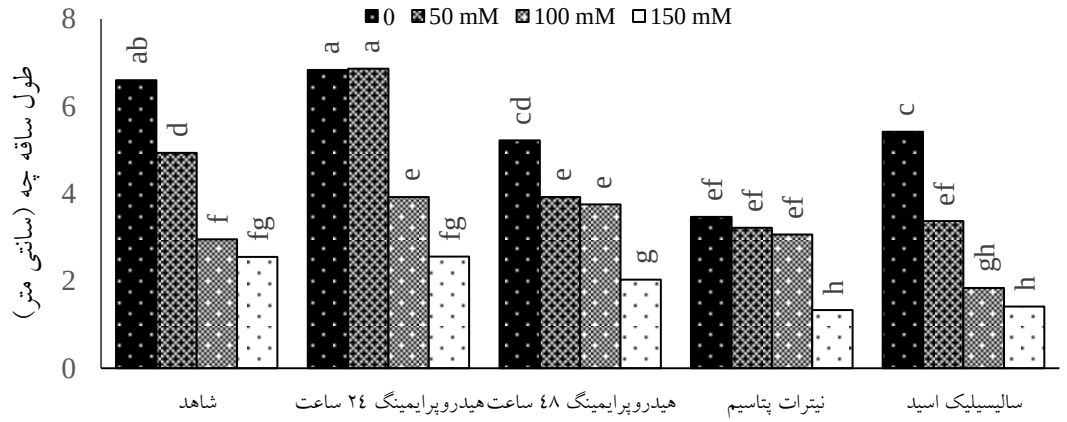
میانگین مدت زمان جوانه‌زنی: با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، تیمار پرایمینگ، تنش شوری و اثر دو گانه آن‌ها بر صفت میانگین مدت زمان جوانه‌زنی تأثیری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۱). در عدم کاربرد پرایمینگ با افزایش تنش شوری میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذور شنبلیله افزایش نشان داد، به‌گونه‌ای که بیش‌ترین مقدار آن مربوط به تنش ۱۵۰ میلی‌مولار با میانگین ٤/۱۳ بذر در روز بود. هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت با افزایش تنش شوری میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذور را کاهش داد. این افزایش در مدت زمانی که بذور جوانه می‌زنند را در سطوح دیگر مورد بررسی نیز می‌توان مشاهده کرد بخصوص در کاربرد نیترات پتاسیم این افزایش در تمام سطوح تنش شوری مشهود است (شکل ۳).



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

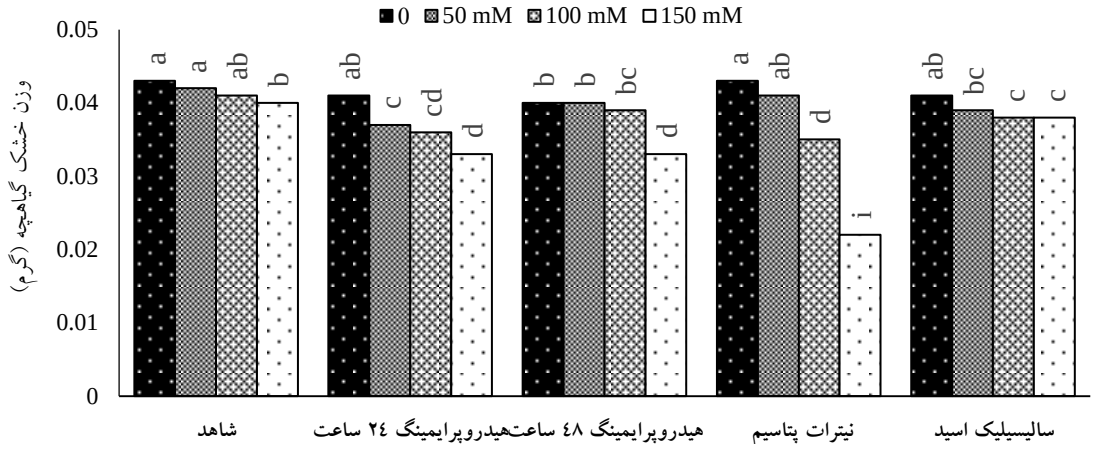
طول ریشه‌چه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پرایمینگ و تنش شوری بر صفت طول ریشه‌چه در سطح احتمال یک درصد داشت. اثر متقابل آن‌ها بر این صفت غیر معنی‌دار شد (جدول ۱). عدم کاربرد پرایمینگ دارای بیش‌ترین مقدار طول ریشه‌چه بود البته از لحاظ آماری با هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت تفاوت مشاهده نشد. هم‌چنین کم‌ترین مقدار طول ریشه‌چه در کاربرد سالیسیلیک پنج درصد بدست آمد. تنش شوری با افزایش طول ریشه‌چه روبرو شد. در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کم‌ترین مقدار مشاهد شد.

طول ساقه‌چه: طی نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر ساده پرایمینگ، تنش شوری و ترکیب تیماری پرایمینگ × تنش شوری اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر صفت طول ساقه‌چه داشتند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش تنش شوری باعث کاهش طول ساقه‌چه شنبلیله شد، البته در تنش ۵۰ میلی‌مولار هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت با افزایش ٦/۸٦ سانتی‌متری طول ساقه‌چه روبرو شد. بیش‌ترین کاهش طول ساقه‌چه را در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار و کاربرد نیترات پتاسیم سه درصد با میانگین ۱/۳۳ سانتی‌متر مشاهده شد. به نظر می‌رسد هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت اثرات بهبود بخشی بر طول ساقه‌چه در تنش‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به عدم پرایمینگ دارد (شکل ٤).



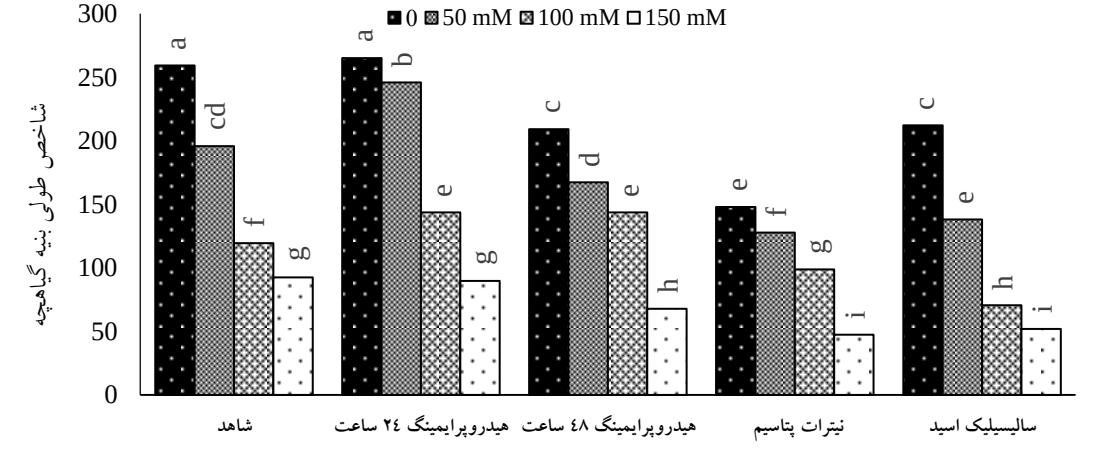
شکل ٤: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر طول ساقه‌چه

وزن خشک گیاهچه: طبق نتایج تحقیق حاضر اثر تیمارهای بکاربرده در این پژوهش تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد داشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که در عدم کاربرد پرایمینگ با افزایش تنش و کاهش وزن خشک گیاهچه نسبت به دیگر سطوح پیش‌تیمار نتایج بهتری داشت. کاربرد نیترات پتاسیم سه درصد در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کم‌ترین وزن خشک گیاهچه را نشان داد. به‌طور کلی تنش شوری با کاربرد و عدم کاربرد پرایمینگ با کاهش وزن خشک گیاهچه روبرو شد. بنابراین می‌توان کاهش وزن خشک گیاهچه توده اصفهانی شنبلیله را در اثر تنش شوری به محدودیت جذب آب و کاهش تجمع ماده خشک مربوط دانست (شکل ۵).



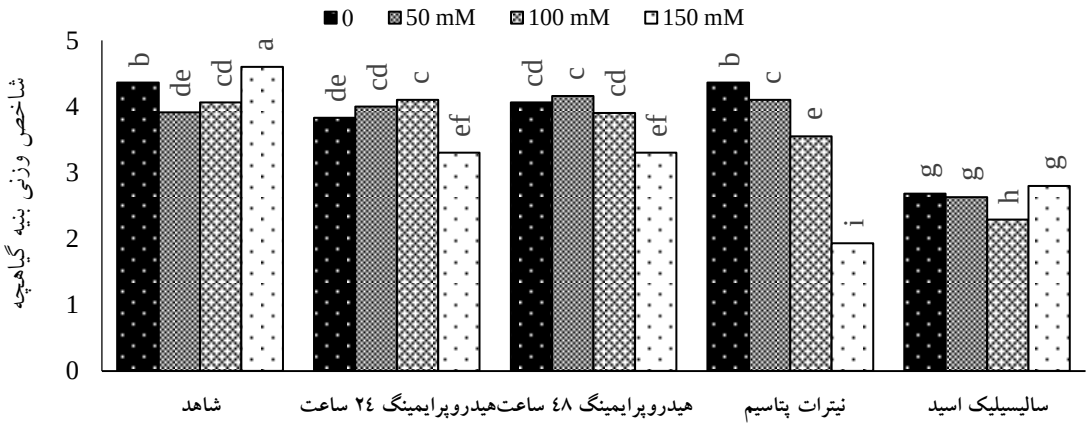
شکل ۵: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر وزن خشک گیاهچه

شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه: طی بررسی نتایج تجزیه واریانس اثر پرایمینگ، تنش شوری و اثر دو گانه پرایمینگ × تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر صفات شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل آن‌ها بر صفت شاخص وزنی بنیه گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌داری شد (جدول۱). شاخص طولی بنیه گیاهچه با افزایش سطوح تنش شوری در پیش‌تیمارهای مورد آزمایش کاهش یافت. بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه به ترتیب مربوط به هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت و عدم تنش شوری با میانگین ۲٦٥ و کاربرد نیترات پتاسیم سه درصد و تنش ۱٥۰ میلی‌مولار در با میانگین ٤۷/٥۱۷ بود (شکل ٦).



شکل ٦: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر شاخص طولی بنیه گیاهچه

با توجه به اینکه شاخص وزنی بنیه گیاهچه تحت تأثیر تیمارهای مورد پژوهش قرار گرفت، بر اساس شکل ۷، می‌توان نتایج مقایسه میانگین ترکیب تیماری اثر دو گانه پرایمینگ و تنش شوری را بر این صفت این‌گونه تفسیر کرد که در عدم پرایمینگ با افزایش تنش شوری شاهد بیش‌تر شدن شاخص وزنی بنیه گیاهچه توده شنبلیله مورد بررسی می‌باشیم. همچنین این افزایش را در هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار نیز با میانگین ٤/۱ می‌توان مشاهده کرد. در دیگر سطوح تیماری افزایش تنش شوری باعث کاهش شاخص وزنی بنیه گیاهچه شنبلیله شد.



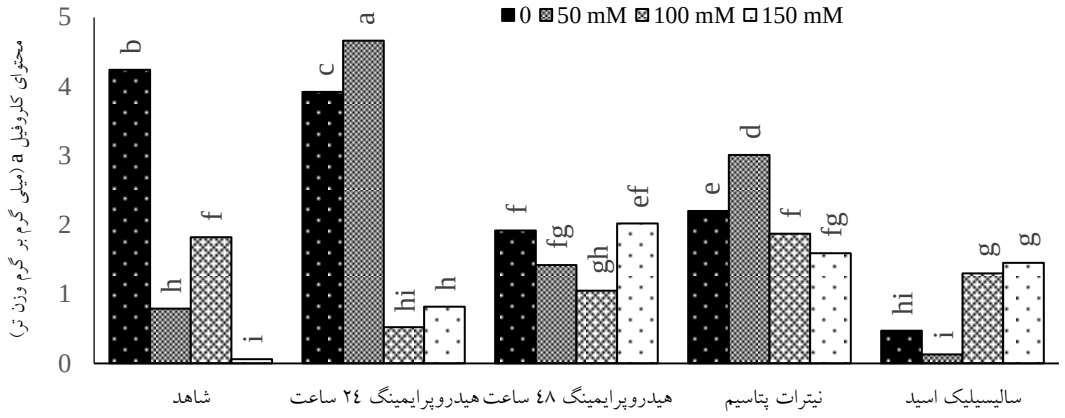
شکل ۷: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر شاخص وزنی بنیه گیاهچه

محتوای کلروفیل (a، b و کل): نتایج حاصل از بررسی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پرایمینگ، تنش شوری و اثرات دوگانه بر محتوای کلروفیل a، b و کل تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد دارند (جدول ۱). محتوای کلروفیلa تحت تأثیر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید با افزایش تنش شوری بیش‌تر شد به گونه‌ای که از ۰/۴۷ به ۱/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر روبرو شد. هم‌چنین هیدروپرایمینگ ۴۸ ساعت با افزایش مقدار جزئی در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار مواجه شد و در دیگر تیمارها کاهش محتوای کلروفیلa را با افزایش تنش در سطوح پیش‌تیمارهای مختلف می‌توان مشاهده کرد. بیش‌ترین محتوای کلروفیلa در تنش ۵۰ میلی‌مولار و هیدروپرایمینگ ۲۴ ساعت با میانگین ۴/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد (شکل ۸).

ادامه جدول ۱: تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی توده اصفهانی شنبلیله تحت اثر پرایمینگ و تنش شوری

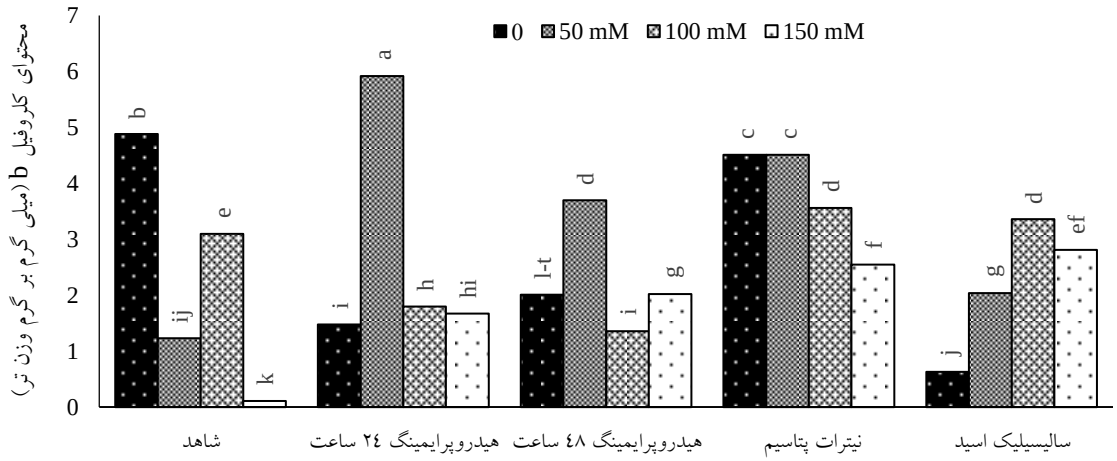
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
		محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کارتنوئید	محتوای پرولین
پرایمینگ (P)	۴	۴/۶۷**	۴/۸۸**	۳/۸۸**	۹۲/۹۷**	۰/۰۹**
تنش شوری (S)	۳	۶/۰۴**	۶/۴۹**	۵/۱۶**	۲۴/۵۳ns	۰/۴۱**
P × S	۱۲	۵/۰۹**	۷/۰۵**	۵/۹۷**	۱۳۴/۹۱**	۰/۰۶**
خطا	۴۰	۰/۱۸	۰/۳۲	۰/۲۵	۱۰/۰۷	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات (٪)		۱۴/۲۹	۱۱/۴۶	۱۱/۳۳	۱۲/۲۹	۵/۴۸

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.



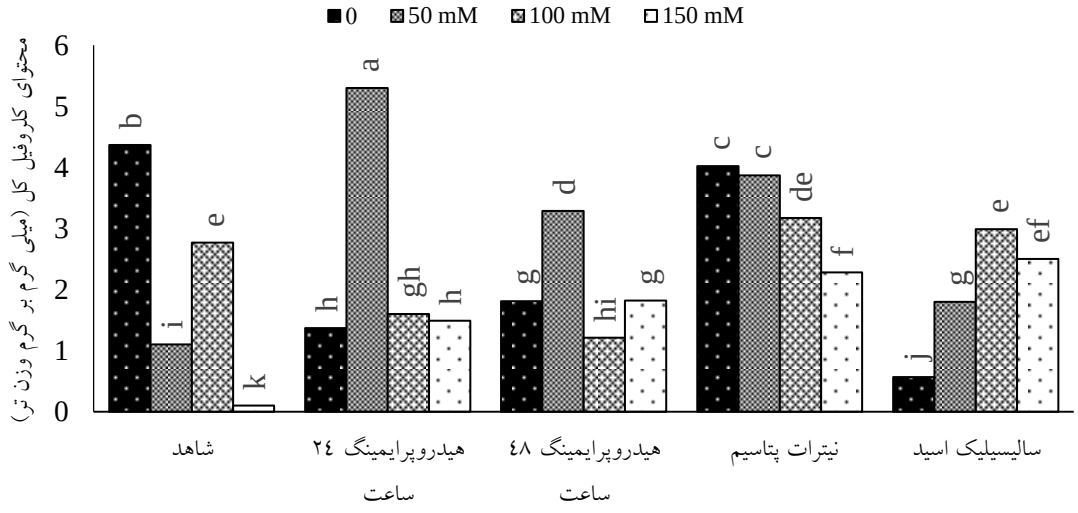
شکل ۸: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر محتوای کلروفیل a

مقایسه میانگین اثر برهمکنش پرایمینگ و تنش شوری بر صفت محتوای کلروفیلb، نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید پنج درصد با افزایش تنش شوری باعث افزایش آن شد. در دیگر سطوح تیماری میزان کلروفیلb در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به عدم تنش در کاهش پیدا کرد. بیش‌ترین کاهش در عدم پرایمینگ در سطح تنش ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد و بیش‌ترین محتوای کلروفیلb در هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت و تنش ۵۰ میلی‌مولار بدست آمد (شکل ۹).



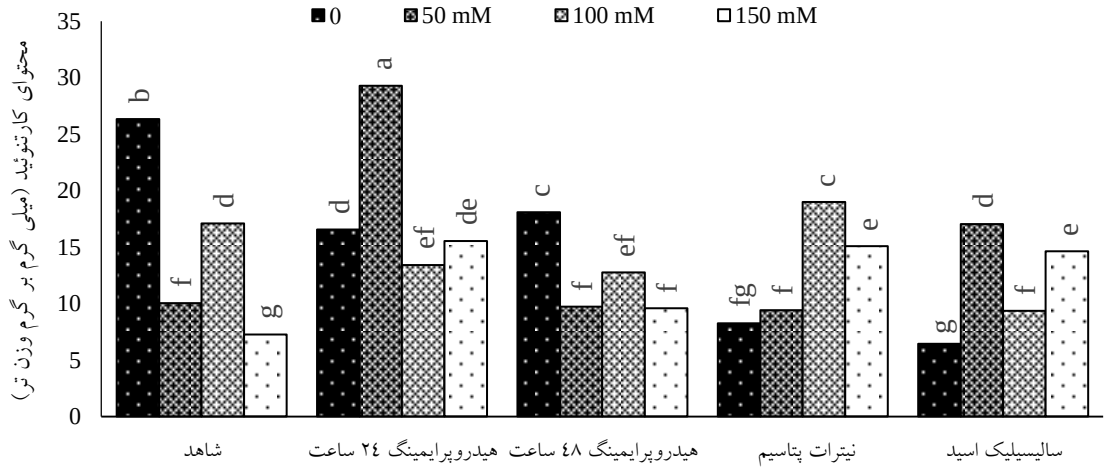
شکل ۹: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر محتوای کلروفیل b

آن‌چه از نتایج مقایسه میانگین ترکیب تیماری پرایمینگ و تنش شوری بدست آمد نشان از افزایش محتوای کلروفیل کل در تیمار هیدروپرایمینگ ۲٤ ساعت در تنش ۵۰ میلی‌مولار بود. هم‌چنین در تیمار سالیسیلیک اسید با افزایش تنش شوری مقدار آن افزایش نشان داد. در دیگر سطوح عدم کاربرد پرایمینگ، هیدروپرایمینگ ٤۸ ساعت و نیترات پتاسیم سه درصد با کاهش میزان کلروفیل کل روبرو شد. البته در هیدروپرایمینگ ٤۸ ساعت در تنش ۵۰ میلی‌مولار ابتدا افزایش میزان کلروفیل کل مشاهده شد و در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش یافت. کم‌ترین محتوای کلروفیل کل در عدم کاربرد پرایمینگ و تنش ۱۵۰ میلی‌مولار با میانگین ۰/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر محتوای کلروفیل کل

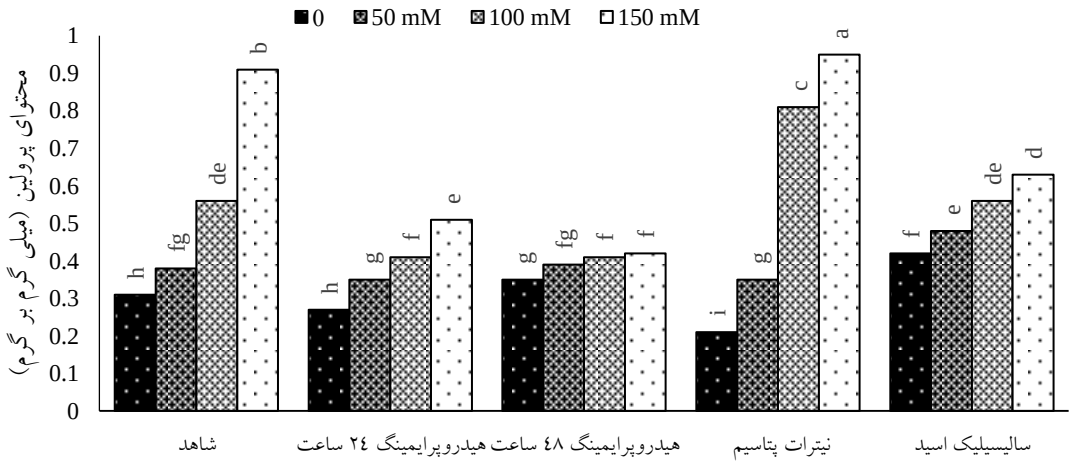
محتوای کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده اثر معنی‌دار پرایمینگ، تنش شوری و پرایمینگ × تنش شوری بر محتوای کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۱). محتوای کارتنوئید در توده هندی در تمامی سطوح پیش‌تیمار در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به عدم تنش کاهش در محتوای کارتنوئید داشت. در توده‌ی اصفهانی استفاده از پیش‌تیمارهای نیترات پتاسیم و سالیسیلیک اسید به صورت جداگانه افزایش محتوای کارتنوئید مشاهده می‌شود. بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای کارتنوئید به ترتیب مربوط به هیدروپرایمینگ ٢٤ ساعت و تنش ۵۰ میلی‌مولار با میانگین ۲۹/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و کاربرد سالیسیلک اسید و عدم تنش شوری با میانگین ٦/٤٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ می‌باشد (شکل ۱۱).



شکل ۱۱: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر محتوای کارتنوئید

محتوای پرولین: طی بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس اثر پرایمینگ، تنش شوری و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری بر محتوای پرولین بافت برگ داشتند (جدول ۱). طبق مشاهدات مقایسه میانگین ترکیب تیماری پرایمینگ و تنش شوری، میزان پرولین بافت برگ بر اثر تنش شوری در تمام سطوح پرایمینگ افزایش نشان داد. به‌طوری که بیش‌ترین میزان تغییرات محتوای پرولین را در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار می‌توان در کاربرد نیترات

پتاسیم سه درصد می‌توان مشاهده کرد. در هیدروپرایمینگ ٤٨ ساعت افزایش محتوای پرولین با افزایش تنش شوری به صورت جزئی بود و نسبت به دیگر سطوح در شرایط تنش تغییرات کم‌تری نشان داد. کم‌ترین محتوای پرولین در عدم تنش شوری و نیترات پتاسیم سه درصد بدست آمد (شکل ١٢).



شکل ١٢: اثر متقابل پرایمینگ × تنش شوری بر محتوای پرولین

بحث

نتایج نشان دهنده‌ی اثر کاهشی تنش شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی، بنیه بذر و پارامترهای رشد گیاهچه شنبلیله، همچنین اثر بهبود بخشی پرایمینگ بخصوص کاربرد هیدروپرایمینگ بود. طبق یافته‌های Roumani and Ehteshami (2014) تنش شوری ناشی از کلرید سدیم در سطح ١/٨- مگاپاسکال کم‌ترین میزان خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه شنبلیله را در پی داشت، که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. شوری می‌تواند به‌طور گسترده بر همه مراحل رشد و نمو گیاهان، از جمله جوانه‌زنی و خصوصیات رشد گیاهان، اثر گذاشته و در کنار کاهش عملکرد اقتصادی، سبب افت کیفی شود (Ashraf and Harris, 2004). طبق یافته‌های Yousefian et al. (2012) افزایش سطوح تنش شوری با کلرید سدیم صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه گیاه دارویی شنبلیله را به طور معنی‌داری کاهش داد، به گونه‌ای که بیش‌ترین کاهش در سطوح ٣٠٠ و ٤٠٠ میلی‌مولار مشاهده شد. نیترات پتاسیم و هیدروپرایمینگ ٢٤ ساعت باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شد. اثر مثبت پرایمینگ در شرایط تنش بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و روند رشد گیاهان مختلف نیز پیش از این گزارش شده‌است (Saadatyan et al., 2012). Donaldson et al. (2001) نیز اعلام کردند که یکی از روش‌هایی که برای افزایش بنیه بذر و در نتیجه بهبود کلی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بکار می‌رود پرایمینگ بذر است. نخستین پاسخ‌ها به پرایمینگ شامل، افزایش جوانه‌زنی بذر و سبز شدن گیاهچه است که باعث استقرار بهتر گیاه، افزایش عملکرد و کیفیت محصول می‌شود (Halmer, 2004). برخی محققان معتقدند که توانایی بالاتر جذب آب در بذرهای پرایم شده نسبت به بذرهای پرایم نشده منجر به تأثیر مثبت بر درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود (Ghana and Schillinger, 2003). Artola et al. (2003) به اثر مثبت هیدروپرایمینگ روی بنیه‌ی بذر یونجه زرد اشاره کردند، که در این تحقیق نیز در بیش‌تر صفات اثر مثبت هیدروپرایمینگ ٢٤ ساعت بر توده اصفهانی مشهود بود. Kaur et al. (2002) اثر هیدروپرایمینگ را بر روی نخود فرنگی بررسی کردند و مشاهده کردند که ٢٤ ساعت تیمار بذور با آب موجب تولید گیاهچه‌هایی با ریشه و

ساقه بزرگ‌تر می‌شود. طی بررسی نتایج Ehyaii and Khajeh Hosseini (2011) کاربرد نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، گیاهچه نرمال و متوسط زمان جوانه‌زنی گیاه دارویی شنبلیله شد. عده‌ای از محققان اعلام کردند که پرایمینگ بذر با نیترات پتاسیم طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه بذرهای جوانه‌زده در گیاهان مختلف را تحت شرایط تنش شوری افزایش داده است (Yagmur and Kaydan, 2008). کاربرد سالیسیلیک اسید ۱۵۰۰ میکرومولار باعث افزایش طول ساقه‌چه شد و افزایش سطوح تنش شوری اثر کاهشی بر طول ساقه‌چه، گیاهچه و شاخص بنیه طولی گیاهچه گیاه دارویی شنبلیله داشت (Abbasi et al., 2013). البته در این آزمایش استفاده از غلظت پنج درصد اثر چشمگیری بر صفات کمی مورد مطالعه نداشت. افزایش کلرید سدیم کاهش میزان کلروفیل و کارتونئید را نسبت به عدم تنش شوری در پی داشت. هیدروپرایمینگ ٢٤ ساعت در شرایط تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار با افزایش محتوای کلروفیل و کارتنوئید بیش‌تری نسبت به دیگر سطوح تیماری روبرو شد. Fariduddin et al. (2003) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید موجب افزایش سرعت فتوسنتز می‌شود. در گیاهان حساس به تنش شوری مانند گندم (Ehsanzadeh et al., 2009)، کلزا (Ashraf and Mc Neilly, 2004) و برنج (Kanawapee et al., 2012) کاهش غلظت کلروفیل، در حالی که در گیاه متحمل به شوری مانند چغندرقند افزایش غلظت کلروفیل تحت تنش شوری گزارش شده‌است (Jamil et al., 2007). Mittal et al. (2012) مشاهده نمودند که گیاهان متحمل به شوری کلزا محتوای کلروفیل بالاتری در شرایط تنش شوری نسبت به ارقام حساس دارا بودند؛ همانگونه که در گندم و گلرنگ نیز میزان کلروفیل بالاتر در شرایط تنش شوری می‌تواند به عنوان معیار انتخاب برای اصلاح مقاومت به تنش شوری به کار گرفته شود (Cuin et al., 2010). افزایش تنش شوری، افزایش محتوای پرولین را در پی داشت. طبق مشاهدات این افزایش میزان پرولین در کاربرد نیترات پتاسیم سه درصد در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار بود. Sarahi Nobar et al. (2010) نیز در آزمایشی با بررسی تأثیر تنش شوری بر وزن تر و خشک گیاهچه و میزان پرولین چهار توده بومی شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) در شرایط کشت بافت گزارش کردند که با افزایش غلظت نمک وزن تر و خشک هر چهار توده کاهش یافت در حالی که محتوای پرولین با افزایش شوری در تمامی توده‌ها افزایش یافت، که با نتایج بدست آمده از این پژوهش نیز مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

به نظر می‌رسد گیاه شنبلیله گیاهی مقاوم به تنش می‌باشد و کاربرد هیدروپرایمینگ نسبت به سطوح دیگر دارای اثر مثبت بر صفات مورد بررسی بود.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از مسئولین دانشکده کشاورزی، آزمایشگاه‌های زراعت و تکنولوژی بذر به خاطر فراهم کردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی کنند.

References

Abbasi, R., Esmailzadeh, I. and Zeynali, A. 2013. Effect of seed priming with salicylic acid and salinity levels on Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). National Conference of Passive Defense In Agriculture. Qeshm Island - November 2013. (In Persian).

Abdullaev, F. I. and Espinosa-Aguirre, J. J. 2004. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. Cancer Detection and Prevention, 28 : 426–432.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Poly phenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24 (1):1 -150.

Artola, A., Carrillo-Castaneda, G. and Santos, G.D.L. 2003. Hydropriming: A Strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. Seed Science and Technology. 31(2): 455-463.

Arzani, A. 2008. Improvement of Salinity Tolerance in Crops: A View of Biotechnology, in Cellular and Cell Biological Conditions. Pp:443-383. (In Persian).

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

Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman. S. and RHA. E. S. 2004. Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). Photosynthetica. 42(4): 543-550.

Bates, L.S., Waldern, R. P. and Teave, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39:205-207.

Cavusoglu, K. and Kabar, K. 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. Europa Asian Journal of Biology Sciences. 4: 70-79.

Copland, L.O. and McDonald, M.B. 1995. Principles of Seed Science and Technoloy. Thired edition. Champan and Hall. Pp: 393.

Cuin, T.A., Parsons, D. and Shabala, S. 2010. Wheat cultivars can be screened for NaCl salinity tolerance by measuring leaf chlorophyll content and shoot sap potassium. Functional Plant Biology. 37: 656-664.

Demir Kaya, M., Gamze, Okc¸ U., Atak, M. and Yakup, C. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Europa Journal Agronomy. 24:291–295

Donaldson, E., Schillinger, W.F. and Stephen, M.D. 2001. Straw production and grain yield relationships in winter wheat. Crop Science. 41: 100 106.

Ehsanzadeh, P., Nekoonam, M.S., Azhar, J.N., Pourhadian, H. and Shaydaee, S. 2009. Growth, chlorophyll, and cation concentration of tetraploid wheat on a solution high in sodium chloride salt: hulled versus free-threshing genotypes. Journal of Plant Nutrition. 32: 58-70. (In Persian).

Ehyaii, H.R. and Khajeh Hosseini, M. 2011. Evaluation of germination and sleep characteristics in 30 seedlings of medicinal plants. Iran Agronomic Research. 9(4): 658-651. (In Persian).

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 377-409.

Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. 2003. Salicylic acid influences on net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in Brassica juncea. Photosynthet. 41: 281-284.

Ghana, S.G. and Schillinger, W.F. 2003. Seed priming winter wheat for germination, emergence, and yield. Crop Science. 43(6): 2135-2141.

Ghasemi jobshahr, E. and Khoramivafa, M. 2013. Effect of Pretreatment of Salicylic Acid on Germination and Seedling Properties Callendulla officinalis in Salt Stress Condition. Plant Production Technology. 17(2): 57-70. (In Persian).

Gu, Z., Chen, D., Han, Y., Chen, Z. and Gu, F. 2008. Optimization of carotenoids extraction from Rhodobacter sphaeroides. Learning With Technologies. 41: 1082–1088

Halmer, P. 2004. Methods to improve seed performance in the field. In: Benech-Arnold RL, Sanchez RA (Eds), Handbook of Seed physiology: Application to Agriculture. Pp: 65-125.

ISTA (International Seed Testing Association). 2008. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. 24: 155-202.

Jamil, M., Rehman, S. and Rha, E. S. 2007. Salinity Effect on plant growth, PSII photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). Pakistan Journal of Botany. 39: 753-760.

Kanawapee, N., Sanitchon, J., Lontom, W. and Threerakulpisut, P. 2012. Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. Plant and Soil. 358: 235-249.

Kaur, S., Gupta, A.K. and Kaur, N. 2002. Seed priming increase crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. Journal of Agronomy and Crop Science. 191(2): 81-87.

Mittal, S., Kumari, N. and Sharma, V. 2012. Differential response of salt stress on *Brassica juncea* : Photosynthetic performance, pigment, proline, D_1 and antioxidant enzymes. Plant Physiology and

Biochemistry. 54: 17-26.

Omidbeigi, R. 2004. Production and processing of medicinal plants, Volume 3, Third edition, Astan Quds Razavi Publishing House. P:275. (In Persian).

Roumani, A. and Ehteshami, S.M. 2014. Effect of different levels of salinity stress on seed germination and early growth of fenugreek (*Trigonella foenum* L.) seedling. 1(1):33-45. (In Persian).

Saadatyan, B., Ahmadvand, Gh. and Soleimani, F. 2012. Seed priming effect on *Satureja hortensis* characteristics of drought stress and salt stress. Journal of Science and Technology of Seed. 2(2): 44-33.

Sarahi Nobar, M., Niknam, M. and Moradi, B. 2010. Effect of salinity stress on protein content, pigments, sugars and phenolic compounds in tissue culture of several species of Iranian fenugreek. Sciences University of Tehran. 36(2): 59-53.

Yagmur, M. and Kaydan, D. 2008. Alleviation of osmotic stress of water and salt in germination and seedling growth of triticale with seed priming treatments. African Journal Biotechnology. 7 (13): 2156-2162.

Yousefian, M., Tatian, M., Tamartash, R. and Montazeri, F. 2012. Investigation of Salt Stress on Seed Germination of *Trigonella foenum-graecum*. National Conference on Environment and Plant Production. Islamic Azad University of Damghan. 15th and 16th of October 2012. (In Persian).

Zalai, G., Tari, I., Janda, T., Pestenácz, A. and Páldi, E. 2000. Effects of cold acclimation and salicylic acid on changes in ACC and MACC contents in maize during chilling. Biology of Plant. 43: 637-640.

Journal of Seed Research, Vol. 8, No. 1, Spring 2018

Evaluate the Effects of Different Levels of Priming on Germination Characteristics, Seed Germination and Some Traits of Physiology of Fenugreek Medicinal Plant Fenugreek Under Salt Stress

Z. Valipour Dahnoo[*1], M. Amini Dehahghi[2], Kh. Ahmadi[3]
[1]M.Sc. graduated student, University of Shahed, Tehran, Iran.
[2]Associate Professor, University of Shahed, Tehran, Iran
[3]M.Sc, University of Shahed, Tehran, Iran

Abstract

In order to study priming on germination, growth and physiological characteristics of Isfahan mass of Fenugreek under salinity stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications at the Seed Technology Laboratory Faculty of Agricultural Sciences Shahed University in year 2017. The treatments consisted of 5 levels of priming (distilled water) and hydroperimizing distilled water for 24 hours, hydroperimizing distilled water for 48 hours, 3% potassium nitrate and 5% salicylic acid) and Salinity stress in four levels (0, 50, 100 and 150 mM). The results of analysis of variance indicated significant effect of priming and salinity stress on germination, growth, photosynthetic pigmentation and proline content. The results of the comparison of the average effect of the interaction showed that on the germination percentage showed that hydroperiming with 150 mM slinity stress of 100%. According to the results of the comparison, the average of 24 hour hydroperimage in relative traits such as germination speed, shoot length, seedling length, chlorophyll content, carotenoid content and proline content in Indian mass with relative salinity increased compared to other levels. It seems that the herbaceous plant is resistant to stress and the use of hydropriming has improved the effect on the traits compared to other levels.

***Keywords*:** Germination Percentage, Seedling Index, Fenugreek, Carotenoid, Chlorophyll.