اثر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) در شرایط تنش شوری

ابوالفضل معصومی زواریان[۱]، مجتبی یوسفی‌راد[۲]*، محسن اصغری[۲]

[۱] کارشناس‌ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه

[۲] استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۲۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی ماریتیغال تحت شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. فاکتور اول سطوح شوری شامل صفر (شاهد)، ۱۳/۷ و ۲۲/۸۵ دسی‌زیمنس بر متر نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار) و فاکتور دوم سالیسیلیک اسید شامل صفر (شاهد)، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بر اساس نتایج تحقیق، تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن تر و خشک گیاهچه، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و میزان پروتئین شد ولی فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد، به طوری که بیشترین تأثیر در شوری دوم (۲۲/۸۵ دسی‌زیمنس بر متر) دیده شد. پرایمینگ بذر با سالیسیک اسید باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز و کاتالاز شد، همینطور بین سطوح ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی در تیمار ۱۳/۷ دسی‌زیمنس بر متر شوری شد، ولی در تیمار ۲۲/۸۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و پروتئین و کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در شرایط شور و غیرشور را سبب شد. تحقیق حاضر نشان داد پیش تیمار بذور مارتیتغال با ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلک، اثرات تنش شوری ۱۳/۷ دسی‌زیمنس بر متر را بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی تعدیل کرد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های اکسیدانت، پرایمینگ بذر، تنش شوری، شاخص‌های جوانه‌زنی، ماریتیغال.

مقدمه

ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) گیاهی یک ساله یا دو ساله متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) و بومی مناطق مدیترانه‌ای است. این گیاه از زمان‌های قدیم در طب سنتی اروپا و آسیا برای درمان نارسایی‌های مختلف کبد مورد استفاده بوده است. میوه این گیاه دارای مقدار زیادی روغن (۳۵ –۲۰ درصد) است که از این نظر قابل مقایسه با دانه‌های روغنی است (Fatahi and Azadmard, 2009; Hasanloo et al., 2008).

*نویسنده مسئول: m.yousefirad@iau-saveh.ac.ir

با افزایش مشکلات مربوط به شور شدن اراضی در دهه‌های گذشته، نیاز به محصولاتی با مقاومت بیشتر به شوری ضروری می‌باشد (Sivritepe et al., 2003). فرآیند جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، از جمله مراحل مهم رشد گیاهان است که تحت تأثیر شوری آب و خاک قرار می‌گیرد. اختلال در فرآیند جذب آب توسط گیاهان، تجمع املاحی نظیر سدیم در بافت گیاهی و عدم توازن یون‌ها در خاک و گیاه از اثرات تنش شوری است (Ashraf and McNielly, 2004). تنش شوری سبب تأخیر در ظهور گیاهچه، کاهش درصد جوانه‌زنی، کاهش رشد گیاهچه و تخریب غشای سلولی می‌شود (Farhoudi et al., 2007). در پژوهش‌های دیگری دیده شد شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، کاهش رشد گیاهچه و وزن گیاهچه شد (Kaya et al., 2006; Okcu et al., 2005). بر اساس نتایج (Masoumi Zavariyan et al., 2015)، تنش شوری موجب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش پروتئین در ماریتیغال شد. در تحقیقی تأخیر در جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه لوبیا چشم بلبلی در شرایط تنش شوری را ناشی از کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز دانستند(Oliveira-Neto et al., 1998).

مزایای آماده‌سازی بذر شامل بالا بردن مقاومت گیاه در مناطق تحت تنش شوری و خشکی، افزایش عملکرد بذرهایی با قوه نامیه پایین، شکست خواب بذر و همچنین افزایش محصول می‌باشد (Dumet and Benson, 2000). بر اساس نتایج (Asghari et al., 2013)، پرایمینگ بذر موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز گردید. سالیسیلیک اسید یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوطه به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارد (El-Tayeb, 2005). اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گوناگونی از اسید سالیسیلیک بر سیستم‌های گیاهی مشاهده شده است که شامل افزایش جذب و انتقال یون، جوانه زنی بذر، نفوذپذیری غشا، تنفس میتوکندریایی، بسته شدن روزنه‌ها، انتقال مواد، سرعت رشد و سرعت فتوسنتز می‌باشد (Afzal et al., 2006). همچنین در تحقیقی دیده شد که سالیسیلیک اسید در جوانه‌زنی نقش دارد (Zheng et al., 2003) و (Rajasekaran et al., 2002) نشان دادند که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید باعث تحریک جوانه‌زنی بذور می‌شود. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد سالیسیلیک اسید و ترکیبات وابسته به آن بر جوانه‌زنی بذر و رشد و نمو گیاهان در شرایط تنش و غیرتنش تأثیر دارند (Hayat and Ahmad, 2007; Senaranta et al., 2000). کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاهان باعث کاهش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) می‌گردد که به دنبال آن مقاومت در گیاه ایجاد می‌کند. همچنین اسید سالیسیلیک باعث افزایش بعضی از هورمون‌های گیاهی شامل اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها (Shakirova et al., 2003) و کاهش نشت یونی از سلول‌های گیاهی می‌گردد (Ghoulam et al., 2001). مطالعات دیگری نشان می‌دهد اسید سالیسیلیک خارجی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را تنظیم کند و مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده را افزایش دهد (He et al., 2002).

ماریتیغال به دلیل داشتن مواد مؤثره فراوان در درمان بیمارهای کبدی، صفراوی و بسیاری از بیماری‌های دیگر و همچنین سازگاری نسبتاً خوب این گیاه دارویی با شرایط آب و هوایی ایران، از جمله گیاهان مهم محسوب می‌شود. بنابراین توسعه کشت این گیاه در کشور و از جمله مناطق شور کشور حائز اهمیت می‌باشد.. از طرفی بهبود سطح سبز و افزایش امکان جوانه‌زنی گیاهان در شرایط تنش از نکات مهم در عملیات به زراعی گیاهان محسوب می‌شود. لذا این تحقیق به بررسی پرایمینگ بذر مارتیغال با اسید سالیسیلک در شرایط شور پرداخت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آذرماه ۱۳۹۱ در آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه خوارزمی تهران به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. بذور از مؤسسه پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. دو فاکتور پیش تیمار بذور با سالیسیلک اسید و تنش شوری مورد بررسی قرار گرفتند. برای پرایمینگ بذور از مقادیر مختلف سالیسیلیک اسید شامل سه سطح صفر، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم در لیتر و برای ایجاد تنش شوری از کلرید سدیم در مقادیر صفر (شاهد)، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار (معادل ۱۳/۷ و ۲۲/۸۵ دسی زیمنس بر متر) استفاده شد. بذور ضدعفونی‌شده به مدت ٢٤ ساعت درون غلظت‌های سالیسیلیک اسید به همراه تیمار شاهد (آب مقطر) قرار گرفتند. بعد از ٢٤ ساعت بذور از ظروف مخصوص تیماردهی خارج شدند و پس از خشک شدن، تعداد ۲۰ بذر در هر پتری‌دیش قرار گرفته‌شد. سپس پتری‌دیش‌ها به ژرمیناتور انتقال داده شدند تا عمل جوانه‌زنی در دمای ۲۵±۱°C به‌مدت ۱۰ روز صورت گیرد. در طول آزمایش، سطوح شوری در پتری دیش‌ها اعمال گردید. برای اندازه‌گیری طول گیاهچه‌ها در هر پتری‌دیش از خط‌کش میلی‌متری استفاده شد و برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، پس از خارج نمودن آنها از پتری‌دیش، درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت قرار گرفتند و در انتها وزن آنها به وسیله ترازوی دقیق دیجیتال اندازه‌گیری شدند(تمام گیاهچه‌ها در هر پتری‌دیش مورد استفاده قرار می گیرد). برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش (Nickel and Cunningham, 1969)، سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش (Cakmak and Horst, 1991)، سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز از روش (Xiao et al., 2006) و میزان پروتئین از روش (Bradford, 1976) استفاده شد. در روز پنجم تحقیق، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بذور و در روز دهم تحقیق، میزان پروتیئن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه‌ها (اندام‌هوایی) مورد بررسی قرار گرفتند. درصد جوانه‌زنی از فرمول زیر محاسبه گردید (Nicols and Heydecker, 1986).

درصد جوانه‌زنی = (تعداد کل بذور/تعداد بذور جوانه‌زده تا روز i) × ۱۰۰

پس از پایان آزمایشات، آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه: براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، شوری و سالیسلیک اسید به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه تأثیر داشتند، همچنین اثر متقابل شوری با سالیسیلیک اسید در سطح احتمال یک درصد بر درصد جوانه‌زنی و در سطح احتمال پنج درصد بر طول گیاهچه تأثیر داشت. افزایش شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه نسبت به شاهد شدند. همچنین مشخص شد که سالیسیلیک اسید سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه نسبت به شاهد شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین تیمارها در جدول ۳ نشان می‌دهد پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید موجب افزایش درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه تا شوری ۱۳/۷ دسی‌زیمنس بر متر گردید به طوری‌که در هر سطح شوری، مصرف سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد سبب بهبود صفات مذکور شد. البته در سطح شوری ۲۲/۸۵ دسی‌زیمنس بر متر، اسید سالیسیلیک نتوانست تاثیر مثبت معنی داری بر درصد جوانه زنی و طول گیاهچه نسبت به شاهد ایجاد نماید. بنابراین در تیمار شوری شاهد و

مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم اسید سالیسیک بالاترین درصد جوانه‌زنی و همچنین بیشترین طول گیاهچه در تیمار ذکر شده به همراه تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم سالیسیک اسید و شوری شاهد مشاهده شد.

وزن تر و خشک گیاهچه: اثر شوری و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل‌شان در سطح احتمال یک درصد بر وزن‌تر و خشک گیاهچه تأثیر داشت (جدول ۱). به‌طوری‌که با افزایش شوری، وزن‌تر گیاهچه و وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد کاهش یافت. همچنین پرایمینگ بذر با سالیسیلک اسید باعث افزایش وزن تر گیاهچه و وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد گردید (جدول ۲). بر اساس نتایج بیان شده در جدول ۳، پرایمینگ بذر با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید موجب افزایش وزن تر و خشک گیاهچه در سطح اول شوری(۱۳/۷ دسی‌زیمنس) شد ولی در شوری ۲۲/۸۵ دسی‌زیمنس سطوح مختلف سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری بر وزن‌تر گیاهچه نداشتند. البته مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم سالیسیلک اسید توانست وزن خشک گیاهچه را افزایش دهد. بنابراین تیمار شوری شاهد و مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم سالیسیلیک اسید بیشترین وزن تر و تیمار بدون شوری و ۲۰۰ میلی‌گرم اسید سالیسیلیک بیشترین وزن خشک را سبب شدند.

فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ بیانگر این بود که اثرات شوری و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز تأثیر داشتند. همین‌طور اثر متقابل شوری با سالیسیلیک اسید به طور معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و در سطح احتمال پنج درصد روی فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیر داشت. نتایج حاکی از افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز با افزایش مقدار شوری در پتری دیش‌ها بود. همچنین پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز شد (جدول ۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۳)، پیش تیمار بذور با سالیسیلیک اسید موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در شرایط غیر شور و شور گردید. بر این اساس در شوری ۲۲/۸۵و عدم مصرف اسید سالیسیلیک، بیشترین فعالیت کاتلاز و پرکسیداز مشاهده شد.

فعایت آنزیم آلفا آمیلاز: نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح شوری در سطح احتمال پنج درصد و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت، ولی در اثر متقابل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). بر اساس نتایج پژوهش، سطوح اول و دوم شوری (۱۳/۷ و ۲۲/۸۵ دسی زیسمنس بر متر) کاهش ۸/٦٦ و ۱۹/٦۱ درصدی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز را نسبت به شاهد موجب شدند اما در اثر پیش تیمار بذور با ۲۰۰ و ٤٠٠ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به میزان ۱۳/۰۹ و ۲٦/۷۷ درصد افزایش یافت. (جدول ۲). پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در شرایط شور و بودن شوری را به همراه داشت به‌طوری‌که درشرایط عدم شوری و شوری ۱۳/۷ دسی‌زیمنس بر متر، مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز گردید. اما در سطح سوم شوری، تاثیر معنی داری از مصرف اسید سالیسیلیک دیده نشد. بنابراین در شرایط شوری شاهد و شوری ۱۳/۷ دسی زیمنس بر متر با مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم اسید سالیسیلیک بالاترین میزان فعالیت آلفا آمیلاز مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۱- نتایج میانگین مربعات تأثیر شوری و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاه ماریتیغال

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	طول گیاهچه	وزن تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	پراکسیداز	کاتالاز	آلفا آمیلاز	پروتئین
شوری	۲	۱۱۶۲۸/۷**	۱۰۲۲۱/۲۹**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۰۰۱**	۰/۶۷**	۱/۰۱**	۳/۲۵*	۱۱٤/۰۹**
سالیسیلیک‌اسید	۲	۱۰۱۷/۵۹**	۱۲۳۹/۲۹**	۰/۰۰۰۰۹**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/٤۱**	۰/٦٦**	۳/۸۹**	۵۰/۱٤**
شوری*سالیسیلیک‌اسید	٤	۱۹۹/۵٤**	٤۱۳/۳۷*	۰/۰۰۰۳*	۰/۰۰۰۰۲*	۰/۲**	۰/۰۸*	۰/٦۵ns	۳٤/۷۳**
خطا	۱۸	٤۱/٦۷	۱۳۹/٦۳	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۸	۰/۰٤	۰/۰۳	۰/٦	٤/۲٦
ضریب تغییرات(درصد)		۱۳/۳	۲۱/۹۳	۱٤/۵۵	۲۳/۰۱	۱۷/٦۵	۸/۷	۱٤	۱۰/۵۲

* و** به‌ترتیب تأثیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد؛ ns: عدم تأثیر معنی‌داری

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاه ماریتیغال

تیمار	درصد جوانه‌زنی	طول گیاهچه (میلی متر)	وزن تر گیاهچه (گرم)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	پراکسیداز (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	کاتالاز (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	آلفا آمیلاز (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)
شوری (ds/m)								
۰	۸۷/۷۸ a	۹۰/۹۸ a	۰/۰۳۹ a	۰/۰۱۷ a	۰/۸٤ b	۱/۵۱ c	٦/۱۲ a	۲۳/۵۳ a
۱۵۰	٤۰/۵٦ b	٤۵/۵۳ b	۰/۰۱٦ b	۰/۰۱۲ b	۱/۲۳ a	۱/۸۸ b	۵/۵۹ ab	۲۰/۳ b
۲۵۰	۱۷/۲۲ c	۲۵/۱۵ c	۰/۰۱ c	۰/۰۰۷ c	۱/۳۷ a	۲/۱۸ a	٤/۹۲ b	۱٦/٤۲ c
سالیسیلیک‌اسید ($mg.Lit^{-1}$)								
۰	۳٦/٦۷ b	٤۲/۰٤ b	۰/۰۱۸ b	۰/۰۰۹ b	۱/۳۹ a	۲/۱٦ a	٤/۸۹ b	۱۷/۳۹ b
۲۰۰	۵۱/٦۷ a	٦۵/۵ a	۰/۰۲۵ a	۰/۰۱۳ a	۱/۰۲ b	۱/۷۳ b	۵/۵۳ ab	۲۱/۷۸ a
٤۰۰	۵۷/۲۲ a	۵٤/۱۲ a	۰/۰۲۲ a	۰/۰۱۳ a	۱/۰۳ b	۱/٦۷ b	٦/۲ a	۲۱/۰۹ a

حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاه ماریتیغال

شوری (دسی زیمنس بر متر)	سالیسیلیک اسید (میلی‌گرم بر لیتر)	درصد جوانه‌زنی	طول گیاهچه (میلی متر)	وزن تر گیاهچه (گرم)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	پراکسیداز (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	کاتالاز (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	آلفا آمیلاز (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن خشک)
۰	۰	٦۸/۳۳ c	٦٦/۲۱ b	۰/۰۳٤ b	۰/۰۱۵ bc	۱/۰۸ bcd	۱/۷ cd	۵/۱۲ bc	۱۹/٤۳ d
۰	۲۰۰	۹۵ b	۱۰۲/٦ a	۰/۰۳۹ ab	۰/۰۲۱ a	۰/۹۱ d	۱/۳۸ e	٦/٤۲ ab	۲٤/۳۷ ab
۰	٤۰۰	۱۰۰ a	۱۰٤/۱۲ a	۰/۰٤۱ a	۰/۰۱٦ b	۰/۵۵ e	۱/٤٤ de	٦/۸۱ a	۲٦/۸ a
۱۳/۷	۰	۲٦/٦۷ f	۳۷/۲٤ c	۰/۰۱۲ d	۰/۰۰۸ def	۱/۳ bc	۲/۱ b	٤/۹۸ bc	۱۷/۳٦ de
۱۳/۷	۲۰۰	٤۱/٦۷ e	٦۱/۱۳ b	۰/۰۲۳ c	۰/۰۱۵ bc	۰/۹۸ cd	۱/۸۲ bc	۵/۱۵ bc	۲۰/۰۷ cd
۱۳/۷	٤۰۰	۵۳/۳۳ d	۳۸/۲۳ c	۰/۰۱٤ d	۰/۰۱۲ bcd	۱/٤۲ b	۱/۷۲ cd	٦/٦٦ a	۲۳/٤۷ abc
۲۲/۸۵	۰	۱۵ f	۲۲/٦٦ c	۰/۰۰۹ d	۰/۰۰۵ f	۱/۸ a	۲/٦۹ a	٤/۵۸ c	۱۵/۳۷ ef
۲۲/۸۵	۲۰۰	۱۸/۳۳ f	۳۲/۷۷ c	۰/۰۱۲ d	۰/۰۰٦ ef	۱/۱۷ bcd	۱/۹۹ bc	۵/۰۳ bc	۲۰/۹ bcd
۲۲/۸۵	٤۰۰	۱۸/۳۳ f	۲۰ c	۰/۰۱ d	۰/۰۱ cde	۱/۱۳ bcd	۱/۸۵ bc	۵/۱۵ bc	۱۳ f

حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد.

پروتئین: اثر اصلی و متقابل فاکتورها بر پروتئین گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). با افزایش مقدار شوری در پتری‌دیش‌ها، پروتئین گیاهچه کاهش یافت و با پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید، برعکس اثر شوری، میزان پروتئین آنها افزایش پیدا کرد (جدول ۲) و پرایمینگ بذر در شرایط شور و بدون شوری افزایش پروتئین را سبب شد به‌طوری‌که در شرایط شاهد و شوری سطح اول، با مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم اسید سالیسیلیک بیشترین مقدار پروتئین دیده شد و در سطح دوم شوری، مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم سالیسیلیک بهترین شرایط را سبب شد. در مجموع در شرایط شاهد و مصرف ٤٠٠ میلی‌گرم سالیسیلیک اسید بیشترین میزان پروتئین دیده شد(جدول ۳).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک و تر گیاهچه شد. شوری از طریق کاهش پتانسیل آب و سمیت یون‌های خاص از قبیل سدیم و کلر و کاهش یون‌های غذایی مورد نیاز مثل کلسیم و پتاسیم، بر جوانه‌زدن بذور و رشد آن‌ها تأثیر می‌گذارد و موجب القای خواب اجباری و کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی بذور می‌شود که با نتایج (Zia and Khan, 2004; Sosa et al., 2005) همخوانی دارد. علاوه بر این، تجمع یون‌های مضر در سیتوپلاسم باعث تجمع و سمیت یک یون خاص شده و در متابولیسم سایر عناصر مورد نیاز گیاهچه جهت رشد اختلال ایجاد کرده و دسترسی به عناصر ضروری رشد را با کاهش روبرو می‌کند که با نتایج (Werner and Finkelstein, 1995; Gorham, 1996) مطابقت دارد. از آنجائیکه در شرایط تنش اسمزی، دسترسی بذر به رطوبت کاهش می‌یابد (Prisco et al., 1992)، لذا عمل هیدرولیز مواد ذخیره‌ای، جهت تولید بافت‌های گیاهچه‌ای با مشکل مواجه شده و وزن تر و خشک گیاهچه کاهش می‌یابد.

در این تحقیق تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در گیاه ماریتیغال شد. مطالعات نشان می‌دهد پاسخ‌های اکسیدانی، به حساسیت و مقاومت گیاهان مورد مطالعه مربوط است. پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) به‌دلیل داشتن اثرات اکسیداتیو در متابولیسم گیاهان، مضر بوده و توسط فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز از بین می‌رود. این آنزیم‌ها از سلول در برابر اثرات H_2O_2 محافظت کرده و نقش مهمی در افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو در شرایط طبیعی به عهده دارند (Ames et al., 1993). نتایج پژوهش فوق با نتایج تحقیقات (Omidi et al., 2010; Zu et al., 2007) در یک راستا قرار دارد. تنش شوری با ایجاد تغییر در پتانسیل اسمزی، روی محدوده وسیعی از فعالیت‌های متابولیکی گیاهان تاثیر می گذارد و با تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپراکسیدها و رادیکال‌های پراکسید هیدروژن، منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. اکسیژن‌های واکنش پذیر محصول تنش یونی و اسمزی شدید هستند که باعث به هم ریختن ساختار غشا و مرگ سلول می‌شوند (Bohnert and Jensen., 1996). گیاهان در مقابله با اکسیژن‌های واکنش پذیر، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهند (Zavariyan et al., 2015).

تنش شوری سبب کاهش میزان پروتئین گیاهچه و فعالیت آلفا آمیلاز بذور ماریتیغال شد. آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم‌های حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در فرآیند جوانه‌زنی است که فعالیت آن تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. تنش شوری سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و جوانه‌زنی بذر *Abelmoschus esculentus* شد (Dkhli and Denden, 2010). محتوای پروتئین به میزان اختلاف بین سنتز و تجزیه آن بستگی دارد، پژوهشگران متعددی کاهش مقدار پروتئین و افزایش نیترات، آمونیوم و اسیدهای آمینه آزاد را تحت شرایط شور گزارش کرده‌اند (Nilsen

and Orcutt, 1996; Yonis et al., 1993). کاهش در محتوای پروتئین همچنین می‌تواند به‌دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های نیترات، ردوکتاز، گلوتامین سنتتاز و گلوتامین ۲-اگزالوگلوتارات آمینو ترانسفراز در اثر شوری باشد.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد سالیسیلک اسید سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه، افزایش طول گیاهچه، افزایش فعالیت آلفا آمیلاز بذر و میزان پروتئین گیاهچه‌ها شد و از طرفی کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را سبب شد. چنین به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید به‌عنوان یکی از ترکیبات سازگار به تنش و دارای نقش محوری در پیام‌رسانی سلولی، از طریق تأثیر در سیستم آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش اثر سمی و مخرب تنش شوری شده و جوانه‌زنی را افزایش داده است (قاسمی‌جوبشهر و خرمی‌وفا، ۱۳۹۱). همچنین در تحقیقات دیگر بیان شده سالیسیلیک اسید به طور معنی‌داری نشت یونی و تجمع یون‌های سمی را در گیاهان کاهش می‌دهد (Krantev et al., 2008). طی آزمایشی (Gautam et al., 2009) به این نتیجه رسیدند که سالیسیلیک اسید به مقدار زیادی در تخفیف اثرات منفی تنش شوری و اسمزی که ناشی از افزایش تولید اکسیژن‌های فعال بود، در جوانه‌زنی مؤثر بود. به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید می‌تواند باعث افزایش سرعت استفاده از مواد ذخیره‌ای در بذر شده و افزایش طول گیاهچه و وزن تر و خشک گیاهچه را به دنبال داشته باشد (کافی و همکاران، ۱۳۸۹). سالیسیلیک اسید با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و NADPH اکسیداز متصل به غشای سیتوپلاسمی (آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه H_2O_2)، موجب افزایش موقت و جزئی در مقدار H_2O_2 (به‌عنوان پیام بر ثانویه) گردیده که منجر به القای ظرفیت آنتیاکسیدانتی سلول و سایر پاسخ‌های کاهش دهنده اثرات منفی تنش می‌گردد. از دلایل دیگر بهبود پارامترهای رشد گیاهان تحت تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید، می‌توان به تأثیر سالیسیلیک اسید بر دستگاه فتوسنتزی، مقدار فتوسنتز، فعالیت آنزیم روبیسکو، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، کاهش تنش اکسیداتیو و نشت یونی، افزایش همبستگی‌های غشای زیستی و تغذیه معدنی گیاه نام برد که در مطالعه‌های مختلف به آن‌ها اشاره شده است (Popova et al., 2009; Sreven et al., 2006; El-Tayeb, 2005; Kormakz et al., 2007). سالیسیلیک اسید با تأثیر بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی، پروتئین کینازها و روبیسکو و افزایش سنتز پروتئین‌های مهارکننده پروتئاز، مقدار پروتئین در شرایط تنش را افزایش می‌دهد (Horvath et al., 2007).

نتیجه‌گیری نهایی

بنابر نتایج تحقیق حاضر، پیش تیمار بذر ماریتیغال با سالسیلیک اسید سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی ماریتیغال در شرایط شور و بدون تنش شد. به نظر حضور سالیسیلیک اسید با افزایش آلفا آمیلاز سبب بهبود جوانه‌زنی شده و با افزایش میزان پروتئین کل و کاهش اثرات مضر تنش شوری سبب بهبود رشد گیاهچه شده‌است و نیاز به آنزیم‌های اکسیدانت را کاهش داده است به‌طوری‌که میزان فعالیت کاتلاز و پراکسیداز کاهش یافت. البته بین مصرف ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم مصرف اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری دیده نشد. در مجموع در شوری ۱۳/۷ دسی‌زیمنس بر متر و شرایط بدون شوری اثرات مثبت سالیسیلیک اسید بیشتر دیده شد و با افزایش شوری به ۲۲/۸۵ دسی‌زیمنس بر متر، اثرات مثبت پیش تیمار با سالیسیلک اسید دیده نشد.

References

Afzal, I., Basra, S., Farooq, M., and Nawaz, A. 2006. Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. Agric. Biol. 1: 23-28.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K., and Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. Proc. Natl Acad Sci. 90: 7915–22.

Asghari, M., Eradatmand Asli, D., Yosefirad, M., and Ghandian, M. 2013. The effect of pyridoxine and its duration application on bioactive compounds and biochemical activities of germinated wheat. Ann. Biol. Res. 4 (3): 31-36.

Ashraf, M., and McNeilly, T. 2004. Salinity tolerance in *Brassica* oilseeds. Crit Rev Plant Sci. 23:157-174.

Bohnert, H.J., and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends Biotech. 14: 89-97.

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

Cakmak, I., and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Plant Phisiol. 83: 463-468.

Dkhil, B.B., and Denden, M. 2010. Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. Afr. J. Agric. Res. 5: 1412-1418.

Dumet, D., and Benson, E.E. 2000. The use of physical and biochemical studies to elucidate and reduce cryopreservation-induced damage in hydrated / desiccated germplasm, in Engelmann, F. and Hiroko, T. (Eds.), Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm (Current Research Progress and Application), JIRCAS Press, Tsukuba, Japan, pp. 43-56.

Farhoudi, R., Sharifzadeh, F., Poustini, K., Makkizadeh, M.T., and Kochak pour, M. 2007. The effects of NaCl priming on salt tolerance in canola (*Brassica napus*) seedlings grown under saline conditions. Seed Sci. Technol. 35: 754-759.

Fathi-Achachlouei, B., and Azadmard-Damirchi, S. 2009. 649 Milk Thistle Seed Oil Constituents from Different Varieties Grown in Iran. J. Am. Oil Chem. Soc. 86: 643–648.

Gautam, S. and Singh, P.K. 2009. Salicylic acid induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. Acta physiol. Plant. 31: 1185-1190.

Ghasemi jobshahr, E., and Khoramivafa, M. 2012. Effect of Pretreatment of Salicylic Acid on Germination and Seedling Properties Callendulla officinalis in Salt Stress Condition. Planet production Technology. 4(2): 57-70.

Ghoulam, C.F., Ahmed, F., and Khalid, F. 2001. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. Environ. Exp. Bot. 47: 139-150.

Gill, P.K., Sharma, A.D., Singh, P., and Bnullar, S.S. 2003. Changes in germination, growth and soluble sugar contents of sorghum bicolor Moench seeds under various abiotic stresses. Plant Growth Regul. 40: 157-162.

Gorham, J. 1996. Mechanisms of salt tolerance of halophytes. In: Allah, R.C., Nalcolm, C.V. Aamdy, A. (Eds.), Halophytes Ecologic Agriculture. Marcel Dekker. Inc, pp. 30-35.

Hasanloo, T., Bahmanei, M., Sepehrifar, R., and Kalantari, F. 2008. Determination of Tocopherols and Fatty Acids in Seeds of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. J. Med. Plants. 7 (4): 69-76.

Hayat, S. and Ahmad, A. 2007. Salicylic acid: a plant hormone. Braz. J. Plant Physiol. 18: 137-145.

He, Y.L., Liu,Y.L., Chen, Q., and Bian, A.H. 2002. Thermotolerance related to antioxidation induced by salicylic acid and heat acclimation in tall fescue seedlings. J. Plant Physiol. Mol. Biol. 28: 89-95.

Horvath, E., Szalai, G., and Janda, T. 2007. Induction of Abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Plant Growth Regul. 26: 290-300.

Kafi , M., Eyshi Rezaei , E., Haghighikhah , M., and Ghorbani, S. **2008**. Study the effect of salinity levels and seed priming on germination and seedling properties of two medicinal plant species from Asteraceae family. Agroecology Journal. 2(2). 245-2550

Kaya, M.D., Okcu, G., Atak, M., Cıkıhı, Y., and Kolsarıcı, O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Europe. J. Agro. 24:291-295.

Korkmaz, A., Uzunlu, M., and Demirkairan, A.R. 2007. Treatment with acetylsalicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Acta Physiol. Plant. 29: 503-508.

Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G., and Popova, L. 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. J. Plant Physiol. 165(9): 920-931.

Masoumi Zavariyan, A., Yousefi Rad, M., and Asghari, M. 2015. Effect of seed priming by potassium nitrate on germination and biochemical indices in *Silybum marianum* L. under salinity stress. Int. J. Life Sci. 9(1): 23-29.

Nickel, R.S., and Cunningham, B.A. 1969. Improved peroxidase assay method using leuco 2, 3, 6-trichloroindophenol and application to comparative measurements of peroxidase catalysis. Anal. Biochem. 27: 292–299.

Nicols, M.A., and Heydecker, W. 1968. Two approaches to the study of germination date. Proc. Int. Seed Test Asso.33:531-540.

Nilsen, E.T., and Orcutt, D.M. 1996. Physiology of Plant under stress (Abiotic factors). John Wiely and Sons. *New York*. pp. 322-361.

Okcu, G., Kaya, M.D., and Atak, M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). Turk. J. Agri. For. 29: 237-242.

Oliveira-Neto, B., Damasceno, A.T, Assis, F., Gomes-Filho, E., Enéas-Filho, J., and Tarquinio Prisco, J. 1998. Effect of NaCl salinity on the expression of a cotyledonary a - amylase from *Vigna unguiculata*. Rev. Bra. Fisiol. Vegetal. 10: 97-100

Omidi, H. 2010. Canges of Proline content and activating of Antioxidant Enzymes in two Canola genotype under drought stress. Am. J. plant Physiol. 5 (6): 338 – 349.

Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Yordanova, R.Y., Ivanova, A.P., Krantev, A.P., Szalai, G., and Janda, T. 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. Plant Physiol. Biochem. 47:224-231.

Prisco, J.T., Babtista, C.R., and Pinheiro, J.L. 1992. Hydration dehydration seed pre- treatment and its effects on seed germination under water stress condition. Rev. Bras. Bot. 15(1): 31-35.

Shakirova, F.M., Shakhbutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdionova, R.A., and Fatkhutdionova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seed ling induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164: 317-322.

Sosa, L., Llanes, A., Reinoso, H., Reginato, M., and Luna, V. 2005. Osmotic and secificion effects on the germination of Prosopisstrombulifera. Ann. Botany. 96 (2): 261-267.

Stevens, J., Senaratna, T., and Sivasithamparam, K. 2006. Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. Plant Growth Regul. 49: 77-83.

Werner, J.E., and Finkelstein, R.R. 1995. Arabidopsis mutants with reduced response to NaCl and osmotic stresses. Physiol. Plant. 93: 659-666.

Xiao, Z., Storms, R., and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. Anal. Biochem. 351: 146-148.

Yonis, M.E., Abbas, M.A., and Shukry, W.M. 1993. Effect of salinity of growth and metabolism of Phaseolus vulgaris. Biol. Plant. 35(3): 417-424.

Zia, S. and Khan, M.A. 2004. Effect of light, salinity, and temperature on seed germination of Limoniumstocksii. Canadian J. Bot. 82: 151–157.

Zou, G.H., Liu, H.Y., Mei, H.W., and Luo, L.J. 2007. Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field. J. Int. Agri. Plant Biol. 49:1508–1516.