تأثیر پیش‌تیمار بذر بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاهچه‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت شرایط تنش شوری

علی گنجعلی، حسین اردلان، مهرداد لاهوتی و عبدالله بیک خورمیزی*

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۱۰)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر بر گیاهچه‌های نخود در شرایط شور، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، طی سال ۱۳۹۰ انجام شد. در این مطالعه، از محلول‌های کلرید سدیم با قابلیت هدایت الکتریکی صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به عنوان سطوح مختلف شوری و از پلی‌اتیلن گلیکول- ۶۰۰۰ با پتانسیل اسمزی ۰/۸- مگاپاسکال و کلرید کلسیم با پتانسیل اسمزی ۱- مگاپاسکال به عنوان مواد پیش‌تیمارکننده استفاده شد. بذرها پس از تأثیر مواد پیش‌تیمار، در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند و پس از ۲۸ روز، نمونه‌برداری از گیاهچه‌ها انجام گردید. نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار صفات ارتفاع و وزن خشک بخش هوایی، سطح برگ، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب و افزایش معنی‌دار میزان پرولین برگ شد. در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده، سطح برگ، شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب و میزان پرولین برگ نسبت به شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش یافتند. همچنین، در مواجهه با تنش شوری، صفات مذکور در بذرهای پیش‌تیمار شده نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند. به طور کلّی، در سطوح مختلف شوری، پیش‌تیمار بذر با محلول‌های اسمزی پلی‌اتیلن گلیکول- ۶۰۰۰ (۰/۸- مگاپاسکال) و کلرید کلسیم (۱- مگاپاسکال) باعث کاهش اثرهای منفی شوری بر رشد گیاهچه‌های نخود شد. در این آزمایش، اثر بهبوددهندگی کلرید کلسیم بیشتر از پلی‌اتیلن گلیکول بود.

واژه‌های کلیدی: محلول اسمزی، پلی‌اتیلن گلیکول، کلرید کلسیم، شاخص پایداری غشا

مقدمه

امروزه به علّت استفاده نامناسب از منابع طبیعی و به‌کارگیری فناوری‌های نامناسب در تولید محصولات کشاورزی، به ویژه در رابطه با آب آبیاری، بخش قابل توجّهی از زمین‌های کشاورزی در مناطق خشک با پدیده شوری مواجه هستند (۳).

حبوبات از منابع مهم غذایی سرشار از پروتئین برای تغذیه انسان و دام به شمار می‌روند. در تغذیه انسان، حدود ۲۲٪ پروتئین گیاهی، ۳۲٪ چربی و ۷٪ هیدرات‌های کربن از حبوبات تأمین می‌گردد (۲). در بین گیاهان زراعی، حبوبات به‌عنوان گیاهان نسبتاً حساس به شوری طبقه‌بندی می‌شوند که در بین آنها لوبیا، نخود، عدس، باقلا و نخود فرنگی حساسیت بیشتری به شوری دارند (۱). خشکی به‌عنوان مهم‌ترین تنش غیرزنده برای گیاه نخود معرفی شده است (۹)، بنابراین نیاز به کارگیری روش‌هایی است که بتوانند تأثیر نامطلوب تنش را کاهش داده و عملکرد دانه را بهبود بخشند. یکی از این شیوه‌ها، استفاده از پیش‌تیمار بذر است که روشی اقتصادی، ساده و قابل توصیه به

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: abdollahbeyk@gmail.com

کشاورزان برای بهبود جوانه‌زنی، سبز شدن، استقرار گیاهچه‌ها و عملکرد می‌باشد. این روش شامل خیس کردن بذر در آب، محلول‌های نمک غیر آلی، محلول‌های آلی اسمزی، تیمار بذرها در دماهای کم و زیاد، مرطوب کردن با استفاده از ترکیبات زیستی و تیمار با ماده جامد می‌باشد (۴ و ۲۸). در روش پیش‌تیمار، بذرها پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیک محیط، به لحاظ عملکردی و زیستی، آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند و در واقع یک نوع تیمار قبل از کاشت بذر محسوب می‌شود (۲۳).

در تحقیقی، هریس و همکاران (۲۲) با استفاده از پیش‌تیمار بذر ذرت، نخود و برنج قبل از کاشت، جوانه‌زنی و صفات مربوط به آن را تحت تنش شوری ارتقا دادند. اشرف و رئوف (۵) گزارش کردند که پیش‌تیمار بذر با آب و یا محلول اسمزی در گیاه ذرت تحت شرایط تنش شوری، جوانه‌زنی و استقرار اولیه را بهبود بخشید. سیوریتپ و همکاران (۴۳) طی آزمایشی، بذرهای خربزه را با NaCl (محلول ۱۸ دسی‌زیمنس بر متر) پیش‌تیمار نمودند و پس از کشت در محیط شور بیان داشتند که درصد و سرعت خروج ریشه‌چه، وزن خشک و سرعت خروج گیاهچه در شرایط تنش شوری در بذرهای پیش‌تیمار شده نسبت به بذرهای پیش‌تیمار نشده به طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین، طول بخش هوایی در گیاه خربزه نیز در بذرهای پیش‌تیمار شده نسبت به شاهد افزایش داشت (۳۵). در برهمکنش پیش‌تیمار و تنش شوری، فرح‌بخش و شمس‌الدین (۱۷)، بهبود وزن خشک بخش هوایی، طول ساقه و سطح برگ در گیاه ذرت و فرهودی و همکاران (۱۸)، بهبود وزن خشک بخش هوایی خربزه را نسبت به شاهد به‌دست آوردند. پیش‌تیمار بذر موجب همانند سازی سریع DNA (۱۱)، فراهم شدن ATP بیشتر (۳۲)، رشد سریع جنین (۱۴)، ترمیم و بازسازی قسمت‌های فرسوده بذرها (۳۹) و کاهش نشت متابولیت‌ها (۴۴) می‌شود. همچنین، پیش‌تیمار بذر باعث افزایش سنتز پروتئین در جنین، افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند استروئاز، فسفاتاز و ۳- فسفو گلیسرید دهیدروژناز که به نوبه خود متابولیسم مواد ذخیره‌ای بذر مثل کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها را افزایش می‌دهند، می‌شود (۴۲). مطالعات در این زمینه نشان داده که نتایج کاربرد پیش‌تیمار بذر در کشورهایی چون هندوستان، زیمبابوه، پاکستان و نپال بسیار امیدوارکننده بوده است (۲۳). لذا، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر در کاهش اثرهای مضر شوری و افزایش رشد گیاه نخود، انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار در بهبود آسیب‌های ناشی از تنش شوری بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه نخود تیپ دسی (*Cicer arietinum* L. Desi type)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در تابستان ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در این مطالعه، تأثیر پیش‌تیمارهای پلی‌اتیلن گلیکول-۶۰۰۰ (پتانسیل اسمزی ۰/۸- مگاپاسکال) و کلرید کلسیم (پتانسیل اسمزی ۱- مگاپاسکال) در چهار سطح شوری ایجاد شده با کلرید سدیم (صفر (شاهد)، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بر گیاهچه‌های نخود مورد بررسی قرار گرفت. به منظور اعمال پیش‌تیمار، بذرهای نخود به مدت ۲۴ ساعت در محلول‌های اسمزی قرار گرفتند. سپس، بذرهای تیمار شده تا رسیدن به محتوای آب اولیه خشک شدند. بذرهای خشک شده در گلدان‌های حاوی ماسه کشت و آبیاری در سطح ظرفیت زراعی انجام شد. گلدان‌ها به مدت یک هفته تا سبز شدن با آب معمولی آبیاری و سپس گیاهچه‌ها تنک شدند و در هر گلدان سه گیاهچه باقی ماند. پس از این زمان، گلدان‌ها مطابق تیمارهای آزمایشی (محلول هوگلند همراه با سطوح مختلف شوری) آبیاری شدند. طی دوره رشد، فتوپریود شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دما ۲۴-۲۶ درجه سلسیوس ثابت نگه داشته شد. پس از سپری شدن ۲۸ روز از زمان کاشت، گیاهان برداشت شدند. بخش هوایی به وسیله خط‌کش و سطح برگ‌ها توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (ساخت شرکت ADC انگلستان، مدل Light Box)، اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک،

بخش هوایی بـه مـدت ۴۸ سـاعت در آون در دمـای ۷۰ درجـه سلسیوس خشک و توزین شد.

برای تعیین شاخص پایداری غشـای سـلولی، ۰/۱ گـرم از برگ دوم هر گیاه توزین و داخل دو دسته لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شد. یـک دسـته از لولـه‌هـا در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه و دسته دیگر لوله‌ها در حمام آب گـرم در دمـای ۱۰۰ درجـه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از رسیدن دمای لوله‌ها به دمای محیط، قابلیت هدایت الکتریکـی نمونـه‌هـا بـه وسیله دسـتگاه EC متـر انـدازه‌گیـری شـد و سـپس شـاخص پایداری غشا از معادله زیر به‌دست آمد (۴۰):

شاخص پایداری غشا = ۱- (EC آب در دمای $40^{o}C$ / EC آب در دمای $100^{o}C$) ×۱۰۰ [۱]

محتوای نسبی آب نیز با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (۸):

$$RWC = (FW - DW / TW - DW) \times 100 \qquad [2]$$

که RWC محتوای نسـبی آب، FW وزن تـر بـرگ، DW وزن خشـک بـرگ و TW وزن بـرگ در حالـت تورژسـانس کامل است.

جهـت اسـتخراج و سـنجش پـرولین از روش بیـتس و همکاران (۷) استفاده شد. بدین منظور، ۰/۵ گرم از بافت برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اسـید سولفوسالیسـیلیک ۳٪ در هـاون چینـی ساییده و محلول حاصل توسط کاغذ صـافی واتمـن شـماره ۲ صاف و از آن برای سنجش پرولین استفاده گردید. دو میلی‌لیتر از محلـول حاصـل بـا ۲ میلـی‌لیتـر معـرف نـین‌هیـدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لولـه آزمـایش مخلـوط شدند. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و سپس بلافاصله بـه ظـرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابـد و پـس از آن بـه دمای اتاق منتقل شدند. سپس، به محتویات داخل لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فـاز تولوئن رنگـی حـاوی پـرولین در بـالا و فـاز آبـی شـفاف در پایین). پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی بـا استفاده از دسـتگاه اسـپکتروفتومتر درطـول مـوج ۵۲۰ نـانومتر اندازه گیری شـد و بـا اسـتفاده از منحنـی اسـتاندارد، غلظـت پرولین در محلول تعیـین شـد. در نهایـت، مقـدار پـرولین بـر اساس میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاهی محاسبه شد.

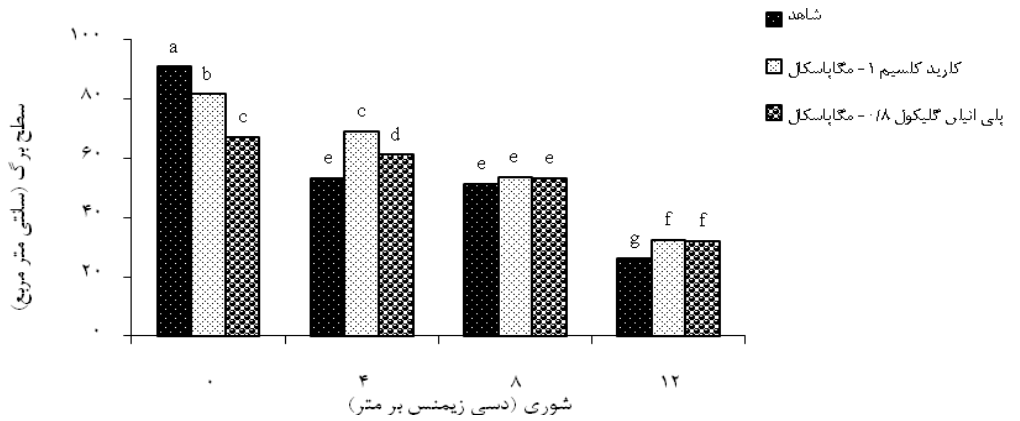
تجزیـه و تحلیـل آمـاری داده‌هـا بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار Mstat-C انجام و بـرای مقایسـه میـانگین‌هـا از آزمـون چنـد دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵٪ ($P\leq0/05$) استفاده شد. نمودارها نیز به وسیله نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج

سطح برگ

تجزیه و تحلیل واریـانس داده‌هـا حکایـت از تـأثیر معنـی‌دار ($P\leq0/01$) تنش شوری بر سطح برگ نخود داشت (جدول ۱). در این آزمایش، در تمام سطوح شـوری، سـطح بـرگ کـاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. کمترین اندازه سطح برگ در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متـر (۳۰/۲۷ سـانتی‌متـر مربـع) مشاهده شد که نسبت به شاهد (۸۰/۰۱ سانتی‌متر مربع)، بیش از ۲/۵ برابـر کـاهش داشـت (جـدول ۲). تجزیـه و تحلیـل واریانس داده‌ها مؤید آن بود که پیش‌تیمار و اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار نیز تـأثیر معنـی‌داری ($P\leq0/01$) بـر سـطح بـرگ نخود داشت (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که استفاده از هر دو نوع ماده پیش‌تیمـار، کلریـد کلسـیم ($CaCl_2$) (۱- مگاپاسـکال) و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) (۰/۸- مگاپاسکال)، سطح بـرگ را بـه صورت معنی‌داری افزایش داد. در این راستا، پیش‌تیمار بـا $CaCl_2$ سطح برگ را به‌صورت معنـی‌داری نسـبت بـه PEG افـزایش داد (جدول ۳). در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، پیش‌تیمار با $CaCl_2$، سطح برگ گیاهچـه‌هـای نخـود را نسـبت بـه پـیش‌تیمـار PEG به‌صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار بذر بر سطح برگ گیاهچه های نخود. ستون‌های دارای حرف یا حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند.

ارتفاع گیاه و وزن خشک بخش هوایی

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها حاکی از آن بود که تنش شوری تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بر ارتفاع و وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌های نخود داشت (جدول ۱). این دو صفت در تمام سطوح شوری در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش نشان دادند (جدول ۲). در این آزمایش، پیش‌تیمار بذر و برهمکنش آن با شوری، تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه نخود نداشت؛ ولی برهمکنش پیش‌تیمار بذر و شوری تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بر وزن خشک بخش هوایی نخود داشت (جدول ۱). وزن خشک بخش هوایی در گیاهان پیش‌تیمار شده در تمام سطوح شوری نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافتند. در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر، اختلاف بین دو ماده پیش‌تیماری معنی‌دار نبود؛ ولی در شوری‌های ۴ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر این اختلاف معنی‌دار بود. به‌طوری که پیش‌تیمار با $CaCl_2$ در مقایسه با پیش‌تیمار با PEG وزن خشک بخش هوایی را بیشتر افزایش داد (شکل ۲).

شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب

با افزایش تنش شوری، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ به‌صورت معنی‌داری (P≤۰/۰۱) کاهش یافت. کمترین مقدار این دو صفت در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۲). پیش‌تیمار با هر دو ترکیب مورد بررسی، موجب افزایش معنی‌دار (P≤۰/۰۱) شاخص پایداری غشا شد. در حالی که پیش‌تیمار بذر تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب در برگ گیاهچه‌های نخود نداشت (جدول ۳). تأثیر برهمکنش پیش‌تیمار و شوری بر هر دو صفت شاخص پایداری غشا (P≤۰/۰۱) و محتوای نسبی آب معنی‌دار (P≤۰/۰۵) بود (جدول ۱). پیش‌تیمار در تمام سطوح شوری باعث افزایش معنی‌دار شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب نسبت به شاهد شد. در این ارتباط، پیش‌تیمار بذر با $CaCl_2$ نسبت به PEG، شاخص پایداری غشا را در تمام سطوح شوری به‌صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل ۳). در تمام سطوح شوری، افزایش محتوای نسبی آب در پیش‌تیمار PEG در مقایسه با پیش‌تیمار $CaCl_2$ بیشتر بود (شکل ۴).

میزان پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات بیانگر این موضوع است که تنش شوری تأثیر معنی‌داری (P ≤۰/۰۱) بر میزان پرولین موجود در برگ گیاهچه‌های نخود دارد (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین مشاهدات نشان داد که با افزایش سطح شوری، میزان پرولین موجود در برگ نسبت به شاهد، به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها حکایت از تأثیر معنی‌دار (P≤۰/۰۱) پیش‌تیمار بذر و اثر توأم

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تأثیر شوری، پیش‌تیمار بذر و برهمکنش آنها بر برخی صفات مورفولوژیک گیاهچه‌های نخود

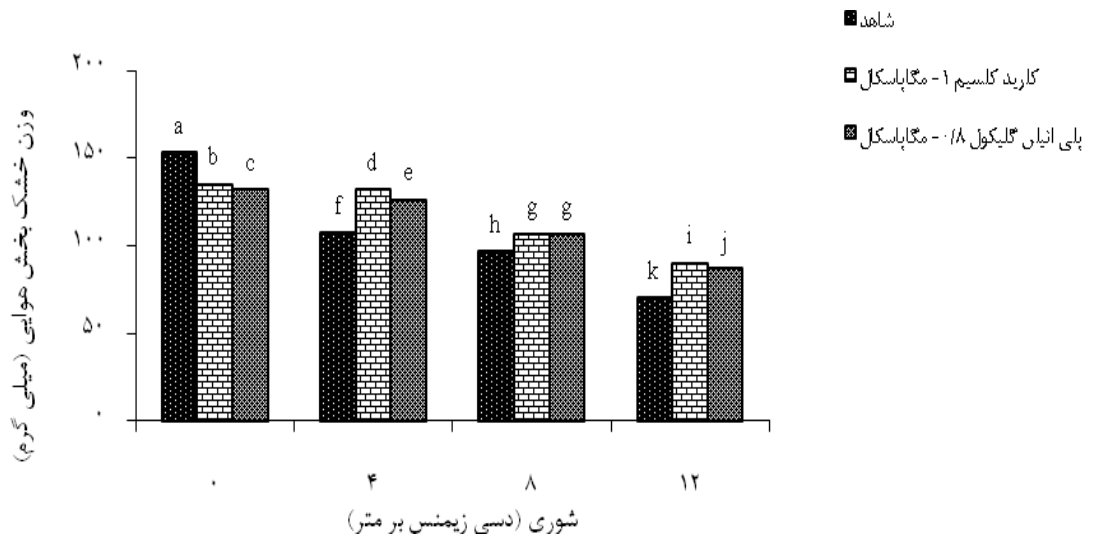
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	سطح برگ (cm^2)	شاخص پایداری غشا (٪)	محتوای نسبی آب (٪)	پرولین برگ (µm/g FW)
شوری	۳	۱۱۷/۵۸۴**	۵۵۴۲/۷۶۹**	۳۸۲۸۲۸۵۳/۵۱۹**	۶۲۴۰۵/۴۴۴**	۷۹۲/۰۷۴**	۸۶۸/۶۳۰**
پیش‌تیمار	۲	۴/۱۹۶^{ns}	۲۵۳/۰۲۸^{ns}	۹۹۹۵۰۶/۲۵۰**	۳۴۴۸/۷۷۸**	۲۵/۴۶۵**	۳۱/۶۹۴**
شوری× پیش‌تیمار	۶	۱۰/۴۹۵^{ns}	۳۶۰/۷۶۹**	۱۸۲۵۳۵۵/۵۴۶**	۱۵۵/۴۴۴**	۳/۴۸۴*	۲/۳۲۴**
خطا	۲۴	۵/۳۶۷	۱۰۸/۳۰۶	۸۷۹۷۴/۶۱۱	۵۲۲/۱۱۱	۱۳/۷۳۶	۲/۸۸۹

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و غیر معنی‌دار

جدول ۲. نتایج مقایسه میانگین برخی از صفات مورفولوژیک گیاهچه‌ای نخود تحت تأثیر سطوح مختلف شوری

سطح شوری (دسی‌زیمنس بر متر)	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	سطح برگ (cm^2)	شاخص پایداری غشا (٪)	محتوای نسبی آب (٪)	پرولین برگ (µm/g FW)
۰	۳۰/۲۸ a	۱۴۰ a	۸۰/۰۱ a	۳۵/۰۴ a	۹۲/۷۸ a	۲۲/۰۰ d
۴	۲۷/۵۸b	۱۲۰b	۶۱/۳۰ b	۲۶/۵۶ b	۷۹/۶۷ b	۲۷/۶۷ c
۸	۲۴/۷۸c	۱۰۰c	۵۲/۸۷ c	۱۹/۷۸ c	۷۵/۷۸ c	۳۴/۴۴ b
۱۲	۲۱/۸۸d	۸۰d	۳۰/۲۷ d	۱۶/۱۱ d	۷۰/۸۹d	۳۹/۳۳ a

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند (P≤۰/۰۵).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار بذر بر وزن خشک بخش هوایی گیاهچه‌های نخود. ستون‌های دارای حرف یا حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند.

شوری و پیش‌تیمار بذر بر میزان پرولین موجود در برگ گیاهچه‌های نخود داشت (جدول ۱). میزان پرولین موجود در برگ گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده به‌صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. تفاوت بین پیش‌تیمار $CaCl_2$ و PEG معنی‌دار بود، به‌طوری که افزایش میزان پرولین در برگ گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با $CaCl_2$ (۱- مگاپاسکال) در مقایسه با گیاهان رشد یافته از بذرهای پیش‌تیمار شده با PEG (۰/۸- مگاپاسکال) بیشتر بود (جدول ۳). در تمام سطوح شوری، میزان پرولین موجود در برگ گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. در این ارتباط نیز تفاوت بین پیش‌تیمار $CaCl_2$ و PEG معنی‌دار بود. در تمام سطوح شوری، میزان پرولین موجود در برگ گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با $CaCl_2$ نسبت به گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با PEG، افزایش بیشتری یافت (شکل ۵).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تنش شوری، صفات مورفولوژیک رشد شامل ارتفاع بخش هوایی گیاه، وزن خشک بخش هوایی و سطح برگ نخود در مرحله رشد رویشی به طور معنی‌داری کاهش یافتند. نتایج کنونی با گزارش‌های سایر پژوهشگران در مورد نخود و گیاهان دیگر مطابقت دارد. به عنوان مثال، سینگلا و گرگ (۴۱) در مطالعه‌ای روی گیاه نخود نشان دادند که با افزایش سطح شوری، ارتفاع گیاه و ماده خشک در بخش هوایی گیاه کاهش قابل توجهی یافت. همچنین، کاهش ارتفاع گیاه و تعداد برگ‌ها در اثر تنش شوری در لوبیا (۱۵)، گندم (۳۷) و برنج (۲۹) گزارش شده است. بوهنرت و جنسن (۱۰) اعلام نمودند که کاهش ارتفاع بخش هوایی در اثر تنش شوری، ناشی از کاهش فتوسنتز می‌باشد. از طرف دیگر، برای حفظ آماس سلولی و تنظیم اسمزی در شرایط تنش شوری، گیاهان مواد آلی خاصّی مانند پرولین و مانیتول را می‌سازند و به خاطر صرف انرژی زیاد جهت تنظیم اسمزی، رشد اندام‌های هوایی کاهش می‌یابد (۳۶).

کاهش رشد برگ اولین واکنش گیاهان در برابر شوری است (۳۴). متعاقب کاهش سطح برگ، جذب نور کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کم می‌شود. این موضوع باعث کاهش محصولات فتوسنتزی مورد نیاز برای رشد می‌گردد (۴۵). گورهام (۲۰) معتقد است که محیط‌های شور دارای مقدار زیادی از یون‌هایی مانند Na^+، Cl^- و SO_4^{2-} می‌باشند. این یون‌ها علاوه بر اینکه مضر هستند، باعث اختلال در متابولیسم سایر عناصر غذایی نیز می‌شوند. به عنوان مثال، رقابت Na^+ با K^+ و Cl^- با NO_3^-، سبب اختلال در جذب پتاسیم و نیترات توسط گیاه می‌شود.

نتایج اثر توأم شوری و پیش‌تیمار بر بخش هوایی گیاه نخود نشان می‌دهد که در شوری‌های بیشتر از ۴ دسی‌زیمنس بر متر، پیش‌تیمار بذر می‌تواند اثرهای نامطلوب تنش شوری بر ارتفاع گیاه، وزن خشک بخش هوایی و سطح برگ را محدود نماید. مطابق نتایج مطالعه حاضر، بر اساس گزارش اقبال و همکاران (۲۵)، در پیش‌تیمار بذرها با $CaCl_2$، تأثیر تنش شوری، به دلیل تعادل هورمونی از طریق کاهش اسید آبسیزیک و افزایش اسید سالیسیلیک آزاد در بذر و اندام‌های گیاهی، کاهش می‌یابد.

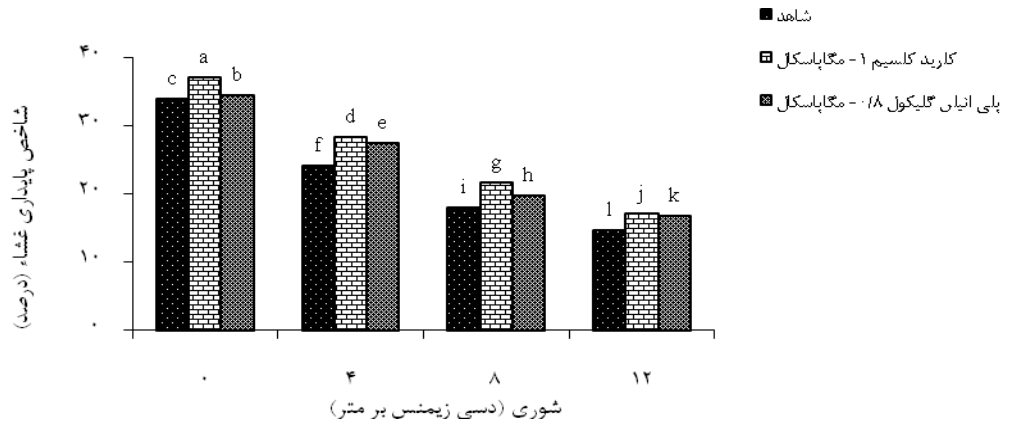
نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح برگ در گیاهان رشد یافته از بذرهای پیش‌تیمار شده در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد که این افزایش در تیمار $CaCl_2$ مشهودتر بود. بنابراین، با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که پیش‌تیمار تأثیر مثبت بر رشد نخود داشته است. کائور و همکاران (۲۶) پیش‌تیمار بذر را علت افزایش تعداد شاخه‌ها و برگ‌ها در گیاه نخود عنوان کردند.

در این آزمایش، شوری تأثیر معنی‌داری بر شاخص پایداری غشا داشت ($P\leq$۰/۰۵)، به‌طوری که با افزایش سطح شوری، این صفت به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. شوری از طریق ایجاد تغییراتی در ساختار و ترکیب لیپیدها و پروتئین‌ها یکپارچگی غشای سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۳). کایا و همکاران (۲۷)، نشان دادند که میزان زیاد کلرید سدیم، کمبود کلسیم را در توت فرنگی القا می‌کند و باعث کاهش پایداری غشای

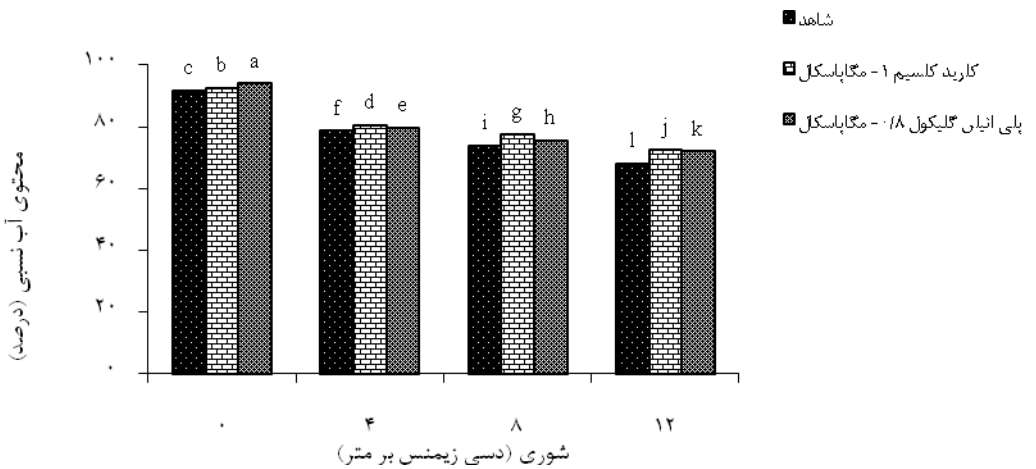
جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین پیش‌تیمار بذر (PEG و $CaCl_2$) بر برخی صفات مورفولوژیک گیاهچه‌ای نخود

ماده پیش‌تیمار	ارتفاع گیاه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (mg)	سطح برگ (cm^2)	شاخص پایداری غشا (٪)	محتوای نسبی آب (٪)	پرولین برگ (µm/g FW)
شاهد	۲۵/۴۵ a	۱۰۶/۸ a	۳۵/۵۹ c	۲۲/۶۲ c	۷۸/۱۳ c	۲۹/۰۰ c
$CaCl_2$ (−۱ Mpa)	۲۶/۵۳ a	۱۱۵/۸ a	۵۷/۶۴ a	۲۶/۰۰ a	۸۰/۸۸ a	۳۳/۰۸ a
PEG (−۰/۸ Mpa)	۲۶/۴۰a	۱۱۲/۹ a	۵۰/۷۷ b	۲۴/۵۰ b	۸۰/۳۳ b	۳۰/۵۰ b

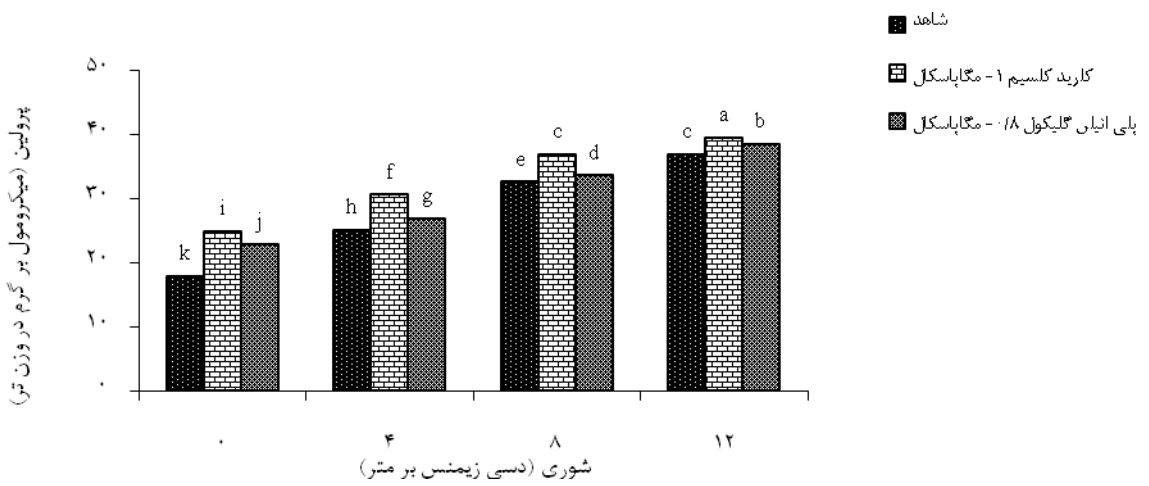
در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند (P≤۰/۰۵).



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار بذر بر شاخص پایداری غشای گیاهچه‌های نخود. ستون‌های دارای حرف یا حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار بذر بر محتوای نسبی آب برگ گیاهچه‌های نخود. ستون‌های دارای حرف یا حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و پیش‌تیمار بذر بر میزان پرولین موجود در برگ گیاهچه‌های نخود. ستون‌های دارای حرف یا حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ندارند.

سلولی می‌شود. بنابراین، در گیاهان تحت تنش شوری، نسبت کلسیم به سدیم کاهش می‌یابد و یون‌های سدیم ممکن است برای مکان‌های اتصال کلسیم در غشا رقابت کنند (۱۲). در بررسی حاضر، به‌کارگیری پیش‌تیمار بذر در شرایط تنش شوری، موجب بهبود پایداری غشای سلول شد. پیش‌تیمار بذر در شرایط بدون تنش شوری، شاخص پایداری غشا را در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش داد ($P\leq$۰/۰۵). این موضوع در مورد بذرهای پیش‌تیمار شده ذرت شیرین، چغندرقند، تربچه، گندم و جو تأیید شده است (۳۸). مک‌دونالد (۳۳) نشان داد که پیش‌تیمار بذر بر یکپارچگی غشای سلولی مؤثر است، به‌طوری که برخی اجزای غشا، مانند اسیدهای چرب C7، C8 و C9 در اثر انجام پیش‌تیمار تغییر یافته و بعد از خشک کردن نمی‌توانند به وضعیت اولیه خود برگردند و در نتیجه از نشت مواد به خارج از بذر جلوگیری می‌گردد.

تنش شوری محتوای نسبی آب را در برگ نخود کاهش داد. این کاهش در تمام سطوح شوری نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۵). به طور مشابه، بررسی‌های متعدد دیگری در مورد کاهش پتانسیل آب برگ در شرایط تنش شوری وجود دارد. کرامر (۳۰)، نشان داد که کاهش پتانسیل آب در محیط اطراف ریشه، موجب کاهش محتوای نسبی آب و کاهش پتانسیل آب گیاهان می‌شود. کاهش محتوای نسبی آب در گیاه زیتون (۲۱) در مواجهه با تنش شوری گزارش شده است. هو و اشمیدهالتر (۲۴)، در تحقیقی روی گندم، اعلام کردند که در تنش شوری، کاهش اولیه پتانسیل آب بیشتر به اختلال در روابط آبی مربوط می‌شود تا سمیت یونی، زیرا در مراحل ابتدایی تنش، غلظت سدیم و کلر هنوز به میزان سمی برای گیاه نرسیده است. نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط تنش، پیش‌تیمار بذر با $CaCl_2$ و PEG هر دو محتوای نسبی آب گیاه نخود را بهبود بخشیدند. به عبارت دیگر، محتوای نسبی آب در برگ گیاهان حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). این موضوع در شرایط بدون تنش نیز صادق بود. بنابراین، پیش‌تیمار بذر تأثیر مثبتی بر محتوای نسبی آب برگ های نخود داشته و احتمالاً تأثیر نامطلوب تنش شوری را بر محتوای نسبی آب کاهش می‌دهد.

نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش شوری، میزان پرولین برگ به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت پرولین برگ نزدیک به ۱/۸ برابر میزان آن نسبت به شاهد شد. پیش‌تیمار و اثر توأم آن با شوری نیز باعث افزایش غلظت این اسید آمینه نسبت به شاهد شد. این نتایج با نتایج اشرفی و رزمجو (۶) بر گیاه گلرنگ و فرهودی و همکاران (۱۸) بر گیاه خربزه مطابقت دارد. پرولین یکی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان و یک مکانیسم سازگاری در

برابر تنش اسمزی است (۱۶). افزایش سنتز پرولین یکی از مکانیسم‌های مقاومت به تنش خشکی است (۳۱). در این آزمایش، در شرایط تنش و بدون تنش، میزان پرولین در برگ افزایش یافت. بنابراین، افزایش تجمع پرولین در گیاهان تیمار شده احتمالاً باعث رشد بهتر این گیاهان شده است. تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ایجاد شده در مدت پیش‌تیمار بذر احتمالاً در مراحل بعدی منجر به تجمع بیشتر پرولین در گیاه می‌شوند (۶). مطالعات اخیر پیشنهاد می‌کنند که پرولین ممکن است یک نقش پایدارکننده برای آنزیم داشته باشد و پراکسیداسیون لیپیدها تحت تنش شوری را کاهش دهد (۱۸).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، تأثیر پیش‌تیمارهای پلی‌اتیلن گلیکول و کلرید کلسیم در چهار سطح شوری ایجاد شده با کلرید سدیم (صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بر گیاهچه‌های نخود مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری، صفات مورفولوژیک رشد گیاه شامل ارتفاع بخش هوایی، وزن خشک بخش هوایی و سطح برگ نخود در مرحله رشد رویشی به طور معنی‌داری کاهش یافتند. با افزایش تنش شوری، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. کمترین مقدار این دو صفت در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد.

سطح برگ در گیاهان رشد یافته از بذرهای پیش‌تیمار شده در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد که این افزایش در تیمار کلرید کلسیم نسبت به پلی‌اتیلن گلیکول مشهودتر بود. پیش‌تیمار با هر دو ترکیب مورد بررسی، موجب افزایش معنی‌دار شاخص پایداری غشا شد؛ در حالی که تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب در برگ گیاهچه‌های نخود نداشت.

پیش‌تیمار بذر و برهمکنش آن با شوری، تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه نخود نداشت؛ ولی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک بخش هوایی داشت. در شوری‌های بیشتر از ۴ دسی‌زیمنس بر متر، پیش‌تیمار بذر می‌تواند اثرهای نامطلوب تنش شوری بر ارتفاع گیاه، وزن خشک بخش هوایی و سطح برگ را محدود نماید.

منابع مورد استفاده

۱. باقری، ع. و م. حسن بیگی. ۱۳۸۸. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر جوانه‌زنی و میزان تجمع یون‌های سدیم و پتاسیم در بذر ارقام لوبیا. مجله تنش‌های محیطی در علوم گیاهی ۱(۲): ۱۳۷-۱۴۲.

۲. حاجی‌خانی، س.، ح. حبیبی، ف. شکاری و م. ح. فتوکیان. ۱۳۹۰. تأثیر پرایمینگ بذر بر عملکرد و اجزاء عملکرد ارقام لوبیا چیتی در شرایط تنش کم‌آبی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۴۲(۱): ۱۹۱-۱۹۷.

۳. داداشی، م.، ا. مجیدی هروان، ا. سلطانی و ع. نوری نیا. ۱۳۸۶. ارزیابی واکنش لاین‌های مختلف جو به تنش شوری. مجله علوم کشاورزی ۱۳(۳): ۱۸۱-۱۹۰.

4. Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment- A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Adv. Agron. 88: 223-271.
5. Ashraf, M. and H. Rauf. 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) through seed priming with chloride salts: Growth and ion transport at early growth stages. Acta Physiol. Plant. 23: 407-414.
6. Ashrafi, A. and Kh. Razmju. 2008. Effects of physiological and biochemical characteristics of safflower hydropriming under drought stress. Crop Ecophysiol. 1: 34-43.
7. Bates, L.S., R.P. Waldern and I.D. Trear. 1973. Rapid determination of free proline for water- stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
8. Bian, Sh. and Y. Jiang. 2008. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Sci. Hort. 3118: 10-17.

9. Bidinger, F.R., S. Chandra and V. Mahalakshmi. 1999. Genetic improvement of tolerance to terminal drought stress in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). PP. 59-63. *In:* Ribaut, J.M. and D. Poland (Eds.), Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-limited Environments, CIMMYT, El Batan, Mexico.
10. Bohnert, H.J. and R.G. Jensen. 1996. Metabolic engineering for increased salt tolerance: The next step. Austral. J. Plant Physiol. 59: 661-667.
11. Bray, C.M., P.A. Davison, M. Ashraf and R.M. Taylor. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. Ann. Bot. 63: 185-193.
12. Bush, D.S. 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 46: 95-122.
13. Cramer, G.R. and R.L. Jones. 1996. Osmotic stress and abscisic acid reduce cytosolic calcium activities in root of Arabidopsis thaliana. Plant Cell Environ. 19: 1291-1298.
14. Dahal, P. and K.J. Bradford. 1990. Effects of priming and endosperm integrity on seed germination rates of tomato genotypes. II. Germination at reduced water potential. J. Exp. Bot. 41: 1441-1453.
15. De Pascale, S. and G. Barbieri. 1997. Effects of soil salinity and top removal on growth and yield of broad bean as a green vegetable. Sci. Hort. 71: 147-165.
16. Diaz, P., J. Monza and A. Marquez. 2005. Drought and saline stress in Lotus japonicus. PP. 39-50. *In:* Marquez, A.J. (Ed.), Lotus japonicus Handbook, Springer, The Netherlands.
17. Farahbakhsh, H. and S. Shamsaddin. 2011. Effect of seed priming with NaCl on maize germination under different saline conditions. Afr. J. Agric. Res. 6: 6095-6099.
18. Farhoudi, R., S. Saeedipour and D. Mohammadreza. 2011. The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. Afr. J. Agric. Res. 6: 1363-1370.
19. Gill, P.K., A.D. Sharma, P. Singh and S.S. Bhullar. 2003. Changes in germination, growth and soluble sugar contents of Sorghum bicolor (L) Moench seeds under various abiotic stresses. Plant Growth Regul. 40: 157-162.
20. Gorham, J. 1996. Mechanisms of salt tolerance of halophytes. PP. 30-53. *In:* Allah, R.C., C.V. Nalcolm and A. Aamdy (Eds.), Halophytes Ecologic Agriculture.
21. Gucci, R., L. Lombardini and M. Tattini. 1997. Analysis of leaf water relations in leaves of two olive (*Olea europaea*) cultivars differing in tolerance to salinity. Tree Physiol. 17: 13-21.
22. Harris, D., A. Joshi, P.A. Khan, P. Gothkar and P.S. Sodhi. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: Development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. Exp. Agric. 35: 15-29.
23. Harris, D., B.S. Raghuwenshi, J.S. Gangwar, S.C. Singh, K.B. Joshi, A. Rashid and P.A. Hollington. 2001. Participatory evaluation by farmers of on-farm seed priming in wheat in India, Nepal and Pakistan. Exp. Agric. 37: 403-415.
24. Hu, Y. and U. Schmidhalter. 1998. Spatial distributions and net deposition rates of mineral elements in the elongating wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf under saline soil conditions. Plant. 204: 212-219.
25. Iqbal, M., M. Ashraf, A. Jamil and S. Rehman. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? J. Integrative Plant Biol. 48: 181-189.
26. Kaur, S., A.K. Gupta and D.N. Kaur. 2002. Effect of osmo and hydropriming of chickpea seeds on crop performance in field. Int. Chickpea Pigeonpea Newsletter 9: 15-16.
27. Kaya, C., B.E. Ak, D. Higgs and B. Murillo-Amador. 2002. Influence of foliar-applied calcium nitrate on strawberry plants grown under salt-stressed conditions. Austral. J. Exp. Agric. 42: 631-636.
28. Khajeh-Hosseini, M., A.A. Powell and I.J. Binghman 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soybean seeds. Seed Sci. Technol. 27: 177-237.
29. Khan, M.S.A., A. Hamid and M.A. Karim. 1997. Effect of sodium chloride on germination and seedling characters of different types of rice (*Oryza sativa* L.). Crop Sci. 176: 163-169.
30. Kramer, P.J. 1983. Cell water relation. *In:* Kramer, P.J. (Ed.), Water Relations of Plants, Academic Press, New York.
31. Lee, T.M. and C.H. Liu. 1999. Correlation of decreased calcium contents with proline accumulation in the marine green macroalga, Ulva fasciata exposed to elevated NaCl contents in seawater. J. Exp. Bot. 50: 1855-1862.
32. Mazor, L., M. Perl and M. Negbi.1984. Changes in some ATP-dependent activities in seeds during treatment with polyethylene glycol and during the redrying process. J. Exp. Bot. 35: 1119-1127.
33. McDonald, M.B. 2000. Seed priming. PP. 287-325. In: Black, M. and J.D. Bewley (Eds.), Seed Technology and its Biological Basis, CRC Press, Florida.
34. Munns, R. and A. Termaat. 1986. Whole plant responses to salinity. Austral. J. Plant Physiol. 13: 143-160.

35. Oluoch, M.O. and G.E. Welbaum. 1996. Viability and vigor of osmotically-primed muskmelon seeds after nine years of storage. J. Am. Soc. Hort. Sci. 121: 416-422.
36. Penuelas, J., R. Isla, I. Filella and J.L. Araus. 1997. Visible and near-infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. Crop Sci. 37: 198-202.
37. Pessarakli, M., T.C. Tucker and K. Nakabayashi. 1991. Growth response of barley and wheat to salt stress. J. Plant Nutr. 14: 331-340.
38. Pill, W.G. and A.D. Necker. 2001. The effects of seed treatments on germination and establishment of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.). Seed Sci. Technol. 29: 65-72.
39. Saha, R., A.K. Mandal and R.N. Basu. 1990. Physiology of seed invigoration treatments in soybean (*Glycine max* L.). Seed Sci. Technol. 18: 269-276.
40. Sairam, R.K. and D.C. Saxena. 2001. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. J. Agron. Crop Sci. 184: 55-61.
41. Singla, R. and N. Garg. 2005. Influence of salinity on growth and yield attributes in chickpea cultivars. Turk. J. Agric. For. 29: 231-235.
42. Sivritepe, H.O. and A.M. Dourado. 1995. The effects of priming treatments on the viability and accumulation of chromosomal damage in aged pea seeds. Ann. Bot. 75: 165-171.
43. Sivritepe, N., H.O. Sivritepe and A. Erif. 2003. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. Sci. Hort. 97: 229-237.
44. Styer, R.C. and D.J. Cantliffe. 1983. Evidence of repair processes in onion seed during storage at high seed moisture contents. J. Exp. Bot. 34: 277-282.
45. Volkmar, K.M., Y. Hu and H. Steppuhn. 1997. Physiological responses of plants to salinity: A review. Can. J. Plant Sci. 78: 19-27.